



Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **434**

(51) МПК **8 A61B 5/055,**  
**G01N 33/483**

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ  
ВЕДОМСТВО

## (12) **Описание изобретения** **К ПАТЕНТУ**

---

(21) 05000878

(22) 30.12.2005

(46) Бюл. 44 (4), 2006

(71) (72) (73) Шукуров Т. (ТJ); Юсупов И.Х. (ТJ); Марупов Р. (ТJ); Сохибова З.Н. (ТJ); Дадабаев Р.Д. (ТJ)

(56) 1. UA 52433 A (НМУ им. А.А.Богомольца), 15.12.2002 (реферат).

2. RU 2241992 C1 (РМАПО), 10.12.2004 (формула)

3. SU 1814858 A1 (ИЭБ АН КазССР), 15.05.1993 (реферат)

4. US 5885842 A (MEDINOX, INC), 23.03.1999 (реферат)

5. MOTTEN AG et al, An EPR study of free radicals formed by antipsoriatic and tumorpromoting 9-anthrones in nonpolar solvents, Chem Res Toxicol. 1994 Nov-Dec; 7(6):877-81 (реферат) [он - лайн].

(54) СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ПСОРИАЗА

(57) Изобретение относится к медицине, а именно к дерматологии и может быть использовано для неинвазивной и ранней диагностики псориаза.

Цель изобретения - неинвазивно, по волосам больных и на ранней стадии установить достоверный диагноз, псориаз.

У больных пациентов срезают определенное количество волос (30 мг), измеряют параметры сигналов электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и определяют по известной формуле концентрацию свободных радикалов (КСР). Аналогичным образом измеряется сигнал ЭПР эталонных образцов волос и определяется КСР. Полученные значения КСР, сопоставляют и при совпадении ставят диагноз псориаз. В качестве эталона берут образец волос больных, которым известными способами достоверно установлены диагноз псориаз. Значения КСР эталона устанавливают по отношению амплитуды сигналов ЭПР при регистрации спектров стандарта.

Изобретение относится к медицине, а именно к дерматологии и может быть использовано для ранней и неинвазивной диагностики псориаза.

Известны ряд способов диагностики псориаза: химический, энзиматический, клинический, лабораторный и другие. Более близким является, лабораторный [1] способ диагностики псориаза.

Лабораторный способ диагностики, это патоморфологический способ [1], для осуществления которого делается срез кожи на пораженных участках и берется кусочек ткани для исследования. Материал обрабатывается, фиксируется на предметных стеклах, смотрится под микроскопом и при обнаружении значительного акантоза, наличие удлиненных тонких и несколько утолщенных в нижней части эпидермальных выростов над вершинами сосочков дермы эпидермис истончен, иногда состоит из 2 - 3 рядов клеток. Характерен паракертоз, а в старых очагах - гиперкератоз, нередко роговой слой частично или полностью отшелушен.

Зернистый слой выражен неравномерно, под участками паракератоза, как правило, отсутствует. В период прогрессирования в шипатовом слое отмечается меж и внутриклеточный отек, экзоцитоз с образованием очаговых скоплений нейтрофильных гранулоцитов, которые мигрируя в роговой слой или паракератотические участки, образуют микроабсцессы Монро.

В базальном и нижних рядах шипатových слоев часто обнаруживают митозы. Соответственно удлинению эпидермальных отростков сосочки дермы увеличены, колбообразно расширены, отечны, капилляры в них извитые, переполненные кровью. В подсосочковом слое, кроме расширенных сосудов, отмечаются небольшой переваскулярный инфильтрат из лимфоцитов, гистиоцитов с наличием нейтрофильных гранулоцитов.

Недостатком лабораторного способа диагностики является вторжение в организм пациента: во-первых, для исследования делается срез кожи на пораженных участках; во-вторых, не всегда возможно на ранней стадии достоверно установить диагноз; в-третьих, он трудоемкий, дорогой и является инвазивным способом. Часто заканчивается образованием различных рубцовых изменений на местах среза кожи, которые в дальнейшем могут привести к срезным осложнениям.

Поэтому, нами был разработан способ использования спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), для установления диагноза на ранней стадии проявления очагов болезни, без вторжения в организм пациента.

Цель изобретения – неинвазивно, по волосам больных на ранней стадии установить достоверный диагноз псориаза.

Способ осуществляется следующим образом. У пациентов впервые обратившихся к врачу, срезают незначительный кусок волос, тщательно промывают, высушивают и затем взвешивают определенное количество (30 мг) и помещают в стеклянную ампулу, с внутренним диаметром 3 мм, который вставляется в прибор и записывается спектр ЭПР.

Спектры ЭПР записываются при следующих условиях: затухание СВЧ мощность 5 дБ, амплитуда развертки магнитного поля 200 Э, амплитуда ВЧ -модуляции 0,3 Э, частота ВЧ - модуляции 100 кГц.

При вышеописанных условиях записывают синглетный сигнал ЭПР свободных радикалов волос. Из записанного спектра определяют линейную интенсивность сигнала  $I_R$ , аналогично определяют  $I_R$  эталона и стандарта.

В качестве линейной интенсивности стандартного сигнала ЭПР при определении количества парамагнитных центров используется  $Mn^{+2}$ , значения концентрации свободных радикалов (КСР) для которого составляет  $R_{СТ} = 5,1 \cdot 10^{12}$  спин/мг, установленный заводом изготовителем прибора.

Аналогично вышеописанным способом, берут волосы у больных, которые известными в дерматологии способами установлен диагноз псориаза, и стоят на учете у врача, записывают сигнал ЭПР, который служит эталонным спектром.

Полученный сигнал ЭПР из эталонного волоса, сравнивают с сигналом стандарта, навески двухвалентного  $Mn^{+2}$  в окиси магния ( $MgO$ ) и определяют количество парамагнитных центров по формуле (1).

$$C_R = (I_X / I_{СТ}) * R_{СТ} \quad (1)$$

где  $I_X$  - амплитуда сигнала ЭПР волос, мм;

$I_{СТ}$  - амплитуда сигнала стандарта;

$R_{СТ}$  - количество свободных радикалов стандарта, спин/мг.

Сравнивая параметры сигналов ЭПР полученных из волос впервые обратившихся больных, донора и эталона, определяют концентрации свободных радикалов по формуле (1), только вместо  $R_{СТ}$  и  $I_{СТ}$ , вставляется значения  $R_{Эт}$  и  $I_{Эт}$ . Где,  $I_{Эт}$  амплитуда сигнала эталона;  $R_{Эт}$  - количество свободных радикалов эталона (спин/мг).

Диагностика форм заболевания определяется по изменению количества стабильных свободных радикалов. Регистрируется синглетный сигнал ЭПР свободных радикалов волос больных, по которому измеряется линейная интенсивность сигнала  $I_X$ , аналогично определяется  $I_{Эт}$  эталона и донора. Полученные значения концентрации  $C_R$  впервые обратившихся больных сопоставляются со значениями, полученными из образцов волос эталона и донора.

В качестве донора берутся волосы здоровых пациентов, а в качестве эталона образцы волос больных, которым достоверно установлен диагноз, псориаз и состоять на учете у врача дерматолога. Выше описанным способом измеряются спектры ЭПР волос донора и эталона, и также определяются КСР.

Результаты экспериментально записанных спектров ЭПР волос приведены на фиг.1, (крив. а и б), а численно рассчитанных значений КСР представлены в таблице. Как видно из приведенного рисунка амплитуда сигнала у больных возрастает, о чем свидетельствует их численное значение. Число свободных радикалов, рассчитанных используя формулу 1 лежат в интервале: донора 0,2 -  $0,52 \cdot 10^{12}$ , эталона 0,7 -  $1,7 \cdot 10^{12}$ , у впервые обратившихся больных 0,6 -  $1,7 \cdot 10^{12}$  спин/мг, соответственно. Полученные рассчитанные численные значения показывают, что число свободных радикалов у больных всегда больше по сравнению у донора.

На фиг.1 приведены спектры ЭПР волос донора (крив.а) и больного (крив.б), до и после облучения ультрафиолетовым лучом (УФО).

Пример 1. Пациентка А., 1988 года рождения, болеет в течение 6 месяцев впервые обратилась к дерматологам с первичным белковым высыпанием на коже. Было срезано определенное количество волос и измерены спектры ЭПР. Из зарегистрированных параметров сигналов ЭПР (фиг.1 крив. б), определяется КСР по приведенной формуле (1) и сравниваются с эталонными значениями. Диагноз «распространенная форма, вульгарный псориаз, весенняя форма», последующие наблюдения подтвердили диагноз.

Пример 2. Пациент Б. 1952 года рождения, впервые обратился к дерматологам с жалобами на наличии единичных, пятнистых высыпаний на коже волосистой части головы, сопровождающиеся зудом. Традиционными методами не удалось установить точный диагноз. Было срезано определенное количество волос и проведен спектров ЭПР и определено количество свободных радикалов по вышеописанному способу. Полученные значения  $C_R$  близко совпали со значением эталона  $0,68 - 1,7 \cdot 10^{12}$  спин/мг. Вынесен диагноз – «Ограниченная форма псориаза волосистой части головы». Последующие наблюдения подтвердили правильность диагноза.

Наблюдаемый разброс значения концентрации  $C_R$  связаны от типа волос и возраста, а у больных еще от формы течения псориаза.

Известно, что при УФО биоткань, происходит накопление количества свободных парамагнитных частиц, которые приводят к увеличению выхода количества  $C_R$ . Исходя из этого, с целью более убедительности полученных данных и достоверности установления диагноза, а также определения зависимости концентрации  $C_R$  проба волос донора, эталона и больных пациентов, были подвергнуты УФО. Затем были записаны также по выше описанному

способу спектры ЭПР. Зависимость выхода количества  $C_R$  от времени облучения для здоровых и больных образцов приведены на фиг.2 (крив.1-6), а рассчитанные численные значения по формуле 1 приведены в таблице.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при УФО в образцах волос больных по сравнению с образцами волос донора, происходит увеличение концентрации  $C_R$ . У доноров она увеличивается от 2,5 до 4,3 раза, а у больных от 5,1 до 11,43 раза, соответственно. Наблюдаемые увеличения концентрации  $C_R$ , связаны за счет перераспределении энергии между радикалами и образованием дополнительных свободных радикалов. У больных увеличения выхода КСР связаны еще ослаблением энергии межмолекулярных связей между макромолекулами составляющих волос, т. е. происходит разрыхление волос. Возрастание времени перехода количество  $C_R$  у больных по сравнению с донорами в 2,5-3 раза также свидетельствует о том, что происходит ослабление энергии связи между макромолекулами волос.

**Зависимости количества парамагнитных радикалов в образцах  
волос доноров и больных до и после УФО**

Таблица

| №<br>п/п | волосы  | $C_R$ , спин/мг<br>до облучения | $C_R$ , спин/мг после<br>10 часов облучения | $t_{\Pi}$ (час)<br>время пере-<br>хода |
|----------|---------|---------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1        | донор   | $0,3 * 10^{12}$                 | $1,6 * 10^{12}$                             | 4                                      |
| 2        | донор   | $0,2 * 10^{12}$                 | $0,5 * 10^{12}$                             | 3                                      |
| 3        | больной | $0,52 * 10^{12}$                | $3,25 * 10^{12}$                            | 4                                      |
| 4        | больной | $1,68 * 10^{12}$                | $6,7 * 10^{12}$                             | 10                                     |
| 5        | эталон  | $1,7 * 10^{12}$                 | $7,3 * 10^{12}$                             | 6                                      |
| 6        | эталон  | $0,7 * 10^{12}$                 | $8,0 * 10^{12}$                             | 10                                     |

Были проведены анализы волос 11-ти пациентов, впервые обратившихся к дерматологам, с первичными признаками высыпанием и зуда на разных участках кожи. Были взяты пробы волос и сняты спектры ЭПР вышеописанным методом. В 8-ми случаях, рассчитанные численные значения число свободных радикалов лежали в интервале численных значений эталона, т. е. диагностировался псориаз, последующие наблюдение подтвердили правильность диагноза.

Заявляемый способ применение ЭПР для диагностики по волосам соответствует критерию новизны, которое до настоящего момента не использовалось в медицинской практике.

Таким образом, полученные результаты показывают, что, измеряя спектры ЭПР волос больных и определяя количество парамагнитных частиц, можно без вторжения в организм диагностировать псориаз на ранней стадии.

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ диагностики псориаза, включающий взятие пробы для проведения анализа, **отличающийся тем, что** в качестве пробы используют 20-40 мг волос пациента, которые очищают, высушивают, помещают в стеклянную ампулу, измеряют спектр электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и по формуле  $C_R = (I_X / I_{CT}) * R_{CT}$ , где  $I_X$  - амплитуда сигнала ЭПР волос, мм,  $I_{CT}$  - амплитуда сигнала стандарта;  $R_{CT}$  - количество свободных радикалов, спин/мг, определяют концентрацию свободных радикалов (КСР), сравнивают с полученным таким же способом значений КСР из сигнала ЭПР эталонного образца и при совпадении полученных значений ставят диагноз.