



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 235 331** ⁽¹³⁾ **C2**

(51) МПК⁷ **G 01 N 33/68**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 2002128391/15, 22.10.2002
(24) Дата начала действия патента: 22.10.2002
(43) Дата публикации заявки: 27.04.2004
(46) Дата публикации: 27.08.2004
(56) Ссылки: БАЛАН В.Е., ВИХЛЯЕВА Е.М. и др. Менопаузальный синдром. - М., 1996, с. 25. RU 2134535 C1, 20.08.1999. RU 2168178 C2, 27.05.2001. RU 2163786 C2, 10.03.2001.
(98) Адрес для переписки:
344022, г.Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29. Ростовский государственный медицинский университет, патентный отдел

(72) Изобретатель: Микашинович З.И. (RU), Саркисян О.Г. (RU), Гурнак Е.Е. (RU)

(73) Патентообладатель:
Микашинович Зоя Ивановна (RU), Саркисян Олег Грачинович (RU), Гурнак Елена Евгеньевна (RU)

(54) СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ АТРОФИЧЕСКОГО КОЛЬПИТА

(57) Изобретение относится к медицине, а именно к гинекологии, и может найти применение в клинической практике для своевременного выявления атрофического кольпита. Для этого у больной производят исследование биологического материала, в качестве которого используют кровь, в эритроцитах которой определяют активность фосфорилазы и активность

фосфогексоизомеразы. При снижении активности фосфорилазы ниже 110 мг/г Hb (гемоглобина) и снижении активности фосфогексоизомеразы ниже 0,17 мкМ/г Hb диагностируют раннюю стадию атрофического кольпита. Изобретение обеспечивает упрощение способа и повышение точности ранней диагностики атрофического кольпита.

RU 2 235 331 C2

RU 2 235 331 C2



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 235 331** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) Int. Cl.⁷ **G 01 N 33/68**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 2002128391/15, 22.10.2002
(24) Effective date for property rights: 22.10.2002
(43) Application published: 27.04.2004
(46) Date of publication: 27.08.2004
(98) Mail address:
344022, g.Rostov-na-Donu, per.
Nakhichevanskij, 29. Rostovskij
gosudarstvennyj meditsinskij universitet,
patentnyj otdel

(72) Inventor: **Mikashinovich Z.I. (RU),
Sarkisjan O.G. (RU), Gurnak E.E. (RU)**
(73) Proprietor:
**Mikashinovich Zoja Ivanovna (RU),
Sarkisjan Oleg Grachikovich (RU),
Gurnak Elena Evgen'evna (RU)**

(54) **METHOD FOR TREATMENT OF ATROPHIC COLPITIS**

(57) Abstract:
FIELD: medicine, gynecology.
SUBSTANCE: method involves analysis of
blood as biological material of patient and
activity of phosphorylase and activity of
phosphohexoisomerase are determined in
erythrocytes. The early stage of atrophic
colpitis is diagnosed in reducing activity
of phosphorylase below 110 mg/g of Hb

(hemoglobin) and in reducing activity of
phosphohexoisomerase below 0.17 mcM/g of
Hb. Invention provides simplifying method
and enhancing precision in early diagnosis
of atrophic colpitis. Invention can be used
in clinical practice for well-timed
detection of atrophic colpitis.
EFFECT: improved method for diagnosis.
2 ex

RU 2 2 3 5 3 3 1 C 2

RU 2 2 3 5 3 3 1 C 2

Предлагаемое изобретение относится к медицине, а именно к гинекологии, и может найти применение в клинической практике для своевременного выявления атрофического кольпита.

Атрофический кольпит (атрофия слизистой влагалища) - наиболее распространенный вид гинекологический патологии у пациенток в возрасте 55-60 лет (Балан В.Е., Вихляева Е.М., Зайдиева Я.З. и др. Менопаузальный синдром: Клиника. Диагностика. Профилактика и заместительная гормональная терапия. М.: 1996. - с. 22).

Атрофический кольпит остается одной из центральных проблем врачей-гинекологов. Повышенный интерес к этой проблеме объясняется тем, что атрофический процесс во влагалище существенно снижает качество жизни женщин переходного возраста, профессионально и творчески активных, поэтому ранняя диагностика процесса является актуальной и сложной задачей современной медицины (Балан В.Е., Сметник В.П. Урогенитальные расстройства в климактерии /Клиническая лекция/, М. - 1998., - С. 4).

Очень важно своевременно выявлять эту патологию, так как в запущенной стадии процесс трудно поддается лечению и возможны тяжелые последствия этого заболевания, приводящие к возникновению атрофии ткани, что сопровождается сильным зудом в области наружных половых органов и влагалища, способствующим нарушению психики. Учитывая это, большое значение имеет возможность своевременного выявления признаков атрофического кольпита в ранние сроки.

В настоящее время редко удается проследить начало клинического течения атрофического кольпита в связи с наличием у пациентки жалоб, характерных для других гинекологических заболеваний.

Проведенными исследованиями по научно-медицинской и патентной литературе найдены различные способы диагностики атрофического кольпита.

Известен способ диагностики атрофического кольпита на основании сбора анамнеза: жалоб больной на сухость во влагалище, затруднения при половой жизни, иногда кровянистые выделения. (Балан В.Е., Вихляева Е.М. и др. Менопаузальный синдром. М.: 1996. - с. 24; Балан В.Е., Сметник В.П. Урогенитальные расстройства в климактерии, /Клиническая лекция/, М., - 1998. - с. 4).

Другим способом диагностики атрофического кольпита является кольпоскопия - осмотр слизистой влагалища и влагалищной части шейки матки от 10- до 40-кратного увеличения при помощи кольпоскопа. (Балан В.Е., Вихляева Е.М. и др. Менопаузальный синдром. М.: 1996. - с. 24; Балан В.Е., Сметник В.П. Урогенитальные расстройства в климактерии /Клиническая лекция/, М.: 1998. - С. 4). При кольпоскопии диагностика атрофического кольпита осуществляется при наличии у обследуемой больной истончения слизистой влагалища, наличием кровотоочивости, субэпителиальной сосудистой сети.

Недостатком указанных выше способов является то, что на начальных стадиях процесса атрофии слизистой влагалища не

представляется возможным диагностировать данную патологию в связи с отсутствием у больной жалоб и видимых изменений слизистой влагалища.

5 На основании анализа научно-медицинской литературы был найден способ кольпоцитологии, наиболее близкий по технической сущности. В качестве прототипа выбран способ диагностики атрофического кольпита при помощи кольпоцитологии (Балан В.Е., Вихляева Е.М. и др. Менопаузальный синдром. М.: 1996. - С. 25; Мандельштам А.Э. Семиотика и диагностика женских болезней. Л.: "Медицина." - 1976, - С. 316).

10 При этом способе диагностику атрофического кольпита осуществляют путем исследования биологического материала больной, в качестве которого используют клетки взятые при помощи мазка из влагалища.

15 После взятия мазка определяют кариопикнотический индекс (КПИ), то есть процентное соотношение зрелых поверхностных клеток, содержащих пикнотические ядра, к клеткам, имеющим везикулярные ядра, диаметром от 6 мкм, который в норме составляет 30-35%. При снижении КПИ до 15-20% диагностируют атрофический кольпит (Балан В.Е., Вихляева Е.М. и др. Менопаузальный синдром. М.: 1996. - С. 25; Мандельштам А.Э. Семиотика и диагностика женских болезней. Л.: "Медицина". -1976. - С. 316).

20 Однако применение данного способа также не всегда позволяет осуществить раннюю диагностику атрофического кольпита, поскольку на ранней стадии заболевания иногда КПИ может не снижаться, к тому же данный способ не всегда достоверен, так как снижение КПИ может происходить и при других гинекологических заболеваниях, в частности передающихся половым путем (трихомонадный кольпит, хламидии). Немаловажным является факт отрицательного психологического воздействия на женщин манипуляций, связанных с проведением забора биологического материала.

25 Целью настоящего изобретения является упрощение и повышение точности ранней диагностики атрофического кольпита.

30 Эта цель достигается тем, что у больной производят исследование крови, в эритроцитах которой определяют активность фосфорилазы и активность фосфогексоизомеразы. Установление, что у здоровых женщин активность фосфорилазы - 110 мг/г Hb, а активность фосфогексоизомеразы - 0,17 мкМ/г Hb. При снижении активности фосфорилазы ниже 110 мг/г гемоглобина (Hb) и снижение активности фосфогексоизомеразы ниже 0,17 мкМ/г Hb диагностируют начальную стадию атрофического кольпита.

35 Способ осуществляют следующим образом: у больной берут из вены 3 мл крови. Эритроциты получают из венозной крови, стабилизированной гепарином - из расчета 10 ед. гепарина (аптечная упаковка 5 флаконов по 5 мл, в 1 мл 5000 ЕД) на 1 мл крови, с последующим центрифугированием на центрифуге ЦЛК-1 (3000 об/мин в течение 15 мин).

40 Поскольку активность ферментов

эритроцитов пересчитывают на содержание в них гемоглобина, то предварительно в гемолизате определяют содержание гемоглобина (Hb). Гемолизат готовят с дистиллированной водой (разведение в 20 раз; т.е. к 1,9 мл дистиллированной воды добавляют 0,1 мл эритроцитов).

Содержание гемоглобина определяют по методу, описанному И.С. Лугановой, М.Н. Блиновым (Лабораторное дело. -1975. - №7. - С. 652-654).

В опытную пробирку вносят 0,2 мл гемолизата, затем добавляют 4,8 мл NH₄OH, 1 мл концентрированного NH₄OH доводят до 250 мл дистиллированной водой. В контрольную пробирку вносят 0,2 мл H₂O и 4,8 мл NH₄OH.

Колориметрируют на спектрофотометре марки СФ-46 при длине волны λ =540 нм. Содержание Hb выражают в г/л. Коэффициент пересчета - 0,0282 концентрированного Hb г/мл. Следовательно, концентрация Hb равна полученной экстинции, умноженной на коэффициент пересчета (E× 0,0282).

Активность фосфорилазы в эритроцитах определяют по методу, описанному Фердманом Д.Л. и Сониным Е.Ф. (Практикум по биологической химии. М: 1957. - С. 184-185). Метод основан на определении уменьшения количества фосфорной кислоты в смеси под влиянием фосфорилазы.

Для этого в опытную пробирку вносят 1 мл фосфорной смеси к 10 мл физ. раствора добавляют 3 мл фосфатного буфера рН 7,4, приливают 0,4 мл 0,8% раствора MgSO₄× 7H₂O, добавляют 0,5 мл 0,1 М раствора NaF, 0,5 мл 3% раствора крахмала, 0,2 мл гемолизата, разведенного в 20 раз.

В контрольную пробирку вносят также 1 мл фосфорной смеси, только вместо 0,5 мл 3% раствора крахмала добавляют 0,5 мл H₂O и сразу приливают 2,5 мл 10% трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Обе пробирки ставят в термостат на 1 час при t=37° С. В опытной пробирке реакцию останавливают добавлением 2,5 мл 10% ТХУ. Содержимое обеих пробирок центрифугируют 15 мин при 3000 об/мин. Затем из каждой пробирки берут по 0,1 мл центрифугата, вносят в 4,9 мл H₂O и 0,5 мл 1% молибдата аммония, затем приливают 0,5 мл 1% аскорбиновой кислоты. Колориметрируют на СФ-46 при длине волны λ =590 нм. Результаты выражают в мг/г Hb за час инкубации по калибровочному графику.

Активность фосфогексоизомеразы определяют по методу, описанному Езерским Р.Ф. в статье "Активность сывороточной фосфогексокиназы - новый клинический тест" (Лабораторное дело. -1960. - №4. - С. 15), основанному на измерении образовавшегося в ферментативной реакции фруктозофосфата и последующего его окрашивания в реакции Селиванова. По количеству фруктозофосфата судят об активности фосфогексоизомеразы.

Приготовление субстратной смеси.

Предварительно 60,3 мг глюкозо-6-фосфата Na соль растворяют в 5 мл H₂O.

В стакан вносят 2,1 мл указанного выше раствора, приливают 6,2 мл веронал-ацететного буфера рН 7,4, затем

добавляют 10 мл H₂O и 0,6-молярной HCl по каплям до рН 7,4. Потом доводят объем до 25 мл.

В центрифужные пробирки, контроль "до" и опыт "после": "до" - к 1,2 мл 20% ТХУ приливают 1 мл субстратной смеси; "после" - только субстратную смесь в объеме 1 мл. В обе пробирки разливают гемолизат по 0,2 мл. Пробы инкубируют 30 мин в термостате при 37° С. Реакцию останавливают в пробирке "после" 1,2 мл 20% ТХУ. Содержимое обеих пробирок "до" и "после" центрифугируют 5 мин при 3000 об/мин. Центрифугат "до" и "после" по 1 мл разливают в пробирки. Добавляют в каждую пробирку 1 мл 1% резорцина на этаноле и 3 мл 10М NCl. Пробирки помещают на 10 мин в водяную баню (t=90° С). Охлаждают и центрифугируют. Колориметрируют на СФ-46 при λ =540.

Результат определяют по калибровочному графику и выражают в мкМ/г Hb. При снижении α -активности фосфорилазы ниже 110 мг/г Hb и снижении α -активности фосфогексоизомеразы ниже 0,17 мкМ/г Hb диагностируют раннюю стадию атрофического кольпита.

Теоретической предпосылкой для разработки данного способа ранней диагностики атрофического кольпита явилась оценка результатов исследования, проводимого на базе женской консультации №1 г. Ростова-на-Дону. Было организовано 2 группы исследуемых.

Первую группу составили женщины (средний возраст 53 года), не имеющие объективных жалоб. У этой группы исследовался только КПИ. При исследовании величина КПИ находилась в пределах нормы.

У второй группы женщин (средний возраст 48 лет), не имеющих объективных жалоб, исследовались КПИ и ферменты эритроцитов фосфорилаза и фосфогексоизомераза. При сравнении КПИ пациенток первой и второй групп значения КПИ практически не отличались друг от друга. А активность ферментов у части женщин второй группы была снижена. На этом основании вторая группа была разделена на 2 подгруппы: 1 подгруппа - без отличий клинических данных, 2 подгруппа - со снижением активности ферментов фосфорилазы и фосфогексоизомеразы.

Анализ этих данных позволил сделать заключение, что снижение активности ферментов фосфорилазы (ниже 110 мг/г Hb) и фосфогексоизомеразы (ниже 0,17 мкМ/г Hb) может служить показателем для ранней диагностики атрофического кольпита. Дальнейшие наблюдения за пациентками 2 группы подтвердили наше предположение.

Клинический пример 1.

Больная М. История болезни №325. 52 года. Обратилась в женскую консультацию №1 г. Ростова-на-Дону по поводу профилактического медицинского осмотра. По данным клинического осмотра объективных признаков атрофии не выявлено.

Больной проведено исследование ферментов крови согласно предлагаемому способу. Биохимические исследования крови показали следующие значения: активность фосфорилазы 76 (ниже 110) мг/г Hb; активность фосфогексоизомеразы 0,139 (ниже 0,17) мкМ/г Hb, на основании чего больной поставлен диагноз - ранняя стадия

атрофического кольпита и назначена медикаментозная терапия. После проведенного лечения, применяемого при атрофическом кольпите, у больной была взята кровь для исследования активности ферментов согласно предлагаемому способу. Активность фосфорилазы была 110 мкМ/г Нб и активность фосфогексоизомеразы 0,17 мкМ/г Нб, что соответствовало нормальным показателям здоровых женщин.

Клинический пример 2.

Больная О. История болезни №267. 49 лет. Обратилась в женскую консультацию №1 г. Ростова-на-Дону по поводу профилактического медицинского обследования. Клинический осмотр объективные признаки атрофии не выявил. Согласно предлагаемому способу биохимические исследования крови показали следующие значения: активность фосфорилазы 64 (ниже 110) мг/г Нб; активность фосфогексоизомеразы 0,11 (ниже 0,17) мкМ/г Нб, на основании чего поставлен диагноз - ранняя стадия атрофического кольпита. Однако, по ряду обстоятельств, лечение не было продолжено.

Через 4 месяца пациентка вновь обратилась в женскую консультацию по поводу жалоб на зуд и жжение в области влагалища.

Больной проведено повторное

исследование крови, показавшее, что значения, при которых активность фосфорилазы была 70, т.е. ниже 110 мкМ/г Нб; активность фосфогексоизомеразы 0,1, т.е. ниже 0,17 мкМ/г Нб. На основании чего был подтвержден поставленный ранее диагноз - атрофический кольпит, и больной проведен курс лечения.

По предлагаемому способу диагноз ранней стадии атрофического кольпита был поставлен 19 женщинам.

Предлагаемый способ, по сравнению с прототипом, является более простым и позволяет с большой достоверностью осуществлять раннюю диагностику атрофического кольпита у женщин и принять своевременные меры для последующего медикаментозного лечения.

Формула изобретения:

Способ диагностики атрофического кольпита у женщин путем исследования биологического материала, отличающийся тем, что в качестве биологического материала берут кровь, в эритроцитах которой определяют активность фосфорилазы и активность фосфогексоизомеразы, и при снижении активности фосфорилазы ниже 110 мг/г Нб, а активности фосфогексоизомеразы ниже 0,17 мкМ/г Нб диагностируют раннюю стадию атрофического кольпита.

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60