



УКРАЇНА

(19) UA (11) 54941 (13) U
(51) МПК (2009)
G01N 1/28
G01N 33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ВИДУ ПАТОЛОГІЧНОГО РУБЦЯ, ЩО ФОРМУЄТЬСЯ В РАНЬОМУ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОМУ ПЕРІОДІ

1

(21) u201007335
(22) 14.06.2010
(24) 25.11.2010
(46) 25.11.2010, Бюл.№ 22, 2010 р.
(72) БАРАНОВСЬКИЙ ЮРІЙ ГЕННАДІЙОВИЧ,
ИЛЬЧЕНКО ФЕДІР МИКОЛАЙОВИЧ, КОСЕНКО
ОЛЕКСАНДР ВІКТОРОВИЧ
(73) БАРАНОВСЬКИЙ ЮРІЙ ГЕННАДІЙОВИЧ
(57) Спосіб оцінки виду патологічного рубця, що
формується в ранньому післяопераційному періо-
ді, який включає заливку шматочка рубця в пара-
фін, приготування гістологічних зрізів та забарв-

2

лення їх барвниками, який **відрізняється** тим, що
проводять забарвлення зрізів з використанням
лектинів бульб картоплі і бузини чорної, кон'юго-
ваних з пероксидазою хрому, далі оцінюють гісто-
топографію глікополімерів та інтенсивність забар-
влення клітин епідермісу і дерми, та при
інтенсивності забарвлення лектином бульб карто-
плі 2-4 бали, а лектином бузини чорної 3-4 бали
діагностують розвиток гіпертрофічного рубця, при
інтенсивності забарвлення лектином бульб карто-
плі 1-2 бали і лектином бузини чорної 1-2 бали
діагностують розвиток келоїдного рубця.

Корисна модель відноситься до медицини, зо-
крема до хірургії і патологічної анатомії, і може
бути використана в ранньому післяопераційному
періоді при прогнозуванні формування патологіч-
ного рубця та ймовірності розвитку гіпертрофічно-
го або келоїдного рубця.

В якості найближчого аналога вибраний спосіб
оцінки виду патологічного рубця, що формується в
ранньому післяопераційному періоді (Шафранов
В.В., Борхунова Е.Н., Таганов А.В. и др. Келоид-
ные рубцы / под ред. В.В. Шафранова. - 1-е изд. -
М., 2003. -192с.), який заключається в тому, що
шматочок рубця заливають в парафін, готують
гістологічні зрізи і забарвлюють їх гематоксилином
та еозином, потім оцінюють в полі зору мікроскопа,
причому в келоїдних рубцях визначається чотири
зони - епідерміс, субепідермальна зона, зона рос-
ту і глибока зона, а в гіпертрофічному рубці оці-
нюють кількість шарів в епідермісі та наявність
грубих колагенових волокон в дермі.

Ознаками, які співпадають із суттєвими озна-
ками заявляемого способу, є: заливка шматочка
рубця в парафін, приготування гістологічних зрізів
та забарвлення їх барвниками.

Технічним результатом корисної моделі є: під-
вищення точності оцінки виду патологічного рубця,
що формується на ранніх строках його розвитку.

Причинами, що перешкоджають досягненню
очікуваного технічного результату, є: оцінка виду

патологічного рубця тільки після його формування
через 4-6 тижнів, а на ранніх строках, наприклад,
через 2 тижні після хірургічного втручання або ін-
ших ушкоджень шкірних покривів визначити май-
бутній гіпертрофічний або келоїдний рубець до-
сить складно, тобто неможливо діагностувати вид
рубця на ранніх стадіях розвитку, коли його спе-
цифічне лікування найбільш ефективно.

В основу корисної моделі поставлена задача
удосконалення способу-прототипу шляхом забар-
влення гістологічних парафінових зрізів рубця, що
формується, за рахунок застосування лектиногіс-
тохімічного методу з використанням лектинів,
кон'югованих з пероксидазою хрому, що дозволяє
проводити визначення локалізації глікополімерів з
кінцевою вуглеводною детермінантою N-ацетил-D-
глюкозаміну - рецептори лектину бульб картоплі і
сіалової кислоти - рецептори лектину бузини чор-
ної в клітинах і позаклітинних структурах епідермі-
су і дерми патологічного рубця, що є більш інфор-
мативним та дозволяє досягти очікуваного
технічного результату.

Поставлена задача рішається тим, що в спо-
собі оцінки виду патологічного рубця, що форму-
ється в ранньому післяопераційному періоді, який
включає заливку шматочка рубця в парафін, при-
готування гістологічних зрізів та забарвлення їх
барвниками, згідно корисної моделі, проводять
забарвлення зрізів з використанням лектинів

(19) UA (11) 54941 (13) U

бульб картоплі і бузини чорної, кон'югованих з пероксидазою хрону, далі оцінюють гістотопографію глікополімерів та інтенсивність забарвлення клітин епідермісу і дерми, та при інтенсивності забарвлення лектином бульб картоплі 2-4 бали, а лектином бузини чорної 3-4 бали діагностують розвиток гіпертрофічного рубця, при інтенсивності забарвлення лектином бульб картоплі 1-2 бали і лектином бузини чорної 1-2 бали діагностують розвиток келоїдного рубця.

Між сукупністю суттєвих ознак запропоновано-го способу та очікуваним технічним результатом простежується наступний причинно-слідчий зв'язок: використання забарвлення лектинами бульб картоплі і бузини чорної, кон'югованих з пероксидазою хрону гістологічних зрізів біопатів патологічного рубця, що формується, та оцінка гістотопографії глікополімерів та інтенсивності забарвлення клітин епідермісу і дерми дозволяє оцінити вид рубця, що розвивається, наприклад, гіпертрофічний або келоїдний, в ранні строки після хірургічного втручання або інших ушкоджень шкірних покривів, а також розпочати його своєчасне специфічне лікування, тобто досягти очікуваного технічного результату.

Спосіб заключається в наступному.

Біоптати рубців через два тижні після оперативного втручання або інших ушкоджень фіксують 10%-м нейтральним формаліном не менш 12 годин; потім проводиться проводка в спиртах зростаючої концентрації 70% - 20 хвил., 80% - 20 хвил., 96% I - 15 хвил. і 96% II - 15 хвил.; потім проводка по ксилолам - I, II ксилол по 5 хвил. і III ксилол - 10 хвил., після чого проводиться заливка в парафін. Зрізи виконуються на мікромомі для світлової мікроскопії товщиною 5-7мкм.

Парафінові зрізи наносяться на скельця без овальбуміну і висушуються в термостаті протягом 48-72 годин при температурі 42°-45°С. Депарафінізація здійснюється в двох ксилолах, після чого проводиться дегідратація в спиртах. Потім препарати переносяться в забуферений ізотонічний розчин 3IP, 8г NaCl, 0,2г KCl, 1г Na₂PO₄·x12 H₂O і 0,1 M Na₂PO₄ при pH 7,4. Кон'югат лектину з пероксидазою хрону розводять 3IP і наносять на зрізи при кімнатній температурі протягом 45-60 хвил. Розведення здійснювалось в концентрації, рекомендованій НВК «Лектинотест», згідно паспорта лектинів. Після цього препарати, поміщені в темну камеру, оброблюють тричі в 3IP по 5 хвил., а потім в 3IP з 0,005%-м 3,3'-діамінобензидином і 0,015%-м H₂O₂ протягом 0,5-5 хвил. Потім препарати промивають дистильованою водою, проводять дегідратацію в спиртах зростаючої концентрації і заключають в канадський бальзам.

Виявляють різну гістотопографію та оцінюють кількість глікополімерів з кінцевою вуглеводною детермінантою N-ацетил-D-глюкозаміну - рецептори лектину бульб картоплі і сіалової кислоти - рецептори лектину бузини чорної в клітинах і позаклітинних структурах епідермісу і дерми майбутнього гіпертрофічного або келоїдного рубця.

Далі оцінюють інтенсивність забарвлення клітин епідермісу і дерми.

Інтенсивність забарвлення лектинами визначають в балах як відсутню - 0 балів, слабку - 1 бал, помірну - 2 бали і сильну - 3 бали та дуже сильну - 4 бали.

При інтенсивності забарвлення лектином бульб картоплі 2-4 бали, а лектином бузини чорної 3-4 бали діагностують розвиток гіпертрофічного рубця, при інтенсивності забарвлення лектином бульб картоплі 1-2 бали і лектином бузини чорної 1-2 бали діагностують розвиток келоїдного рубця.

У келоїдних рубцях епідермоцити синтезують помітну кількість біополімерів з кінцевими нередукованими залишками N-ацетил-D-глюкозаміну - рецептори лектину бульб картоплі. Колагенові волокна різних зон дерми експресують різну кількість таких вуглеводних детермінант. Найбільш яскрава бензидинова мітка в зоні росту.

У майбутньому гіпертрофічному рубці концентрація N-ацетил-D-глюкозамінокон'югатів мала, за виключенням цитолемі клітин базального шару. В дермі фібробласти накопичують дуже велику кількість таких біополімерів. Колагенові волокна бідні моносахаридними залишками N-ацетил-D-глюкозаміну.

У формуються келоїдних рубцях сіалірованих глікополімерів - рецепторів лектину бузини чорної дуже мало, так як і в фібробластах субепідермального шару. Колагенові волокна бідні такими біополімерами. В гіпертрофічних рубцях, що розвиваються, епітеліоцити епідермісу експресують велику кількість сіалірованих глікополімерів, як і фібробласти дерми. Одночасно колагенові волокна багаті вуглеводними залишками сіалових кислот.

У таблиці наведені зміни гістотопографії і кількості рецепторів лектинів бульб картоплі і бузини чорної в епідермісі і дермі гіпертрофічного і келоїдного рубця, що формується, у осіб, які два тижні тому перенесли хірургічне втручання.

Запропонований спосіб ілюструється наступними прикладами його виконання.

Приклад 1

Хворий П., 1979р.н., перебував на лікуванні в хірургічному відділенні. Через 2 тижні після хірургічного втручання був досліджений лектиногістохімічним методом біоптат патологічного рубця, що формується.

Інтенсивність забарвлення клітин епідермісу і дерми лектином бульб картоплі 2-4 бали.

Інтенсивність забарвлення клітин епідермісу і дерми лектином бузини чорної 3-4 бали.

Аналіз одержаних результатів показав, що формується гіпертрофічний рубець.

Призначено відповідне лікування.

Приклад 2

Хворий Р., 43р., перебував на лікуванні в хірургічному відділенні. Через два тижні після хірургічного втручання був досліджений лектиногістохімічним методом біоптат патологічного рубця, що формується.

Інтенсивність забарвлення клітин епідермісу і дерми лектином бульб картоплі 1-2 бали.

Інтенсивність забарвлення клітин епідермісу і дерми лектином бузини чорної 1-2 бали.

Аналіз одержаних результатів показав формування келоїдного рубця. Призначено відповідне лікування.

Наведені приклади підтверджують ефективність запропонованого способу.

Заявляємий спосіб прогнозування розвитку келоїдного і гіпертрофічного рубців у післяопераційному періоді застосований у лікуванні 30 хворих. Вік хворих склав від 25 до 62 років. Ускладнень не було.

Заявляємий спосіб простий та інформативний, легко виконується в умовах патогістохімічної лабораторії. Дозволяє діагностувати гіпертрофічний або келоїдний рубець, що розвивається, через два тижні після хірургічного втручання або інших ушкоджень шкірних покривів, коли клінічно це зробити неможливо. Дає можливість використовувати його для раннього початку лікування гіпертрофічного або келоїдного рубця.

Таблиця

Назва структури	Гіпертрофічний рубець		Келоїдний рубець	
	Лектин бульб картоплі	Лектин бузини чорної	Лектин бульб картоплі	Лектин бузини чорної
Епідерміс Клітини базального шару цитолема	4	4	2	1
цитоплазма	2	4	1	2
Клітини шиповатого шару цитолема	2	3	1	2
цитоплазма	2	3	1	1
Клітини зернистого шару цитолема	2	4	1	1
цитоплазма	2	3	1	1
Клітини рогового шару цитолема	2	4	2	2
цитоплазма	2	4	2	2
Дерма волокна	2	3	1	2
Клітини цитолема	4	4	2	1
цитоплазма	4	4	2	1