



УКРАЇНА

(19) UA (11) 57685 (13) U
(51) МПК (2011.01)
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 ВИЗНАЧЕННЯ ВИДУ ПАТОЛОГІЧНОГО РУБЦЯ, ЩО ФОРМУЄТЬСЯ У РАНЬОМУ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОМУ ПЕРІОДІ

1

2

(21) u201009606

(22) 02.08.2010

(24) 10.03.2011

(46) 10.03.2011, Бюл.№ 5, 2011 р.

(72) БАРАНОВСЬКИЙ ЮРІЙ ГЕННАДІЙОВИЧ,
ИЛЬЧЕНКО ФЕДІР МИКОЛАЙОВИЧ, КОСЕНКО
ОЛЕКСАНДР ВІКТОРОВИЧ

(73) БАРАНОВСЬКИЙ ЮРІЙ ГЕННАДІЙОВИЧ

(57) Спосіб визначення виду патологічного рубця,
що формується у ранньому післяопераційному
періоді, що включає заливку шматочка рубця в

парафін, приготування гістологічних зрізів та забарвлення їх барвниками, який **відрізняється** тим, що проводять забарвлення зрізів з використанням лектинів сочевиці, кон'югованих з пероксидазою хрому, далі оцінюють гістотопографію глікополімерів та інтенсивність забарвлення клітин епідермісу і дерми, та при інтенсивності забарвлення лектином сочевиці від 2 до 4 балів діагностують розвиток гіпертрофічного рубця, при інтенсивності забарвлення від 1 до 2 балів діагностують розвиток келоїдного рубця.

Корисна модель відноситься до області медицини, зокрема до хірургії і патологічної анатомії, і може бути використана в ранньому післяопераційному періоді при прогнозуванні формування патологічного рубця та ймовірності розвитку гіпертрофічного або келоїдного рубця.

В якості прототипу вибраний спосіб визначення виду патологічного рубця, що формується у ранньому післяопераційному періоді (Шафранов В. В., Борхунова Е. Н., Таганов А. В. и др. Келоидные рубцы / под ред. В. В. Шафранова. - 1-е изд. - М., 2003. - 192 с), який заключається в тому, що шматочок рубця заливають в парафін, готують гістологічні зрізи і забарвлюють їх гематоксиліном і еозином, потім оцінюють в полі зорі мікроскопа, причому в келоїдних рубцях визначається чотири зони - епідерміс, су-бепідермальну зону, зону росту і глибину зону, а в гіпертрофічному рубці оцінюють кількість шарів в епідермісі та наявність грубих колагенових волокон в дермі.

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

Технічним результатом корисної моделі є: підвищення 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, коли його

специфічне лікування найбільш ефективно, наприклад, через 2 тижні після хірургічного втручання визначити вид майбутнього патологічного рубця, що формується у ранньому післяопераційному періоді досить складно.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалення способу-прототипу шляхом забарвлення гістологічних парафінових зрізів рубця за рахунок застосування лектиногістохімічного методу з використанням лектинів, кон'югованих з пероксидазою хрому дозволяє проводити визначення локалізації глікополімерів з кінцевою вуглеводною детермінантою альфа-D-маннози- рецептори лектину сочевиці в клітинах і позаклітинних структурах епідермісу і дерми патологічного рубця, що є більш інформативним та дозволяє досягти очікуваного технічного результату.

Поставлена задача рішенням тим, що в способі визначення виду патологічного рубця, що формується у ранньому післяопераційному періоді, який включає заливку шматочка рубця в парафін, приготування гістологічних зрізів та забарвлення їх барвниками, згідно корисної моделі, проводять забарвлення зрізів з використанням лектинів сочевиці, кон'югованих з пероксидазою хрому, далі оцінюють гістотопографію глікополімерів та інтенсивність забарвлення клітин епідермісу і дерми, та при інтенсивності забарвлення лектином сочевиці від 2 до 4 балів діагностують розвиток гіпертрофічного рубця, при інтенсивності забарвлення від 1

(13) U
(11) 57685
(19) UA

до 2 балів діагностують розвиток келоїдного рубця.

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

Спосіб заключається в наступному.

Біоптати рубців через два тижні після оперативного втручання або інших пошкоджень фіксують 10%-м нейтральним формаліном не менше 12 годин; потім проводять проводку в спиртах зростаючої концентрації 70 % - 20 хв., 80 % - 20 хв., 96 % I - 15 хв. і 96 % II - 15 хв.; потім здійснюють проводку по ксилолам -I, II ксилол по 5 хв. і III ксилол - 10 хв., після чого проводять заливку в парафін. Зрізи виконують на мікротомі для світлової мікроскопії товщиною 5-7 мкм.

Парафінові зрізи наносять на скельця без овальбуміну і висушують в термостаті впродовж 48-72 годин при температурі 42°-45°С. Депарафінізацію здійснюють в двох ксилолах, після чого проводять дегідратацію в спиртах. Потім препарати переносять в забуферений ізотонічний розчин 3IP, 8 г NaCl, 0,2 г KCl, 1 г Na₂PO₄ x 12 H₂O і 0,1 М Na₂PO₄ при pH 7,4.

Кон'югат лектину з пероксидазою розводять 3IP і наносять на зрізи при кімнатній температурі впродовж 45-60 хвил. Розведення здійснюють в концентрації, рекомендованій НВК «Лектинотест», згідно паспорта лектинів. Після цього препарати, поміщені в темну камеру, оброблюють тричі в 3IP по 5 хв., а потім в 3IP з 0,005 %-м 3,3'-діамінобензидином і 0,015 %-м H₂O₂ упродовж 0,5-5 хв..

Потім препарати промивають дистильованою водою, проводять дегідратацію в спиртах зростаючої концентрації і заключають у канадський бальзам.

Виявляють різну гістотопографію та оцінюють кількість глікополімерів з кінцевою вуглеводною детермінантою альфа-D-маннози - рецептори лектину сочевиці в клітинах і позаклітинних структурах епідермісу і дерми майбутнього гіпертрофічного або келоїдного рубця.

Далі оцінюють інтенсивність забарвлення клітин епідермісу і дерми.

Інтенсивність забарвлення лектинами позначають 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 сочевиці 2-4 бали діагностують розвиток гіпертрофі-

чного рубця, а при інтенсивності забарвлення лектином сочевиці 1-2 бали діагностують розвиток келоїдного рубця.

Аналіз одержаних результатів показав, що в майбутньому келоїдному рубці рецепторів лектину сочевиці дуже мало. Маннозокон'югати зустрічаються в невеликій кількості в епітеліоцитах рогового шару і в зоні росту. Неяскрава бензидинова мітка з'являється на колагенових волокнах зони росту, а в глибокій зоні волокна профарбовуються слабо. У гіпертрофічному рубці, що формується, рецепторів лектину сочевиці багато. Кератиноцити всіх шарів експресують значну кількість маннозокон'югатів, особливо клітини базального шару. Такі біополімери є в фібробластах дерми. Колагенові волокна також накопичують бензидинову мітку в помірній кількості.

Заявляємий спосіб прогнозування розвитку келоїдного і гіпертрофічного рубців у післяопераційному періоді застосований у лікуванні 30 хворих. Вік хворих склав від 20 до 60 років. Ускладнень не було.

В таблиці 1 наведен кількісний вміст рецепторів лектину сочевиці в епідермісі і дермі гіпертрофічного і келоїдного рубця, що формуються у осіб, які два тижні тому перенесли хірургічне втручання.

Запропонований спосіб ілюструється наступними прикладами його виконання.

Приклад 1.

Хворий І., 1948 р. 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 сочевиці 2-4 бали.

Аналіз одержаних результатів показав, що формується гіпертрофічний рубець.

Призначено відповідне лікування.

Приклад 2.

Хворий Р., 1969 р.н., 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 сочевиці 1-2 балів.

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

Наведені приклади підтверджують ефективність запропонованого способу.

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

Таблиця 1

Спосіб визначення виду патологічного рубця, що формується у ранньому післяопераційному періоді		
Назва структури	Гіпертрофічний рубець	Келоїдний рубець
Епідерміс Клітини базального шару цитолема	4	0
цитоплазма	2	0
Клітини шиповатого шару цитолема	3	0
цитоплазма	2	0
Клітини зернистого шару цитолема	3	0
цитоплазма	2	0
Клітини рогового шару цитолема	1	2
цитоплазма	1	2
Дерма волокна	2	0
Клітини цитолема	0	0
цитоплазма	3	1