



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 115197

(13) U

(51) МПК

G01N 33/50 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 09990**

(22) Дата подання заявки: **30.09.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.04.2017**

(46) Публікація відомостей **10.04.2017, Бюл.№ 7**
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Пересунько Олександр Петрович (UA),
Давиденко Ігор Святославович (UA)**

(73) Власник(и):

**ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ
ЗАКЛАД УКРАЇНИ "БУКОВИНСЬКИЙ
ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ",
пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)**

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ПАТОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ ЕНДОМЕТРІЯ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики патологічних процесів ендометрія включає гістологічне дослідження роздільного діагностичного зскрібка стінок каналу шийки матки та ендометрія з оцінкою та порівнянням ступеня окислювальної модифікації білків, шляхом фарбування гістопрепаратів бромфеноловим синім за Мікель-Кальво з наступною візуалізацією білкових груп методом цифрової комп'ютерної мікроспектрофотометрії з оцінкою кольору RGB (Red, Green, Blue) за співвідношенням червоного та синього кольорів і обрахуванням коефіцієнту R/B. Тип патології ендометрія попередньо встановлюють за допомогою обрахування коефіцієнту R/B в епітелії та волокнах сполучної тканини тільки ендоцервікса при штрих-зскрібку каналу шийки матки в амбулаторних умовах, який при нормальному ендометрії становить відповідно $0,94 \pm 0,002$ та $2,97 \pm 0,03$, залозистій гіперплазії - $1,22 \pm 0,06$ та $1,09 \pm 0,02$, поліпозі ендометрія - $1,39 \pm 0,08$ та $1,43 \pm 0,01$, аденокарциномі ендометрія - $5,27 \pm 0,05$ та $5,35 \pm 0,09$ ($p < 0,001$).

UA 115197 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до гінекології, і може бути використана для попередньої диференційної діагностики патологічних процесів ендометрія в амбулаторних умовах.

Рання діагностика патологічних процесів ендометрія і шийки матки - актуальна проблема в гінекології, яка потребує нових нестандартних підходів (Бохман Я.В., 2003; Вишневецька Е.Е., 2003; В.М. Запорожан, М.Р. Цегельський, 2004; Л.І. Воробйова, 2010). Більшість гінекологічних захворювань, в тому числі і ендометрія - поєднуються з патологією шийки матки (Прилепська В.Н., 2002; Рожковська Н.М., 2009). Крім того, в силу доступності для цитологічного і гістологічного дослідження, шийка матки є зручною моделлю для вивчення різних патологічних станів не тільки ендо-і екзоцервікса, але і ендометрія (В.П. Козаченко, 2000). Фізіологічні та патологічні зміни, пов'язані з віком, менструальним циклом, вагітністю, менопаузою, спостерігаються як з боку багатошарового плоского епітелію екзоцервікса, призматичного епітелію цервікального каналу, так і ендометрія (В.Г. Дубініна, 2007, 2009).

Золотим стандартом діагностики патологічних станів ендометрія залишається гістероскопія з роздільним діагностичним вишкрібанням стінок порожнини матки і цервікального каналу. Але основна увага при цьому приділяється ендометрію, а стан епітелію цервікального каналу в достатній мірі при цьому не оцінюється (К.П. Хансон, 2002; Н. Bauer, 2005). За даними В.І. Кулакова (2004), в епітелії шийки матки спостерігаються патологічні процеси, поєднані з аналогічними в ендометрії гіперпластичними станами та атипіями.

Враховуючи певну спорідненість будови шийки матки і тіла матки (призматичний епітелій цервікального каналу відповідає аналогічному епітелію функціонального шару ендометрію, близькість будови підепітеліальної стромы і м'язового шару шийки матки і тіла матки) - можливо вивчення стану шийки матки при різноманітній патології ендометрія за допомогою простого і чутливого тесту прицільної біопсії шийки матки (О.К. Хмельницький, 2000).

Гістоструктурі захворювань ендометрія та шийки матки присвячена велика кількість робіт як в СНД, так і за кордоном (Картер Г.Л., 1987; Bromfield P., 1992; Long H., 2007). Вони доповнені даними електронно-мікроскопічних, гістохімічних методів дослідження, яке становить безперечну новизну (Хем А., Кормак Д., 1983; Goldman J., Dicker D., 1994; Perez L.A., 2001). Однак у них практично не описуються і не пояснюються взаємини епітеліїв при дисгормональних порушеннях і в процесі малігнізації (Запорожан В.Н., 2004; Коханевич Є.В., 2009).

Аналогом корисної моделі є спосіб визначення карбонільних груп білків шляхом забарвлення гістологічного препарату специфічними барвниками та візуальною оцінкою білкових груп [Zusterzeel P.L.M., Rutten H., Roelofs H.M.J. Protein carbonils in deciduas and placenta of pre-eclamptic women as markers for oxidative stress \ Placenta. 2001. - Vol. 22 - P. 213-219]. Спосіб-аналог полягає у імуногістохімічному визначенні карбонільних груп білків у гістологічних препаратах шляхом проведення імуногістохімічної реакції з динітрофенілгідразом з наступним виявленням останнього за допомогою антитіл до нього та системи пероксидазно-бензидинової візуалізації.

Недоліком аналогу є те, що кількість карбонільних груп може свідчити не тільки про збільшення окислювальної модифікації білків (ОМБ), але і про збільшення загального вмісту білка. В той же час для оцінки збільшення окислювальної модифікації білків насправді найбільш принципово в'яснити співвідношення між карбонільними та аміногрупами протеїнів. Аналог цього зробити не дозволяє. Окрім того аналог відрізняється високою вартістю.

Прототипом нашої корисної моделі є деклараційний патент на винахід № 13712U Спосіб вимірювання окислювальної модифікації білків в структурах плаценти (автори: І.С. Давиденко, О.П. Шендерюк) - Бюл № 4 від 17.04.2006 року.

В основу корисної моделі поставлена задача вимірювання окислювальної модифікації білків у структурах плаценти шляхом фарбування гістологічного препарату специфічними барвниками та візуальною оцінкою білкових груп, згідно до корисної моделі, фарбування гістологічного препарату проводять бром феноловим синім за методикою Мікель-Кальво, а візуальну оцінку білкових груп проводять комп'ютерною мікроспектрометрією за оцінкою кольору RGB за співвідношенням величин зеленого та синього спектрів забарвлення.

Методику прототипу ми використали в нашій заявці на корисну модель з метою диференціації різноманітних патологічних станів ендометрія за допомогою дослідження ОМБ тільки в ендоцервіксі.

На першому етапі у пацієнток з патологією ендометрія попередньо проводили роздільний діагностичний зскрібок цервікального каналу та порожнини матки з наступним гістохімічним дослідженням окислювальної модифікації білків ендоцервіксу та ендометрія та їх порівнянням.

Нами попередньо проведено порівняння окислювальної модифікації білків по коефіцієнту R/B в структурах епітелію та волокнистого компонента сполучної тканини ендocerвіксу та ендометрія у 23 пацієнток з ендометрієм нормальної будови в проліферативній фазі, 21 - з ендометрієм в секреторній фазі, 22 пацієнтки - з активною залозисто-кістозною гіперплазією, 19 пацієнтки - з простою атрофією ендометрія, 17 - з поліпом ендометрія, 21-з високодиференційованою аденокарциномою ендометрія.

У всіх групах жінок детально вивчався відповідний біопсійний матеріал шийки матки з ендocerвіксу.

При цьому отримані достовірні кореляційні показники ($p < 0,001$). Це дало можливість в нашій заявці на корисну модель застосувати гістохімічну оцінку ОМБ тільки в ендocerвіксі за показниками R/B в попередній диференціації патологічних процесів ендометрія, який при нормальному ендометрії становить відповідно $0,94 \pm 0,002$ та $2,97 \pm 0,03$; залозистій гіперплазії - $1,22 \pm 0,06$ та $1,09 \pm 0,02$; поліпозі ендометрія - $1,39 \pm 0,08$ та $1,43 \pm 0,01$; аденокарциномі ендометрія - $5,27 \pm 0,05$ та $5,35 \pm 0,09$ ($p < 0,001$).

Поставлена задача вирішується тим, що фарбують бромфеноловим синім при низькому рН гістологічний зріз штрих-зскрібка каналу шийки матки, після чого отримують цифрову копію мікроскопічного зображення. Потім ділянки мікроскопічних зображень, які цікавлять (клітини, міжклітинний матрикс, волокна тощо), аналізують методом комп'ютерної мікроспектрометрії за допомогою системи аналізу кольору RGB, завдяки чому з роздільною здатністю у 256 градацій отримують дві конкретні величини: інтенсивність червоного та синього кольорів. Далі величину інтенсивності забарвлення червоного кольору ділять на величину інтенсивності забарвлення синього кольору і таким чином отримують співвідношення (коефіцієнт) між цими величинами, яке і дозволяє виміряти ступінь окислювальної модифікації білків. Використання червоного та синього спектрів забарвлення є більш інформативним і точним.

Приклад конкретного виконання способу.

В амбулаторних умовах поліклініки після збору анамнезу, ультразвукового дослідження, виконання акушерсько-гінекологічного дослідження та формування показань для роздільного діагностичного зскрібка в умовах стаціонару, пацієнтці проводять штрих-зскрібок ендocerвікса з наступним дослідженням гістопрепарату по методиці Мікель-Кальво для визначення ОМБ по коефіцієнту R/B. Перед госпіталізацією в стаціонар гінеколог володіє попереднім діагнозом можливого патологічного стану ендометрія.

Наведений спосіб дозволяє в гістологічному препараті виміряти окислювальну модифікацію білків в конкретних структурах епітелію шийки матки при різноманітній патології ендометрія.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики патологічних процесів ендометрія, що включає гістологічне дослідження роздільного діагностичного зскрібка стінок каналу шийки матки та ендометрія з оцінкою та порівнянням ступеня окислювальної модифікації білків, шляхом фарбування гістопрепаратів бромфеноловим синім за Мікель-Кальво з наступною візуалізацією білкових груп методом цифрової комп'ютерної мікроспектрофотометрії з оцінкою кольору RGB (Red, Green, Blue) за співвідношенням червоного та синього кольорів і обрахуванням коефіцієнту R/B, який **відрізняється** тим, що тип патології ендометрія попередньо встановлюють за допомогою обрахування коефіцієнту R/B в епітелії та волокнах сполучної тканини тільки ендocerвікса при штрих-зскрібку каналу шийки матки в амбулаторних умовах, який при нормальному ендометрії становить відповідно $0,94 \pm 0,002$ та $2,97 \pm 0,03$, залозистій гіперплазії - $1,22 \pm 0,06$ та $1,09 \pm 0,02$, поліпозі ендометрія - $1,39 \pm 0,08$ та $1,43 \pm 0,01$, аденокарциномі ендометрія - $5,27 \pm 0,05$ та $5,35 \pm 0,09$ ($p < 0,001$).

Комп'ютерна верстка Т. Вахричева

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601