



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **70028** (13) **U**  
(51) МПК (2012.01)  
**A61B 10/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2011 13144</b>	(72) Винахідник(и): <b>Бурий Олександр Миколайович (UA), Мандрик Сергій Ярославович (UA), Терешкевич Іван Степанович (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>08.11.2011</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.05.2012</b>	(73) Власник(и): <b>НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ ХІРУРГІЇ ТА ТРАНСПЛАНТОЛОГІЇ ІМЕНІ О.О. ШАЛІМОВА НАМН УКРАЇНИ, вул. Героїв Севастополя, 30, м. Київ, 03680 (UA)</b>
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.05.2012, Бюл.№ 10</b>	

## (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ МАЛІГНІЗАЦІЇ ПОЛІПА ШЛУНКА

### (57) Реферат:

Спосіб діагностики малігнізації поліпа шлунка включає патоморфологічне дослідження біопсійного матеріалу поліпа шлунка. Додатково проводять імунобіохімічне дослідження біопсійного матеріалу при якому визначають рівень білків теплового шоку Hsp70 та Hsp90 в ядерній та цитозольній фракціях клітин.

UA 70028 U



Корисна модель належить до медицини і може бути використана для діагностики малігнізації поліпа шлунка.

Відомий спосіб діагностики малігнізації поліпа шлунка, який включає проведення патоморфологічного дослідження поліпа шлунка та визначення наявності ракового процесу [Mitrut P. The endoscopic and morphological forms of early gastric cancer // P. Mitrut, A. Enescu, L. Titia et al. // Romanian Journal of Morphology and Embryology.-2007. - Vol. 48, N 4. - P. 373-379].

Недоліком аналога є недостатня точність діагностики малігнізації поліпа.

Задачею корисної моделі є розробка такого способу діагностики малігнізації поліпа шлунка, який за рахунок детекції змін на рівні вмісту білків теплового шоку Hsp70 та Hsp90 забезпечував би підвищення точності діагностики.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі діагностики малігнізації поліпа шлунка, який включає патоморфологічне дослідження біопсійного матеріалу поліпа шлунка, згідно з корисною моделлю, додатково проводять імунобіохімічне дослідження біопсійного матеріалу, при якому визначають рівень білків теплового шоку Hsp70 та Hsp90 в ядерній та цитозольній фракціях клітин і, у випадку, коли в ядерній фракції клітин міститься менше 30 % білка Hsp70 і більше 45 % Hsp90 від загальної кількості цих білків в клітинах, а в цитозольній фракції клітин поліпа шлунка - більше 70 % білка Hsp70 і менше 55 % Hsp90, діагностують малігнізацію поліпа шлунка.

Визначення загального рівня білків теплового шоку Hsp70 та Hsp90, а також розподілу цих білків між ядерною та цитозольною фракціями онкотрансформованих та умовно нормальних клітин поліпа шлунка дозволяє підвищити точність діагностики малігнізації поліпа шлунка.

Вказані в формулі корисної моделі зміни рівнів білків Hsp70 та Hsp90 отримані в результаті дослідження 20 хірургічних хворих з діагнозом малігнізований поліп шлунка.

Спосіб виконують наступним чином. Під час ендоскопічного дослідження шлунка проводять біопсію слизової поліпа шлунка, після чого виконують субфракціонування клітин. Перед субфракціонуванням тканину гомогенізують в буферному розчині такого складу: 50 мМ Трис-HCl pH 7,5, 0,25 М сахароза, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 мМ ДТТ, 1 мМ PMSF, 1 % натрію додецилсульфату, коктейль інгібіторів протеаз. Після гомогенізації лізат центрифугують протягом 20 хв за 1000 g при температурі +4 °C. Отриманий супернатант центрифугують протягом 20 хв за 4000 g при температурі +4 °C. Отриманий осад після останнього центрифугування використовують для отримання субклітинної фракції збагаченої ядрами. Супернатант додатково центрифугують протягом 20 хв за 10000 g при температурі +4 °C. Супернатант після останнього центрифугування використовують як цитозольну субфракцію клітин. Осад фракції, збагаченої ядрами клітин після ресуспендування в буферному розчині для фракціонування, обробляють ультразвуком протягом 10 секунд при температурі +4 °C. Після ультразвукової обробки фракції ядер і мітохондрій додатково центрифугують протягом 20 хв за 13000 g при температурі +4 °C.

На наступному етапі визначають концентрацію білка у відповідних клітинних фракціях за загальноприйнятою методикою. Калібрувальну криву будують, використовуючи розчин бичачого сироваткового альбуміну як стандарт. Концентрацію білка визначають за калібрувальною кривою.

Наступним етапом проведення імуноблот-аналізу є здійснення електрофоретичного розділення білків отриманих клітинних фракцій. Проводять електрофорез отриманих зразків в денатуруючих умовах.

Наступним етапом проводять безпосередньо імуноблот-аналіз. Вільні сайти сорбції на нітроцелюлозній мембрані блокують 5 % обезжиреним молоком в ФСБ-Т. Полі- і моноклональні антитіла проти білків Hsp70 та Hsp90 вносять у відповідному розведенні у розчині ФСБ-Т-молоко, інкубують з нітроцелюлозними мембранами, відмивають і інкубують з кон'югатом білок А-пероксидаза. Виявлення сигналу імунних комплексів детектують за допомогою ECL реагента та рентгенівської плівки. Кількісну обробку результатів імуноблот-аналізу здійснюють з використанням комп'ютерної програми TotalLab vl.10.

Приклад 1. Хворий Т., 1944 р. н., історія хвороби № 1556/11 р. знаходився на стаціонарному лікуванні з 5.09.11 р. по 29.09.11 р. з скаргами на загальну слабкість, зниження апетиту, відчуття тяжкості в верхніх відділах живота після їди. Обстежений клінічно, лабораторно, інструментально (ЕГДС: в ділянці с/3 тіла шлунка по передній стінці визначається поліп 1,0×1,5 см з ерозивною верхівкою, слизова набрякла, інфільтрована), встановлено діагноз: Поліп шлунка. Малігнізація? 6.09.11 р. під час гастроскопії проведено біопсію слизової поліпа шлунка. При патоморфологічному дослідженні біоптатів у фрагментах слизової діагностовано дисплазію середнього ступеня та аденоматозний тип поліпа. При імуноблот-аналізі досліджуваних тканин зафіксовано, що в ядерній фракції клітин містилося 30 % білка Hsp70 і 45 % Hsp90 від загальної кількості цих білків в клітинах, а в цитозольній фракції - 45 % білка Hsp70 і 55 % Hsp90.

Діагностовано малігнізацію поліпа шлунка. 14.09.11 р. пацієнту виконано оперативне втручання в об'ємі дистальної субтотальної резекції шлунка. Післяопераційний період без особливостей. Отримував стандартну терапію. 29.09.11 р. хворого в задовільному стані виписано на амбулаторне лікування.

- 5        Приклад 2. Хвора С, 1952 р. н., історія хвороби № 1166/11 р. знаходилась на стаціонарному лікуванні з 6.09.11 р. по 22.05.11 р. з скаргами на відчуття дискомфорту в верхніх відділах живота. Обстежена клінічно, лабораторно, інструментально (ЕГДС: в ділянці с/3 тіла шлунка по передній стінці визначається поліп 1,1×1,3 см з ерозивною верхівкою, слизова набрякла, інфільтрована), встановлено діагноз: Поліп шлунка. Малігнізація? 7.09.11 р. під час гастроскопії
- 10        проведено біопсію слизової поліпа шлунка. При патоморфологічному дослідженні біоптатів у фрагментах слизової діагностовано аденоматозний тип поліпа. При імуноблот-аналізі в ядерній фракції клітин містилося 68 % білка Hsp70 і 23 % Hsp90 від загальної кількості цих білків в клітинах, а в цитозольній фракції - 32 % білка Hsp70 і 77 % Hsp90. Діагностовано малігнізацію поліпа шлунка. 12.09.11 р. хворому виконано ендоскопічну поліпектомію. Післяопераційний
- 15        період без особливостей. 15.09.11 р. хворого в задовільному стані виписано на амбулаторне лікування. При контрольній гастроскопії через 1 місяць місце видалення поліпа без особливостей.

- 20        За запропонованим способом в 10 хворих виконано молекулярне дослідження біопсійного матеріалу поліпів шлунка, в 4 з них діагностовано малігнізацію поліпа шлунка, що підтверджено при додаткових методах дослідження. В той же час за способом-аналогом в 10 хворих виконано тільки патоморфологічне дослідження біопсійного матеріалу поліпа шлунка, в 9 з них ракової трансформації не виявлено, а після ендоскопічної поліпектомії та патоморфологічного дослідження видаленого поліпа у 6 хворих діагностовано малігнізацію поліпа шлунка. Даним пацієнтам в подальшому виконано оперативні втручання.

- 25        Таким чином, застосування запропонованого способу дозволяє підвищити точність діагностики малігнізації поліпа шлунка.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 30        Спосіб діагностики малігнізації поліпа шлунка, який включає патоморфологічне дослідження біопсійного матеріалу поліпа шлунка, який **відрізняється** тим, що додатково проводять імунобіохімічне дослідження біопсійного матеріалу, при якому визначають рівень білків теплового шоку Hsp70 та Hsp90 в ядерній та цитозольній фракціях клітин і, у випадку, коли в ядерній фракції клітин міститься менше 30 % білка Hsp70 і більше 45 % Hsp90 від загальної
- 35        кількості цих білків в клітинах, а в цитозольній фракції клітин поліпа шлунка - більше 70 % білка Hsp70 і менше 55 % Hsp90, діагностують малігнізацію поліпа шлунка.

---

Комп'ютерна верстка М. Ломалова

---

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

---

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