



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **81313** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
A61B 5/00
G01N 33/50 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2013 00405	(72) Винахідник(и):	Зелінська Наталія Віталіївна (UA), Пересунько Олександр Петрович (UA), Давиденко Ігор Святославович (UA)
(22) Дата подання заявки:	11.01.2013	(73) Власник(и):	БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	25.06.2013		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.06.2013, Бюл.№ 12		

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ СТАНУ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ В ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ ТА ПЛОСКОКЛІТИННОГО РАКУ ШИЙКИ МАТКИ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики стану сполучної тканини в диференціації аденокарциноми та плоскоклітинного раку шийки матки включає гістологічне дослідження стінки каналу шийки матки, отриманого при фракційному вишкрібанні, фарбування гістопрепарату хромотропом водним блакитним за Н.З. Слінченко та визначення за допомогою комп'ютерної мікроденситометрії питомого об'єму волокнистого компонента строми та оптичної густини забарвлення волокон.

UA 81313 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до гінекології та онкогінекології, і може бути використана для диференційної діагностики злоякісних процесів цервікального каналу шийки матки.

Діагностика раку шийки матки - актуальна проблема онкології та гінекології, яка потребує нових, нестандартних підходів [Воробйова Л.І., 2011; Вакуленко Г.А., 2002]. У наш час широко використовується комплексний метод, який включає в себе кольпоцервікоскопію, цитологічне та гістологічне дослідження. Але практика показує, що інформативність цих методів залежить від багатьох причин - правильності забору матеріалу, технічних способів його виконання, розуміння лікарем суті процесів, що перебігають в епітелії та сполучній тканині шийки матки, інтерпретації результатів дослідження як морфологом, так і гінекологом, а саме, високим професіоналізмом спеціалістів на всіх етапах діагностики [Запорожан В.М., 2009; Акуленко Л.В., 2003; Воробйова Л.І., 2011; Щепотін Б.І., Федоренко З.П., 2008].

Аденокарциномі шийки матки, на відміну від плоскоклітинного раку шийки матки, у вітчизняній та зарубіжній літературі приділяється незаслужено мало уваги. Перш за все, увага закордонних вчених останні роки зосереджена головним чином на аденогенних формах цервікального раку (аденокарциномі шийки матки) [Donadello N., 1991; Joung R.H., 1990]. Пов'язано це не тільки з різким збільшенням числа аденокарцином (до 20 %) в групі злоякісних епітеліальних пухлин шийки матки [Costa M.J., 1995], але й різноманітністю гістологічних форм, клініко-морфологічні особливості яких вивчені явно недостатньо [Joung R.H., 1990; Miller B.E., 1993]. Крім цього через переважно первинну локалізацію в цервікальному каналі, для аденогенного раку шийки матки характерна більша кількість помилок в діагностиці.

Діагностика різних елементів клітин епітелію каналу шийки матки з використанням різних методів дослідження гістологічних зрізів дозволяє достовірно встановлювати патологію. А визначення показників стану сполучної тканини в епітелії шийки матки може стати принципово важливим для встановлення та диференціювання плоскоклітинного та аденогенного раку.

Аналогом корисної моделі є вивчення властивостей білків різних структур тканини аденокарцином G1, G2, G3 та плоскоклітинних раків за допомогою гістохімічної методики з бромфеноловим синім на "кислі" та "основні" білки за Мікель-Кальво. Вказана методика дозволяє за кольором диференціювати білки, в яких переважають карбоксильні групи над аміногрупами білків (так звані "кислі" білки) - червона (Red) та зелена (Green) ділянки спектра, від білків, в яких аміногрупи переважають над карбоксильними ("основні" білки) - синя ділянка спектра (Blue). Сучасні можливості об'єктивної оцінки кольору (комп'ютерна мікроспектрофотометрія) дозволяють отримувати високоточні та відтворювані результати вимірювань кольору. На основі комп'ютерної мікроспектрофотометрії отримують два показники - R/B та G/B, тлумачення яких по суті однаково, але залежно від особливостей певного протеїну або від механізмів розвитку певної патології один з них може бути більш чутливим. Так, без сумніву, властивості білків у цитоплазмі пухлинних клітин, які є паренхімою пухлини, залежать, у першу чергу, від конкретних порушень генетичного матеріалу клітин певного типу пухлини. Отже, різні властивості продукованих клітинами різних типів пухлин потенційно мають діагностичне значення.

Найближчим аналогом є (Патент № 70363 "Спосіб диференційної діагностики аденокарциноми та плоскоклітинного раку шийки матки" (автори: О.П. Пересулько, Н.В. Зелінська, І.С. Давиденко) - Бюл № 11 від 11.06.2012 року. У даному способі вимірювання окислювальної модифікації білків у структурах епітелію шийки матки здійснюється шляхом фарбування гістологічного препарату специфічними барвниками та візуальною оцінкою білкових груп, згідно з корисною моделлю, фарбування гістологічного препарату проводять бромфеноловим синім за методикою Мікель-Кальво, а візуальну оцінку білкових груп проводять комп'ютерною мікроспектрометрією за оцінкою кольору RGB по співвідношенню величин червоного та синього спектрів забарвлення.

Недоліком найближчого аналога є те, що за цією методикою фарбування не можливо достатньо чутливо охарактеризувати стан сполучної тканини підлеглої строми шийки матки.

Задача корисної моделі полягає у вдосконаленні методу диференціальної діагностики злоякісних новоутворень шийки матки.

Поставлена задача вирішується тим, що проводять оцінку показників стану сполучної тканини, таких як "питомий об'єм волокнистого компонента строми" та "оптична густина забарвлення сполучнотканинних волокон строми", що призводить до мінімізації суб'єктивного фактора та підвищує якість і швидкість діагностичного дослідження.

Спосіб, що заявляється, здійснюється наступним чином.

У пацієнтку з підозрою на рак цервікального каналу (аденокарциному чи плоскоклітинний рак) проведено роздільний діагностичний зішкріб цервікального каналу та порожнини матки з

наступним визначенням та оцінкою показників стану сполучної тканини, таких як "питомий об'єм волокнистого компонента строми" та "оптична густина забарвлення сполучнотканинних волокон строми".

Для дослідження стану сполучної тканини та її оптичної щільності матеріал біопсії фіксували 48-72 годин в 10 % розчині нейтрального забуференого формаліну, після парафінової заливки на санному мікротомі MC-2 одержували гістологічні зрізи товщиною 5 мкм. З оглядовою метою гістологічні препарати зафарбовували гематоксиліном і еозином. З спеціальною метою використана методика Н.З. Слінченко ("хромотроп 2В"-водний блакитний" після протравки фосфорно-вольфрамовою кислотою). Вказане забарвлення по результатах відповідає відомій методиці Меллорі, але на відміну від останньої дозволяє адекватно зафарбовувати тканини, фіксовані звичайним способом у формаліні. Після фарбування з'являється можливість візуалізувати волокна сполучної тканини (по чистому блакитному забарвленню різної інтенсивності), фібрин (малиновий колір), еритроцити - яскраво-червоні, різні клітини: їх ядра і цитоплазма забарвлюються у відтінки кольорів від блакитного до пурпурового. Оптичні зображення переводили в цифрові за допомогою мікроскопа ЛЮМAM-P8 і цифрової фотокамери Olympus C740UZ. Одержані цифрові зображення аналізували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми ВідеоТест-Розмір 5.0, виробника ТОВ Відеотест (Росія, 2000). Інтенсивність забарвлення вимірювали мікросондовим методом, згідно з технологією комп'ютерної мікроденситометрії, за показником "оптична щільність" в умовних одиницях від 0 (повністю проникний для світлового пучка) до 1 (абсолютно непроникний для світлового пучка). Там, де це було можливо, попіксельно визначали питому площу (%), займану сполучнотканинними волокнами.

Приклад конкретного виконання способу:

Нами цією методикою обстежено гістологічні зрізи стінки цервікального каналу при аденокарциномі шийки матки та плоскоклітинному раку. Контролем слугували нормальні гістологічні зрізи шийки матки в позапухлинному полі. Показники питомого об'єму волокнистого компонента строми та оптичної густини забарвлення сполучнотканинних волокон строми при аденокарциномі шийки матки становлять відповідно $46,9-48,9 \pm 0,19$ % та $0,160-0,164 \pm 0,0024$ ум.од.опт. густини; при плоскоклітинному раку відповідно - $54,6-55,9 \pm 0,4$ % та $0,189-0,190 \pm 0,0024$ ум.од.опт. густини.

Таким чином, наведений спосіб дозволяє в гістологічному препараті виміряти показники питомого об'єму волокнистого компонента строми та оптичної густини забарвлення сполучнотканинних волокон строми в конкретних структурах епітелію шийки матки при плоскоклітинному раку та аденокарциномі.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики стану сполучної тканини в диференціації аденокарциноми та плоскоклітинного раку шийки матки, що полягає в гістологічному дослідженні стінки каналу шийки матки, отриманого при фракційному вишкрібанні, який **відрізняється** тим, що гістопрепарат фарбують хромотропом водним блакитним за Н.З. Слінченко та за допомогою комп'ютерної мікроденситометрії визначають питоми об'єм волокнистого компонента строми та оптичної густини забарвлення волокон, які при аденокарциномі шийки матки становлять відповідно $46,9-48,9 \pm 0,19$ % та $0,160-0,164 \pm 0,0024$ ум. од. опт. густини, а при плоскоклітинному раку відповідно $54,6-55,9 \pm 0,4$ % та $0,189-0,190 \pm 0,0024$ ум. од. опт. густини.

Комп'ютерна верстка М. Мацело

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