



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **81314** (13) **U**

(51) МПК (2013.01)

A61B 5/00

G01N 1/30 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 00407**

(22) Дата подання заявки: **11.01.2013**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.06.2013**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.06.2013, Бюл.№ 12**

(72) Винахідник(и):

**Пересунько Олександр Петрович (UA),
Мойсюк Тетяна Григорівна (UA),
Давиденко Ігор Святославович (UA)**

(73) Власник(и):

**БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ,
пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)**

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ СТАНУ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ В ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ ПАТОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ ШЛУНКА

(57) Реферат:

Спосіб діагностики стану сполучної тканини в диференціації патологічних процесів шлунка здійснюють шляхом дослідження гістологічних препаратів. При цьому виконують фарбування гістологічного препарату хромотропом водним блакитним за Н.З. Слінченко і визначають за допомогою комп'ютерної мікроденситометрії показники питомого об'єму волокнистого компоненту строми та оптичної густини забарвлення волокон.

UA 81314 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до онкології, хірургії, і може бути використана для визначення патологічних змін біологічних тканин, що актуально у діагностиці і диференціації доброякісних та злоякісних пухлин шлунку.

Питання своєчасної діагностики раку шлунка сьогодні практично вирішені. Основним методом діагностики раку шлунка є фіброгастроскопія з полібіопсією (не менше ніж з 5 місць підозрілої ділянки слизової), яку потрібно виконувати всім хворим з підозрою на рак шлунка, за винятком тих випадків, коли є протипоказання до дослідження. Виявлення і госпіталізація у хірургічні стаціонари до 60 % хворих на III-ій і IV-ій стадіях захворювання, коли радикальне лікування малоефективне чи навіть неможливе, створює проблему доопераційного визначення внутрішньостінкового та екстрамурального поширення пухлинного процесу шлунка, а визначити реальні межі злоякісного ураження та вибрати адекватну тактику втручання під час операції іноді буває досить важко [Г.В. Бондарь, 2006].

Проблемі захворювань шлунка присвячено величезну кількість робіт як в СНД, так і за кордоном. Вони доповнені даними електронно-мікроскопічних, гістохімічних дослідницьких прийомів, які представляють безперечну новизну. Проте в них практично не описується і не пояснюється стан підлеглої сполучної тканини шлунка в процесі малігнізації його епітелію. Крім того, гістохімічні методи оцінки стану сполучної тканини практично не використовуються в практичній медицині внаслідок значної дорожнечі.

Діагностика різних елементів клітин стінки шлунка з використанням різних методів дослідження гістологічних зрізів дозволяє достовірно встановлювати патологію. А визначення показників стану сполучної тканини в епітелії шлунка може стати принципово важливим для встановлення та диференціювання передракових станів та раку шлунка.

Аналогом корисної моделі є вивчення властивостей білків різних біологічних тканин за допомогою гістохімічної методики з бромфеноловим синім на "кислі" та "основні" білки за Мікель-Кальво [І.С. Давиденко, 2005]. 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 однакове, але залежно від особливостей певного протеїну або від механізмів розвитку певної патології один з них може бути більш чутливим.

Найближчим аналогом корисної моделі, що заявляється, є деклараційний патент на винахід № 70363 Спосіб диференційної діагностики аденокарциноми та плоскоклітинного раку шийки матки (автори: О.П. Пересунько, 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 до корисної моделі, 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 шлунка.

Суть корисної моделі.

В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалити діагностику стану сполучної тканини шлунка у хворих з підозрою на рак шлунка, шляхом визначення питомого об'єму волокнистого компоненту строми та оптичної густини забарвлення сполучнотканинних волокон, що дозволить проводити більш якісну диференційну діагностику доброякісних та злоякісних пухлин шлунка.

Поставлена задача вирішується наступним чином. У хворих з підозрою на рак шлунка проводять фіброгастодуоденоскопію з прицільною біопсією 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 фіксують 48-72 годин в 10 % розчині нейтрального забуференого формаліну, після парафінової заливки на санному мікротомі MC-2 одержують гістологічні зрізи товщиною 5 мкм. З оглядовою метою гістологічні препарати зафарбовують гематоксиліном і еозином. За методикою 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 візуалізують 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 переводять в цифрові за допомогою мікроскопа ЛЮМАМ-Р8 і цифрової фотокамери Olympus C740UZ. Одержані цифрові зображення аналізують за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми ВідеоТест-Розмір 5.0, виробника ТОВ Відеотест (Росія, 2000). Інтенсивність забарвлення вимірювали мікрозондним методом згідно технології комп'ютерної мікроденситометрії за показником "оптична щільність" в умовних одиницях від 0 (повністю проникний для світлового пучка) до 1 (абсолютно не проникний для світлового пучка). В подальшому піксельно визначають питому площу (%), займану сполучнотканинними волокнами.

Приклад конкретного виконання способу:

Обстежено гістологічні зрізи біоптатів шлунка при гіперпластичному поліпі (n-10), аденоматозному поліпі (n-8), хронічній виразці шлунка (n-9) та аденокарциномі шлунка (G1-G3) (n-30). Визначені показники питомого об'єму волокнистого компоненту строми та оптичної густини забарвлення волокон, які при гіперпластичному поліпі становлять відповідно - $43,8 \pm 1,18$ % та $0,159 \pm 0,0022$ ум. од. опт. густини; аденоматозному поліпі - $48,5 \pm 1,19$ % та $0,167 \pm 0,0026$ ум. од. опт. густини; хронічній виразці - $68,7 \pm 1,24$ % та $0,189 \pm 0,0025$ ум. од. опт. густини; аденокарциноми (G1-G3) - $57,3-59,9 \pm 1,27$ % та $0,190-0,192 \pm 0,0025$ 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 шлунка, що підвищує якість диференційної діагностики патологічних процесів шлунка.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики стану сполучної тканини в диференціації патологічних процесів шлунка шляхом дослідження гістологічних препаратів, який **відрізняється** тим, що виконують фарбування гістологічного препарату хромотропом водним блакитним за Н.З. Слінченко і визначають за допомогою комп'ютерної мікроденситометрії показники питомого об'єму волокнистого компоненту строми та оптичної густини забарвлення волокон, які при гіперпластичному поліпі становлять відповідно - $43,8 \pm 1,18$ % та $0,159 \pm 0,0022$ ум. од. опт. густини; аденоматозному поліпі - $48,5 \pm 1,19$ % та $0,167 \pm 0,0026$ ум. од. опт. густини; хронічній виразці - $68,7 \pm 1,24$ % та $0,189 \pm 0,0025$ ум. од. опт. густини; аденокарциноми (G1-G3) - $57,3-59,9 \pm 1,27$ % та $0,190-0,192 \pm 0,0025$ 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