



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **81382** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
A61D 7/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 00966	(72) Винахідник(и): Шепітько Володимир Іванович (UA), Костиленко Юрій Петрович (UA), Шепітько Костянтин Володимирович (UA), Білаш Сергій Михайлович (UA), Єрошенко Галина Анатоліївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 28.01.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.06.2013	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.06.2013, Бюл.№ 12	(73) Власник(и): Шепітько Володимир Іванович, вул. Міщенка, 5, кв. 2, м. Полтава, 36011 (UA), Костиленко Юрій Петрович, вул. Паризької Комуни, 2/16, кв. 54, м. Полтава, 36020 (UA), Шепітько Костянтин Володимирович, вул. О. Бідного, 1, кв. 9, м. Полтава, 36000 (UA), Білаш Сергій Михайлович, вул. Р. Люксембург, 56-в, кв. 3, м. Полтава, 36039 (UA), Єрошенко Галина Анатоліївна, вул. Зигіна, 6, кв. 2, м. Полтава, 36014 (UA)

(54) СПОСІБ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ЕНДОКРИНОЦИТІВ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ НА ЕПОКСИДНИХ ШЛІФАХ

(57) Реферат:

Спосіб ідентифікації ендокриноцитів шлунково-кишкового тракту (ШКТ) на епоксидних шліфах включає в себе методику поміщення тотального препарату в ЕПОН 812. Ущільнення проводиться всього органокомплексу з різних відділів ШКТ.

UA 81382 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до морфологічних досліджень, та може застосовуватись для виявлення та оцінки кількості, розмірів, локалізації та ступеня враження ендокриноцитів асоційованих зі слизовими оболонками шлунково-кишкового тракту (ШКТ) при запальних процесах.

Проблема діагностики та лікування захворювань ШКТ залишається актуальною темою, зважаючи на їх значну поширеність в Україні та за її межами. Статистичні дослідження показують, що приблизно 50 %, і більше, працездатного населення розвинутих країн страждає на патологію ШКТ. Якщо враховувати, що з віком кількість хворих неухильно збільшується, то виявляється, що патологія ШКТ є не тільки найпоширенішим захворюванням органів травлення, але і найактуальнішою проблемою сучасної гастроентерології. Враховуючи, що захворювання ШКТ нерідко виникають у осіб працездатного віку, лікування цих хвороб потребує певних матеріальних витрат, що вказує на соціально-економічну важливість даної проблеми.

Травна система представлена травною трубкою, яка складається з наступних відділів: стравохід, шлунок, трьох відділів тонкої кишки, та товстої кишки. Кожен з цих відділів відповідає за певну функцію від формування травного клубка у ротовій порожнині та стравоході, перетравлення та формування первинного хімусу у шлунку, в наступних трьох відділах тонкої кишки проходять процеси всмоктування, виробленням гормонів з подальшим проштовхуванням хімусу, у товсту кишку де проходять кінцеві процеси перетравлення їжі.

Велике значення для процесу травлення має кількість та якість гормональної та ферментативної складової, яку забезпечують не тільки великі та малі травні залози, але і ендокриноцити асоційовані зі слизовою оболонкою ШКТ.

Серед кишкових ендокриноцитів розрізняють: А-клітини, які секретують ентероглюкагон; D-клітини, які виробляють саматостатин; D₁-клітини, які стимулюють вазоїтестинальний поліпептид; Ес-клітини, які продукують серотонін і мотилін; ECL- клітини, що продукують гістамін; G-клітини, які секретують гастрин; I-клітини, які виробляють холецистокінін і панкреозимін; К-клітини, які виробляють гастроінгібуючий гормон; L-клітини, що виробляють ентероглюкагон; М-клітини, які виробляють мотилін; N- клітини, що продукують нейротинзин; Р-клітини, які продукують бомбензин; PP- клітини, що виробляють панкреатичний поліпептид; S-клітини, що виділяють секретин. Усі ці види ендокриноцитів відповідають за травлення, всмоктування, та нейрорегуляторний процес у ШКТ.

Отже, розробка способів виявлення, визначення кількісної та якісної складової, локалізації, визначення механізмів ушкодження апудоцитів слизових оболонок ШКТ є актуальною проблемою експериментальної та клінічної медицини.

Відомий спосіб визначення ендокриноцитів існує на парафінових та на напівтонких зрізах [Успенский В.М. К методике гистохимической идентификации эндокринных клеток слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки / В.М. Успенский, В.Ю.Голефеевский //Архив патологии.- №1.-1996.- С.78-80].

Цей спосіб гістохімічної ідентифікації ендокриноцитів клітин слизової оболонки шлунку та дванадцятипалої кишки є достатньо простим, не потребує використання коштовних реактивів та обладнання.

Однак суттєвим недоліком є те, що він не дає повної уяви про цитоархітекtonіку, чисельність, якісний склад різних видів ендокриноцитів в слизових оболонках різних відділів ШКТ в цілому, тому ми спираємось на ще один відомий спосіб [Старченко І.І. Застосування методу пластинації в стереоморфологічних дослідженнях / І.І.Старченко, О.К.Прилуцький // Вісник проблем біології і медицини.-2006, Вип. 2.- С. 420-422].

Цей спосіб підготовки та ущільнення біологічного матеріалу для мікроскопічного дослідження дає можливість вивчати біологічні структури з великою оглядовою поверхнею на тотальному препараті.

Полягає спосіб в тому, що біоптат вміщується у компаунд епоксидної смоли марки (ЕПОН 812) та відомими технічними прийомами з них виготовляються шліфи з виключенням постфіксації, яка передбачає дегідратацію тканин з наступним ущільненням її в епоксидну смолу та полімеризацією.

Однак суттєвим недоліком даного способу є те, що данні дослідження проводились на комплексах хрящової, кісткової тканини і забарвлювались метиленовим синім, що не дає змоги ідентифікувати апудоцити ШКТ.

Найближчий до запропонованого є спосіб виявлення клітин дифузної ендокринної системи у стінці шлунку на напівтонких зрізах який включає в себе модифікацію методики Грімеліуса, ущільнення біологічного матеріалу з використовується ущільнювач ЕПОН-812, з метою виготовлення напівтонких серійних зрізів, та використовуються хімічні речовини, які є менш канцерогенними та зменшують час проведення забарвлення оболонок шлунку для

ідентифікації, визначення гістотопографії, кількісного та якісного складу апудоцитів [Білаш С.М. Значення та місце ендокриноцитів асоційованих зі слизовою оболонкою шлунку в патогенезі гострого гастриту / С.М. Білаш, В.І.Шепітько, Г.А.Єрошенко [та ін.] // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії.-Т. 12, Вип. 4 (40).-С 206-210].

Однак суттєвим недоліком даного способу є те, що данні дослідження проводились на напівтонких зрізах гастробіоптатів і не проводилися на тотальних препаратах органокомплексів ШКТ.

В основу корисної моделі поставлена задача модифікувати методику поміщення біологічних тканин в епоксидну смолу для вивчення апудоцитів не на парафінових та напівтонких зрізах, а на тотальних препаратах з різних відділів ШКТ для мікроскопічного дослідження і виявлення ендокриноцитів.

Поставлена задача вирішується тим, що ущільнення проводиться всього органокомплексу різних відділів ШКТ в ЕПОН 812 з метою отримання цілісного уявлення про місце та роль різних видів апудоцитів, асоційованих з слизовими оболонками ШКТ. Такий метод ущільнення, а потім імпрегнації солями срібла дає змогу ідентифікувати, визначити гістотопографію, кількісний та якісний склад ендокриноцитів на тотальному препараті в різних відділах ШКТ та визначити ділянки для прицільного подальшого гістохімічного та електронномікроскопічного дослідження.

Запропонований спосіб здійснюється наступним чином:

1. Шматочки тканин з різних відділів ШКТ фіксували у 2,5 % розчині глутарового альдегіду і ущільнювали в ЕПОН-812 за загальноприйнятою методикою для електронномікроскопічних досліджень виключаючи етап контрастування в солях осмію;

2. З пластинованих блоків ділянок різних відділів ШКТ виготовляли шліфи завтовшки від 0,5 до 0,8 мм;

3. Протягом 5 хвилин шліфи занурювали в розчин фосфатного буферу з рН 5,6;

4. У подальшому шліфи витримували протягом 10 хвилин у свіжоприготовленому розчині Буена;

5. Потім шліфи витримували протягом 1 години (під візуальним контролем) у 0,3 % розчин азотнокислого срібла на фосфатному буфері (рН 5,6) при температурі 37 °С;

6. Надалі шліфи проявляли протягом 3 хвилин 1 % розчино гідроксиду на 5 % розчині сульфату натрію у термостаті при 45 °С;

7. Препарати промивали дистильованою водою протягом 10 хвилин, висушували в термостаті при температурі 37 °С і вивчали у світловому мікроскопі при різних збільшеннях.

Гранули ендокриноцитів ШКТ забарвлювались в темно-коричневий колір, інші структури - в жовтий колір, що дало змогу ідентифікувати, визначити гістотопографію, кількісний та якісний склад клітин дифузної ендокринної системи ШКТ.

Таким чином, запропонований спосіб дозволяє визначити ендокриноцити на великій поверхні епоксидних шліфів, скоротити час проведення методики, зменшити канцерогенний вплив реактивів, що використовує у своїй роботі дослідник та швидко визначити ділянки препарату для подальшого гістохімічного та електронно мікроскопічного дослідження.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб ідентифікації ендокриноцитів шлунково-кишкового тракту (ШКТ) на епоксидних шліфах, що включає в себе методику поміщення тотального препарату в ЕПОН 812, який **відрізняється** тим, що ущільнення проводиться всього органокомплексу з різних відділів ШКТ.

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

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