



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **70363** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
A61B 5/00
G01N 33/50 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2011 13249	(72) Винахідник(и): Пересунько Олександр Петрович (UA), Зелінська Наталія Віталіївна (UA), Давиденко Ігор Святославович (UA)
(22) Дата подання заявки: 10.11.2011	(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: 11.06.2012	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.06.2012, Бюл.№ 11	

(54) СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ АДЕНОКАРЦИНОМИ ТА ПЛОСКОКЛІТИННОГО РАКУ ШИЙКИ МАТКИ

(57) Реферат:

Спосіб диференційної діагностики аденокарциноми та плоскоклітинного раку шийки матки полягає в гістологічному дослідженні епітелію каналу шийки матки, отриманого при фракційному вишкрібанні цервікального каналу. Ступінь окислювальної модифікації білків в цитоплазмі клітин оцінюють шляхом фарбування гістопрепарату бромфеноловим-синім за методикою Мікель-Кальво з наступною візуалізацією білкових груп.

UA 70363 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.

5 Діагностика раку шийки матки (РШМ) - 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].

10 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., 20 1993]. Крім того, 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 окислювальної модифікації білків в епітелії шийки матки може стати принципово важливим для встановлення та диференціювання плоскоклітинного та аденогенного раку.

25 Відомий 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]. Необхідно відмітити, що спосіб-аналог для інших органів, окрім плаценти, не апробований, тому може бути для них неадекватним. Спосіб-аналог полягає у імуногістохімічному визначенні карбонільних груп білків у гістологічних препаратах шляхом проведення імуногістохімічної реакції з динітрофенілгідразиним з наступним виявленням останнього за допомогою антитіл до нього та системи пероксидазобензидинової візуалізації.

35 Недоліком аналога 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 висвітлити співвідношення між карбонільними та аміногрупами протеїнів. Аналог цього зробити не дозволяє. Окрім того, аналог відрізняється високою вартістю.

40 Найближчим аналогом є спосіб вимірювання окислювальної модифікації білків в структурах плаценти [Патент на винахід №13712U (автори: І.С. Давиденко, О.П. Шендерюк) - Бюл №4 від 17.04.2006 р.].

45 У даному способі вимірювання окислювальної модифікації білків у структурах плаценти 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 зеленого та синього спектрів забарвлення.

50 У пацієток з підозрою на рак цервікального каналу (аденокарциному чи плоскоклітинний рак) проведено роздільний діагностичний зішкріб цервікального каналу та порожнини матки з наступним гістохімічним дослідженням окислювальної модифікації білків.

55 Спосіб, що заявляється, здійснюється наступним чином. Фарбують бромфеноловим синім при низькому рН гістологічний зріз шийки матки, після чого отримують цифрову копію мікроскопічного зображення. Потім ділянки мікроскопічного зображення, 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, 60 яке і дозволяє виміряти ступінь окислювальної модифікації білків. Використання червоного та

синього спектрів забарвлення є більш інформативним і точним відносно до структур, які входять до тканини пухлини аденокарциноми шийки матки.

Приклад конкретного виконання способу:

5 Обстежено гістологічні зрізи стінки цервікального каналу при аденокарциномі шийки матки, плоскоклітинному незроговілому і зроговілому раках, недиференційованому раку. Контролем слугували нормальні гістологічні зрізи шийки матки в позапухлинному полі. Показники окислювальної модифікації білків в цитоплазмі епітелію цервікального каналу (коефіцієнт $R\backslash B$) достовірно знижується ($p < 0,001$) в ряду: недиференційований рак ($4,94 \pm 0,04$) → нормальний плоский епітелій ектоцервіксу ($3,86 \pm 0,04$) → плоскоклітинний рак ($2,94 \pm 0,03$) → аденокарцинома (1,26±0,02). Окислювальна модифікація білків (по коефіцієнту $R\backslash B$) в цитоплазмі епітеліальних клітин цервікального каналу мінімальна у хворих з аденокарциномою шийки матки ($p < 0,001$), що вказує на порівняно меншу частку карбоксильних груп у білку структур вказаної локалізації.

10 Таким чином, наведений спосіб дозволяє в гістологічному препараті виміряти окислювальну модифікацію білків в конкретних структурах епітелію шийки матки при плоскоклітинному раку та аденокарциномі.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

20 Спосіб диференційної діагностики аденокарциноми та плоскоклітинного раку шийки матки, що полягає в гістологічному дослідженні епітелію каналу шийки матки, отриманого при фракційному вишкрібанні цервікального каналу, який **відрізняється** тим, що оцінюється ступінь окислювальної модифікації білків в цитоплазмі клітин шляхом фарбування гістопрепарату бромфеноловим синім за методикою Мікель-Кальво з наступною візуалізацією білкових груп методом цифрової комп'ютерної мікроспектрометрії з оцінкою кольору RGB (Red, Green, Blue)

25 по співвідношенню червоного та синього кольорів і обрахуванням коефіцієнта $R\backslash B$, який при аденокарциномі становить 1,13-1,39; а при плоско-клітинному раку - 2,75-3,13.

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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