



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **75627** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
G01N 33/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2012 05915</p> <p>(22) Дата подання заявки: 15.05.2012</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.12.2012</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.12.2012, Бюл.№ 23</p>	<p>(72) Винахідник(и): Вернигородський Сергій Вікторович (UA), Дегтярьова Лариса Вікторівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ.М.І.ПИРОГОВА, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018 (UA)</p>
--	--

(54) СПОСІБ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ КИШКОВОЇ МЕТАПЛАЗІЇ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА

(57) Реферат:

Спосіб ранньої діагностики кишкової метаплазії слизової оболонки шлунка належить до медицини, зокрема до патологічної анатомії, та може бути використаний в комплексній діагностиці та прогнозі ускладнень хронічного атрофічного метапластичного гастриту.

UA 75627 U

Корисна модель належить до медицини, зокрема до патологічної анатомії, і являє собою спосіб ранньої діагностики кишкової метаплазії слизової оболонки шлунка. Може бути використана в комплексній діагностиці та прогнозі ускладнень хронічного атрофічного метапластичного гастриту.

5 Відомо, що для діагностики кишкової метаплазії необхідне застосування комплексу морфологічних та лабораторних методів досліджень, які різняться за точністю результатів і складністю виконання.

За вимогами доказової медицини прижиттєва верифікація кишкової метаплазії неможлива без патогістологічного дослідження гастробіоптатів. Найближчим до моделі, що пропонується, 10 способом патогістологічної його діагностики є таке, що проводиться згідно з положеннями модифікованої "Сіднейської системи" з використанням візуально-аналогової шкали (Dixon, Michael F. M.D., F.R.C.Path; Genta, Robert M. M.D.; Yardley, John H. M.D.; Correa, Pelayo M.D. Classification and Grading of Gastritis: The Updated Sydney System // Am. J. Surg. Pathol.-1996.- Vol. 20(10).- P. 1161-1181. та Ozlem Aydin, Reyhan Egilmez, Tuba Karabacak, Arzu Kanik. 15 Interobserver variation in histopathological assessment of Helicobacter pylori // World J Gastroenterology.-2003.- Vol. 9(10).- P. 2232-223, Rugge M., Robert M., Genta R.M. Staging and grading of chronic gastritis // Human Pathology.-2005.- Vol.-36. - P. 228-233, Cassaro M., Rugge M., Tieppo C, Giacomelli L., Velo D., Nitti D., Farinati F. Indefinite for non-invasive neoplasia lesions in gastric intestinal metaplasia: the immunophenotype // J Clin Pathol.-2007. - Vol. 60. - P. 615-621). 20 Однак, останні мають ряд недоліків.

По-перше, у модифікованій "Сіднейській системі" ще не враховані новітні уточнення та доповнення стосовно кишкової метаплазії. В ній, зокрема, відсутнє поняття хронічного атрофічного метапластичного гастриту. По-друге, відсутні критерії ступенів кишкової метаплазії слизової оболонки шлунка (СОШ) за розповсюдженістю та у співвідношенні з атрофією. По- 25 третє, висновок про існування хронічного гастриту роблять переважно за ступенем і локалізацією запальної клітинної інфільтрації. По-четверте, відсутні критерії ранніх проявів метапластичних змін шлункового епітелію.

Як відомо, головною ознакою хронічного атрофічного гастриту є втрата спеціалізованих залоз із заміщенням їх фіброзною тканиною (хронічний атрофічний неметапластичний гастрит) 30 або метапластичним епітелієм (хронічний атрофічний метапластичний гастрит). При гістологічному дослідженні біопсійного матеріалу такі зміни не завжди виявляються, що залежить від кількості отриманого матеріалу (повну гістологічну картину стану слизової оболонки можна уявити лише проаналізувавши не менше п'яти гастробіоптатів).

В основу корисної моделі "Спосіб ранньої діагностики кишкової метаплазії слизової 35 оболонки шлунка" поставлена задача оцінки основних морфологічних критеріїв ураження СОШ з урахуванням метапластичних змін, зокрема стану ядер поверхневих епітеліоцитів, шийкових мукоцитів та залозистих екзокриноцитів, що дозволяє діагностувати кишкову метаплазію на ранній стадії, скоротити час обстеження хворих та призначити відповідне лікування.

Поставлена задача вирішується способом, що передбачає визначення стану ядер 40 поверхневого епітелію, шийкових мукоцитів та залозистих екзокриноцитів слизової оболонки шлунка з урахуванням метапластичних змін: за допомогою імуногістохімічного аналізу з використанням мишачих моноклональних антитіл до ядерного антигену CDX2 ("DAKO", клон DAK-CDX2, Данія), який при позитивному забарвленні ядер в коричневий колір дозволяє встановити діагноз хронічного атрофічного гастриту з кишковою метаплазією ще до появи 45 цитохімічного диференціювання та утворення келихоподібних клітин.

Для діагностики біопсійний матеріал отримують під час гастроскопічного дослідження з прицільною щипцевою біопсією за допомогою апарату фірми "Olympus" СОШ (з muscularis 50 mucosae включно) вилучають з малої та великої кривизни тіла й антральної частини (по 2 з кожного відділу) та з кута шлунка (1 шматочок). Гастробіоптати фіксують в 10 % розчині нейтрального формаліну (рН=7,4) протягом 24 годин. Після дегідратації їх заливають у високоочищений парафін з полімерними добавками (Richard-Allan Scientific) при температурі не вище 60 °С та візуальному контролю орієнтації біоптата у блоці. (Зріз має проходити перпендикулярно до поверхні слизової оболонки). На ротаційному мікромомі Microm HM 325 з системою переносу зрізів STS (Carl Zeiss, Німеччина) виготовляють серійні гістологічні зрізи 55 товщиною (5±1 мкм), які монтують на предметне скло зі спеціальним адгезивним покриттям. Депарафінують у ксилолі за стандартною схемою, регідратують, зафарбовують гематоксиліном й еозином та проводять імуногістохімічне дослідження. Імуногістохімічні дослідження виконують на парафінових зрізах з використанням стрептавідин-біотинового методу ("DAKO", Данія, LSAB2 Systems, HRP). Демаскування антигену проводять в цитратному буфері з рН 6,0. В якості

первинних антитіл застосовують мишачі моноклональні антитіла. Ядра клітин дофарбовують гематоксиліном Майєра впродовж 15-60 сек.

Експресію транскрипційного фактора кишкової диференціації CDX2 оцінюють за допомогою мишачих моноклональних антитіл до ядерного антигену CDX2 ("DAKO", клон DAK-CDX2, Данія).

5 В препаратах при 400-кратному збільшенні мікроскопа визначають показник кишкової диференціації (ядерна мітка CDX2) у 5 випадково вибраних полях зору (≥ 500 клітин) як частку у відсотках позитивно забарвлених ядер епітеліоцитів СОШ в трьох компартментах (I - поверхневий та ямковий епітелій; II - перешийкова зона, III - основа залоз, середня та нижня третина залоз до базальних відділів). Позитивне забарвлення ядер свідчить про наявність

10 кишкової метаплазії. При цьому ядра забарвлюються на ранній стадії ще до появи келихоподібних екзокриноцитів, тобто до цитохімічного диференціювання клітин. Таким чином, при застосуванні наведеного способу імуногістохімічного маркування можна чітко визначитися з початковою фазою кишкової метаплазії (репрограмуванням ядер шлункових епітеліоцитів).

15 Клінічний приклад 1. Пацієнт Д, 1952 року народження, що мешкає у м. Крижопіль, звернувся у поліклініку міської лікарні зі скаргами на періодичний біль в епігастральній зоні, що посилюється після вживання їжі, нудоту, відрижку. Після проведення ендоскопічного дослідження встановлений діагноз: Хронічний гастрит. Взято по 2 шматочки слизової оболонки шлунка з фундального та антрального відділу шлунка для гістологічного дослідження.

20 Після проведеного гістологічного обстеження (№ 1473) за допомогою мишачих моноклональних антитіл до ядерного антигену CDX2 ("DAKO", клон DAK-CDX2, Данія) виявлено наявність метаплазованого епітелію в межах шлункової ямки (фіг. 1), був виставлений діагноз: Хронічний атрофічний метапластичний гастрит легкого ступеня тяжкості та призначено лікування, після якого стан пацієнта покращився.

25 Клінічний приклад 2: Пацієнт С, 1957 року народження, що мешкає у м. Вінниця, звернувся в поліклініку Військово-медичного центру ВПС України зі скаргами на періодичний біль в епігастрії, загальну слабкість. Після проведення ендоскопічного дослідження встановлений діагноз: Хронічний атрофічний гастрит.

30 Після патогістологічного дослідження гастробіоптатів (№ 644-45) та застосування "Способу ранньої діагностики кишкової метаплазії слизової оболонки шлунка" виявлено метаплазію поверхнево-ямкового епітелію та епітелію шийкових відділів залоз (фігура 2). Патогістологічний діагноз: Хронічний атрофічний метапластичний гастрит середнього ступеня тяжкості. Хворому призначено лікування з повторним біопсійним контролем впродовж року.

35 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб ранньої діагностики кишкової метаплазії слизової оболонки шлунка, що передбачає патогістологічне дослідження слизової оболонки шлунка, який **відрізняється** тим, що визначають стан ядер поверхневого епітелію, шийкових мукоцитів та залозистих екзокриноцитів з урахуванням метапластичних змін за допомогою імуногістохімічного аналізу з використанням мишачих моноклональних антитіл до ядерного антигену транскрипційного фактора кишкової диференціації CI X2 і при позитивному забарвленні ядер в коричневий колір діагностують хронічний атрофічний гастрит з кишковою метаплазією.

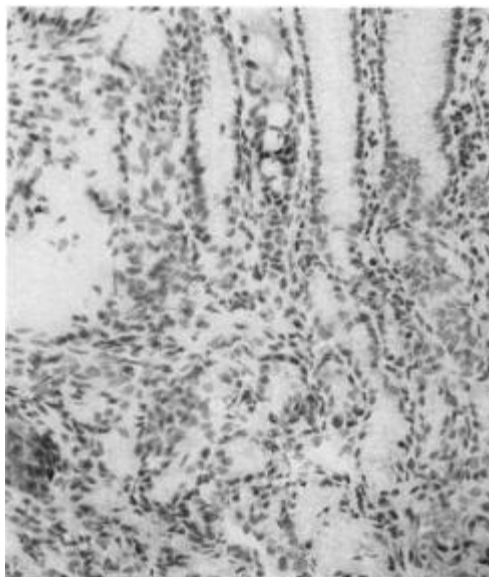


Fig. 1

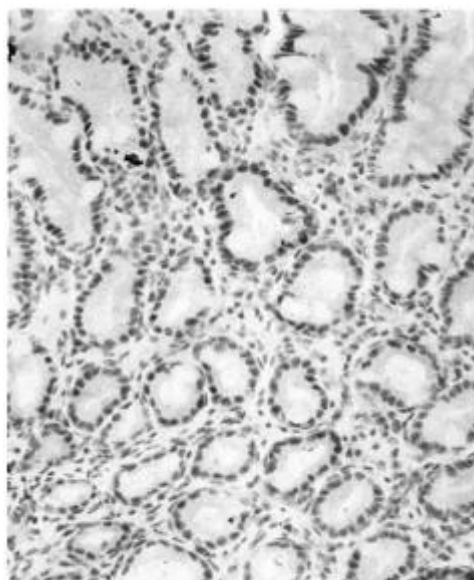


Fig. 2

Комп'ютерна верстка В. 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