



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **127437** (13) **U**
(51) МПК (2018.01)
G01N 1/30 (2006.01)
G01N 21/00
G01N 33/487 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2018 03396</p> <p>(22) Дата подання заявки: 30.03.2018</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.07.2018</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.07.2018, Бюл.№ 14</p>	<p>(72) Винахідник(и): Вернигородський Сергій Вікторович (UA), Рекун Тетяна Олександрівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018 (UA)</p>
--	--

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ВМІСТУ МУЦИНІВ В ЕПІТЕЛІЇ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ СТРАВОХОДУ ТА ШЛУНКА

(57) Реферат:

Спосіб оцінки вмісту муцинів в епітелії слизової оболонки стравоходу та шлунка включає гістологічне дослідження слизової оболонки стравоходу або шлунка, що характеризується визначенням стану цитоплазматичного забарвлення епітеліоцитів з урахуванням гістохімічної реакції за допомогою фазового аналізу з використанням комп'ютерної програми Quick PHOTO MICRO 2.3. При позитивному забарвленні цитоплазми епітеліоцитів у синій, пурпурний або малиновий колір визначають відсоток сіало-, сульфомуцинів або нейтральних муцинів в цитоплазмі клітин слизової оболонки стравоходу або шлунка.

UA 127437 U

Корисна модель належить до медицини, зокрема до гістології, цитології та ембріології, і являє собою спосіб кількісної оцінки вмісту муцинів в епітелії слизової оболонки стравоходу та шлунка. Може бути використана в комплексній діагностиці пре- та постнатального розвитку стравоходу та шлунка, а також оцінки функціонального стану слизової оболонки стравоходу та шлунка в патології.

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

За вимогами доказової медицини верифікація муцинів неможлива без їх кількісної оцінки при гістологічному дослідженні слизової оболонки стравоходу та шлунка. Найближчим до моделі, що пропонується, способом гістологічної діагностики муцинів є такі, що проводяться із застосуванням гістохімічних реакцій [Lev R. The mucin histochemistry of normal and neoplastic gastric mucosa /R. Lev //Lab Invest. - 1965. - Vol. 14, (12). - P. 2080-100; Jass J.R. A variant of intestinal metaplasia associated with gastric carcinoma: a histochemical study /J.R. Jass, M. I. Filipe //Histopathology. - 1979. - № 3. - P. 191-9; Jass J.R. The mucin profiles of normal gastric mucosa, intestinal metaplasia and its variants and gastric carcinoma /J.R. Jass, M.I.Filipe //Histochem J. - 1981-Vol. 13(6). - P. 931-9; Силантьева Т.А. Количественная оценка интенсивности гистохимических реакций на оцифрованных изображениях гистологических препаратов с использованием градуировочных стандартов / Т.А. Силантьева, Е.Н. Горбач //Український журнал телемедицини та медичної телематики. - 2010 - Том 8, № 1. - С. 68-71; The histochemical assessment of sulpho-, sialo-, and neutral mucosubstances in fetal gastric mucosa /Lokadolalu Chandracharya Prasanna, Huban R. Thomas, Antony Sylvan D'Souza [et al.] //Int J Res Med Sci. - 2015; - Vol. 3(1). - P. 235-238]. Однак, останні мають ряд недоліків. По-перше, при оцінці гістохімічних реакцій не враховані новітні уточнення та доповнення стосовно якісного складу муцинів. В них зокрема відсутній змішаний тип секретії. По-друге, відсутні кількісні критерії оцінки вмісту муцинів у слизовій і оболонці стравоходу та шлунка. По-третє, висновок про вміст муцинів роблять переважно за ступенем інтенсивності забарвлення цитоплазми.

Як відомо, головною ознакою наявності сіаломуцинів у цитоплазмі епітеліоцитів слизової оболонки стравоходу та шлунка є синє забарвлення цитоплазматичного вмісту при використанні гістохімічної реакції з альціановим синім, при наявності нейтральних муцинів - малинове забарвлення цитоплазми епітеліоцитів при використанні Шифф-йодної кислоти (ШИК-реакції) та пурпурний колір цитоплазми епітеліоцитів при наявності сульфомуцинів - забарвлення альдегід-фуксином за методом Гоморі. При гістологічному дослідженні некропсійного та біопсійного матеріалу такі зміни можливо оцінити тільки за якісними показниками, при цьому інтенсивність забарвлення цитоплазми епітеліоцитів залежить від кількості муцинів у цитоплазмі клітин.

В основу корисної моделі "Спосіб оцінки вмісту муцинів в епітелії слизової оболонки стравоходу та шлунка" поставлено задачу кількісної оцінки вмісту муцинів при гістологічному дослідженні слизової оболонки стравоходу або шлунка з визначенням стану цитоплазматичного забарвлення епітеліоцитів за допомогою фазового аналізу із застосуванням комп'ютерної програми "Quick PHOTO MICRO 2.3", що дозволяє скоротити час обстеження та надати відповідний прогноз.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі, що включає визначення стану цитоплазми епітелію слизової оболонки стравоходу та шлунка з урахуванням гістохімічної реакції, при якій цитоплазма епітеліоцитів забарвлюється у синій, пурпурний або малиновий колір з відповідним визначенням відсотку сіало-, сульфомуцинів або нейтральних муцинів в цитоплазмі епітеліоцитів слизової оболонки стравоходу або шлунка за допомогою фазового аналізу програми "Quick PHOTO MICRO 2.3".

Для діагностики некропсійний або біопсійний матеріал отримують під час розтину або проведення фіброезофагогастроскопії. Некропсійний або біопсійний матеріал фіксують у 10 % розчині нейтрального формаліну (pH 7,4) протягом 24 годин. Після дегідратації його заливають у високо очищений парафін з полімерними добавками (Richard-Allan Scientific) при температурі не вище 60 °С та візуальному контролі орієнтації біоптату у блоці (зріз має проходити перпендикулярно до поверхні слизової оболонки). На ротаційному мікротомі Microm HM 325 з системою переносу зрізів STS (Carl Zeiss, Німеччина) виготовляють серійні гістологічні зрізи товщиною (5±1 мкм), які монтують на предметне скло. Депарафінують у ксилолі за стандартною схемою, регідратують, зафарбовують альціановим синім, Шифф-йодною кислотою або альдегід-фуксином.

Кількісний склад муцинів в цитоплазмі слизової оболонки стравоходу та шлунка оцінюють за допомогою фазового аналізу на світловому мікроскопі OLIMPUS BX 41 при збільшеннях у 40,

100, 200 і 400 разів. Отримують та обробляють знімки, проводять морфометрію та статистичну обробку за допомогою програми "Quick PHOTO MICRO 2.3".

5 В препаратах визначають наявність муцинів за позитивним забарвленням цитоплазми епітеліоцитів у слизовій оболонці стравоходу та шлунка. При цьому сіаломуцини забарвлюються у синій колір, нейтральні муцини у малиновий та сульфомуцини у пурпурний.

В зрізах при 400-кратному збільшенні мікроскопа визначають площу епітелію необхідну для оцінки вмісту муцинів, наприклад 0,01 мм (фіг. 1).

10 Далі за допомогою команди вирізана необхідна ділянка виноситься окремо для її оцінки за допомогою фазового аналізу (фіг. 2). При цьому вибирається необхідна фаза (колір). Одночасно можливо оцінити до 4 фаз (кольорів). Після реєстрації кількісного вмісту муцинів у відсотках фотографія зберігається на носій. У даному випадку вміст сіаломуцинів з розрахунку на 0,01 мм² епітелію гастроєзофагеальної зони склав 10,35 % (фіг. 3).

15 Таким чином, при застосуванні наведеного способу кількісної оцінки муцинів можна чітко визначитися з їх відсотком у цитоплазмі епітеліоцитів слизової оболонки стравоходу або шлунка.

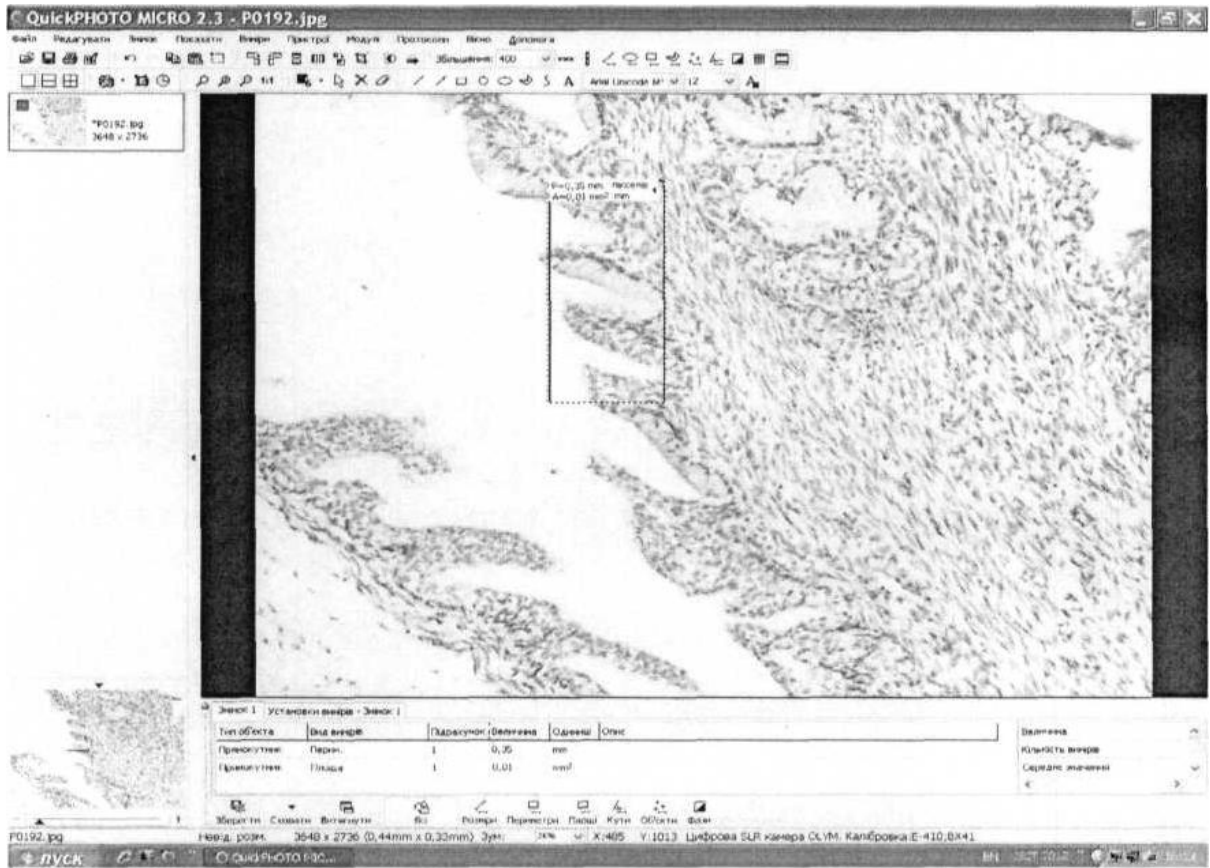
Приклад. Після проведення патологоанатомічного розтину плода А., з тім'яно-куприковою довжиною 145 мм, з метою оцінки функціонального стану епітелію гастроєзофагеальної зони взято по 2 шматочки слизової оболонки нижньої третини стравоходу та 2 шматочки слизової оболонки кардіального відділу шлунка для гістологічного дослідження.

20 Після виконаного гістологічного обстеження (№ 85) з використанням альціанового синього, Шифф-йодної кислоти та альдегід-фуксину за допомогою фазового аналізу комп'ютерної програми "Quick PHOTO MICRO 2.3" в цитоплазмі шлункового епітелію кардіальної частини гастроєзофагеального з'єднання виявлено 17 % сіаломуцинів, 21,9 % нейтральних муцинів та 2,9 % сульфомуцинів.

25

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

30 Спосіб оцінки вмісту муцинів в епітелії слизової оболонки стравоходу та шлунка, що включає гістологічне дослідження слизової оболонки стравоходу або шлунка, що характеризується визначенням стану цитоплазматичного забарвлення епітеліоцитів з урахуванням гістохімічної реакції за допомогою фазового аналізу з використанням комп'ютерної програми Quick PHOTO MICRO 2.3, який **відрізняється** тим, що при позитивному забарвленні цитоплазми епітеліоцитів у синій, пурпурний або малиновий колір визначають відсоток сіало-, сульфомуцинів або нейтральних муцинів в цитоплазмі клітин слизової оболонки стравоходу або шлунка.



Фиг. 1

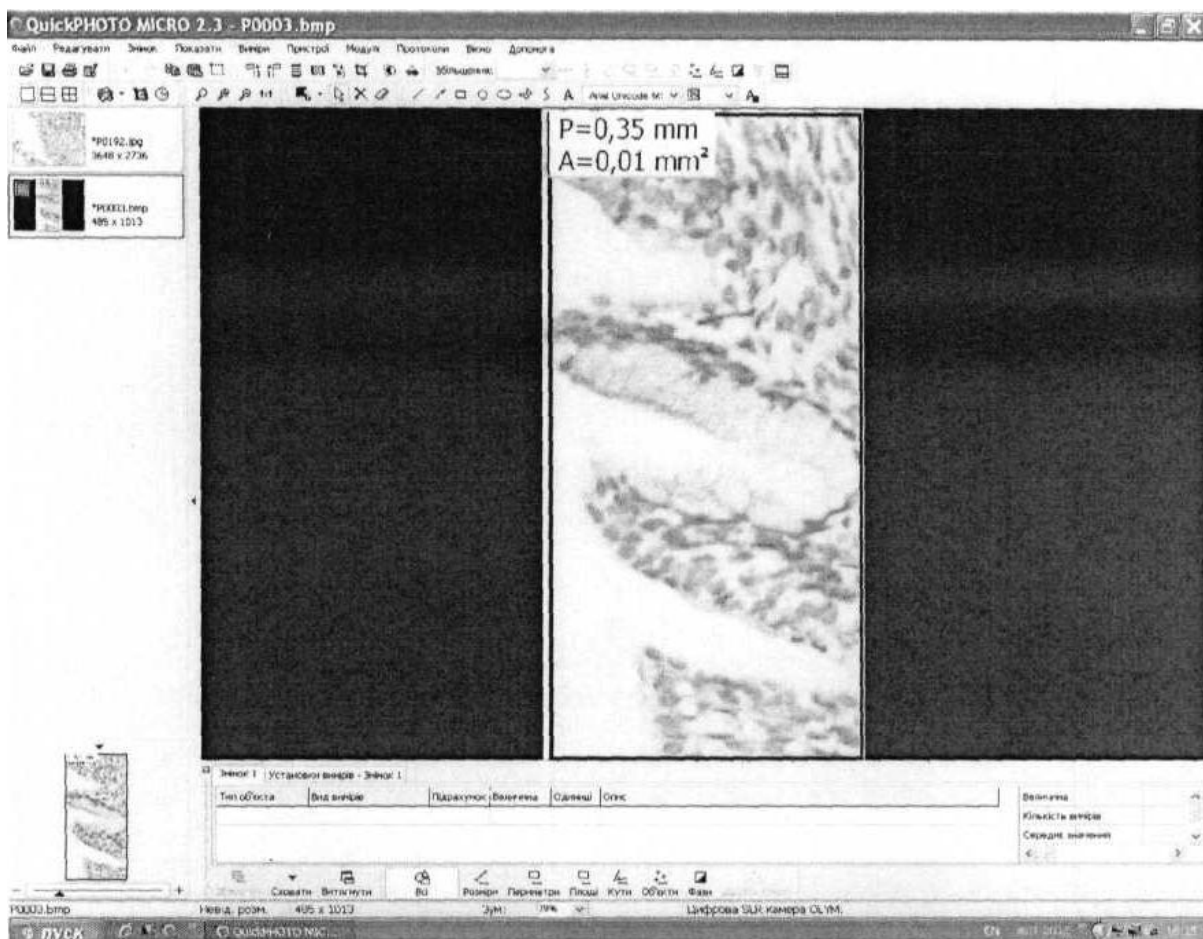
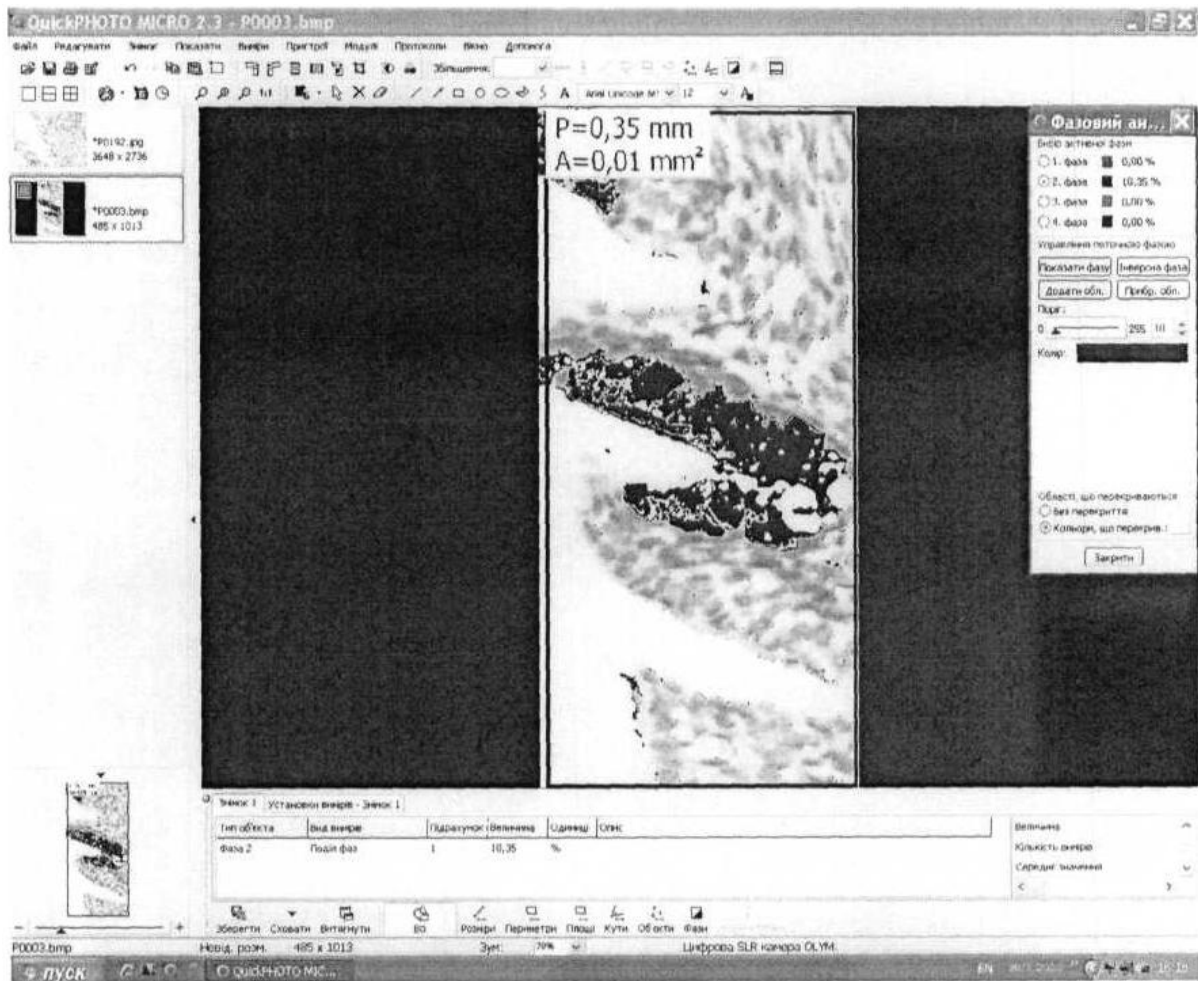


Fig. 2



Фіг. 3

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601