



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **144394** (13) **U**
(51) МПК (2020.01)
G01N 1/28 (2006.01)
G01N 21/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2020 02521	(72) Винахідник(и): Москаленко Роман Андрійович (UA), Коломієць Олена Олегівна (UA), Кузенко Євген Вікторович (UA), Романюк Анатолій Миколайович (UA)
(22) Дата подання заявки: 22.04.2020	
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 26.09.2020	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 25.09.2020, Бюл.№ 18	(73) Володілець (володільці): СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007 (UA)

(54) СПОСІБ ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОКАЛЬЦИФІКАТИВ ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ З ПАРАФІНОВИХ ГІСТОЛОГІЧНИХ БЛОКІВ

(57) Реферат:

Спосіб дослідження мікрокальцифікатів грудної залози з парафінових гістологічних блоків включає відбір біологічного матеріалу шляхом одержання з парафінових блоків гістологічних зрізів, розміщення їх на предметному столику та проведення дослідження за допомогою скануючого мікроскопа з енергодисперсивним рентгенівським спектроскопом. Як біологічний матеріал використовують гістологічний матеріал з підтвердженим вмістом мікрокальцифікатів. Гістологічні зрізи готують товщиною 5-7 мкм, після чого їх розміщують на предметний столик, виготовлений з спектрально чистого вуглецю. Перед проведенням досліджень на скануючому мікроскопі з енергодисперсивним рентгенівським спектроскопом, зрізи витримують 30 хвилин у термостаті при температурі 60 °С та проводять депарафінізацію шляхом двократного покриття зрізів спочатку ксилолом по 5 хв., потім 96 % етиловим спиртом по 5 хв., і 70 % етиловим спиртом по 2 хв. Після цього промивають дистильованою водою впродовж 2 хв.

UA 144394 U

Корисна модель належить до галузі медицини та біології, а саме до патологічної анатомії, молекулярної біології, хірургії, патологічної фізіології, гістології, та може бути використана для аналізу мінеральних сполук за допомогою скануючої електронної та атомної силової мікроскопії.

Відомий спосіб дослідження зразків мікрокальцифікатів грудної залози з парафінових гістологічних блоків для проведення експериментальних та клінічних досліджень, що включає відбір парафінових блоків для дослідження, який відбувається шляхом їх сканування в перпендикулярній та паралельній площинах за допомогою комп'ютерного томографа Nikon Metrology XT H225 CT при напрузі 20 кВ. На основі об'ємної реконструкції комп'ютерних томограм та їх скринінгу відбиралися парафінові блоки з ідентифікованими мікрокальцифікатами пухлин грудної залози біля краю поверхні блока. Наступний етап це підготовка гістологічних зрізів товщиною 5 мкм, які розміщуються на полірованому столику для скануючої електронної мікроскопії з алюмінієвого сплаву діаметром 25 мм для подальшого рентген-дифракційного дослідження, [див. статтю Scott R et al. Relationships between pathology and crystal structure in breast calcifications: an in situ X-ray diffraction study in histological sections. Breast Cancer (2016) 2, 16029; doi:10.1038/npjbcancer.2016.29; published online 14 September 2016].

Даний спосіб є найближчим аналогом по суті та результатам, які досягаються.

Недоліком найближчого аналога є те, що він потребує дорогого обладнання та спеціального програмного забезпечення, а також використання обладнання з матеріалів, які при проведенні досліджень погіршують якість отриманих зображень і точність хімічного аналізу зразків.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалення способу дослідження мікрокальцифікатів грудної залози з парафінових гістологічних блоків, що дозволить проводити дослідження без залучення дорогого складного обладнання і покращити якість отриманих зображень і точність хімічного аналізу зразків.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі дослідження мікрокальцифікатів грудної залози з парафінових гістологічних блоків, який включає відбір біологічного матеріалу шляхом одержання з парафінових блоків гістологічних зрізів, розміщення їх на предметному столику та проведення дослідження за допомогою скануючого мікроскопа з енергодисперсивним рентгенівським спектроскопом, згідно з корисною моделлю, як біологічний матеріал використовують гістологічний матеріал з підтвердженим вмістом мікрокальцифікатів, а гістологічні зрізи готують товщиною 5-7 мкм, після чого їх розміщують на предметний столик, виготовлений з спектрально чистого вуглецю, і, перед проведенням досліджень на скануючому мікроскопі з енергодисперсивним рентгенівським спектроскопом, зрізи витримують 30 хвилин у термостаті при температурі 60 °C та проводять депарафінізацію шляхом двократного покриття зрізів спочатку ксилолом по 5 хв., потім 96 % етиловим спиртом по 5 хв., і 70 % етиловим спиртом по 2 хв., після чого промивають дистильованою водою впродовж 2 хв.

Використання - заявленого способу з усіма суттєвими ознаками, включаючи відмінні, дозволяє отримати зразки тканини грудної залози з мікрокальцифікатами з низьким відсотком втрат та механічного ушкодження, досліджувати мікрокальцифікати грудної залози впродовж всього часу зберігання парафінового блока тканини.

Спосіб здійснюється таким чином.

Мікрокальцифікати у тканини раку грудної залози виявляють при проведенні гістологічного дослідження. З кожного парафінового блока на мікротомі отримують 3-4 зрізи товщиною 5-7 мкм, які переносять на графітові предметні столики. Гістологічні зрізи витримували у термостаті при температурі 60 °C впродовж 30 хв. Потім проводить депарафінізацію підготовлених гістологічних зрізів при кімнатній температурі шляхом поетапної відмивки зрізів тканин від парафіну із використанням ксилолу та етилового спирту. Гістологічний зріз тканини грудної залози на графітовому предметному столику покривають 1-2 мл ксилолу протягом 5 хвилин два рази. Далі проводять двократну промивку зрізів 1-2 мл 96 % етилового спирту впродовж 5 хвилин для кожної промивки, потім промивають 1-2 мл 70 % етилового спирту впродовж 2 хвилин 2 рази. Після цього одноразово промивають 1-2 мл дистильованої води впродовж 2 хвилин. Отримані зразки проаналізують на скануючому електронному мікроскопі і проводять рентген-дифракційний мікроаналіз.

Приклад. Відбір біологічного матеріалу проводили з вибраних парафінових гістологічних блоків тканин пухлин грудної залози людини, в яких після гістологічного дослідження виявлені мікрокальцифікати. Для дослідження відібрали 30 парафінових блоків, які зберігалися в архіві Сумського обласного онкологічного диспансеру впродовж 1-2 років. З кожного парафінового блока на мікротомі підготували 3-4 зрізи товщиною 5-7 мкм, які перенесли на графітові предметні столики. Гістологічні зрізи витримали 30 хв., у термостаті при температурі 60 °C. Потім провели депарафінізацію підготовлених гістологічних зрізів при кімнатній температурі

шляхом поетапної відмивки зрізів тканин від парафіну із використанням ксилолу та етилового спирту. Гістологічний зріз тканини грудної залози на графітовому предметному столику покрили ксилолом (1-2 мл) протягом 5 хвилин два рази. Потім провели двократну промивку зрізів 96 % етиловим спиртом (1-2 мл) впродовж 5 хвилин для кожної промивки, далі 70 % етиловим спиртом (1-2 мл) впродовж 2 хвилин 2 рази, потім покривають порцією дистильованої води (1-2 мл) впродовж 2 хвилин одноразово. Отримані зразки проаналізували на скануючому електронному мікроскопі і провели рентген-дифракційний мікроаналіз.

Запропонований спосіб є детальним та точним, дає можливість проаналізувати банк зразків парафінових блоків тканин з архівів патологоанатомічних відділень і бюро та вибірково досліджувати мікрокальцифікати грудної залози впродовж тривалого часу спостереження, особливо у випадку злоякісних пухлин, парафінові блоки яких зберігаються 25 років.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

15 Спосіб дослідження мікрокальцифікатів грудної залози з парафінових гістологічних блоків, який включає відбір біологічного матеріалу шляхом одержання з парафінових блоків гістологічних зрізів, розміщення їх на предметному столику та проведення дослідження за допомогою скануючого мікроскопа з енергодисперсивним рентгеновським спектроскопом, який **відрізняється** тим, що як біологічний матеріал використовують гістологічний матеріал з
20 підтвердженням вмістом мікрокальцифікатів, а гістологічні зрізи готують товщиною 5-7 мкм, після чого їх розміщують на предметний столик, виготовлений з спектрально чистого вуглецю, і перед проведенням досліджень на скануючому мікроскопі з енергодисперсивним рентгеновським спектроскопом, зрізи витримують 30 хвилин у термостаті при температурі 60 °С та проводять депарафінізацію шляхом двократного покриття зрізів спочатку ксилолом по 5 хв., потім 96 %
25 етиловим спиртом по 5 хв., і 70 % етиловим спиртом по 2 хв., після чого промивають дистильованою водою впродовж 2 хв.

Комп'ютерна верстка М. Мацело

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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