



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **158306** (13) **U**
(51) МПК (2025.01)
A61B 5/00
G01N 33/483 (2006.01)
G01N 21/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2023 05769	(72) Винахідник(и): Савчук Тетяна Василівна (UA), Лещенко Іван В'ячеславович (UA)
(22) Дата подання заявки: 30.11.2023	
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 23.01.2025	(73) Володілець (володільці): НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦА, бул. Шевченка, 13, м. Київ, 01601 (UA)
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 22.01.2025, Бюл.№ 4	

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ІНДЕКСУ ПЛОЩІ ПРОСВІТУ СУДИНИ

(57) Реферат:

Спосіб визначення індексу площі просвіту судини включає фіксування шматочків плаценти у 10 % нейтральному формаліні, проведення по спиртах наростаючої концентрації, заливку у парафін, виготовлення зрізів товщиною 5 мкм. Зрізи фарбують, фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери, на отриманих фото за допомогою SNIPPING TOOL вирізають досліджувану судину. Зафарбовують порожнину та тканини що її оточують, отримані фото завантажують у форматі JPEG на програму ONLINE JPG TOOLS, що визначає відсоток кольорів у фото. Після чого вираховують індекс площі просвіту(ІПП) за формулою: $ІПП = \frac{ПСС}{ПП}$, де ПСС - відсоток площі стінки судини; ПП - відсоток площі просвіту.

UA 158306 U

Корисна модель належить до сфери медицини, зокрема до патологічної анатомії, гістології, може бути використана для кількісного (відсоткового) визначення площ стінки судини (міокарда) та його просвіту (порожнини) з визначенням індексу площі просвіту судини (міокарда).

Судинна система - це комплекс розгалужених трубок різного діаметра, які забезпечують транспорт крові до всіх органів, регуляцію кровопостачання органів, обмін речовин між кров'ю та прилеглими тканинами. Кровоносні судини поділяються на артерії, артеріоли, гемокапіляри, венули, вени, а також артеріоло-венулярні анастомози, вони відрізняються за функцією та якісним та кількісним складом (товщиною стінки, відсотком м'язових та сполучнотканинних елементів) [1].

Захворювання, такі як гіпертонічна хвороба, атеросклероз, COVID-19 та ін., супроводжувалися ремоделюванням судин (потовщенням стінки зі звуженням просвіту до повної його облітерації [2, 3,4].

Патологоанатому необхідно кількісно оцінити наявні зміни для можливості порівняння.

Спосіб оцінки будь-якого органу є оглядовим, що виконується на розтинах [5], який передбачає макроскопічне та мікроскопічне дослідження будови органу. Однак, недоліком способу є те, що оглядовий спосіб є суб'єктивним, тому не дає об'єктивної уяви про стан органу бо не передбачає кількісного вимірювання структур.

Найближчим аналогом є спосіб, який передбачає кількісну оцінку гістологічних структур, який здійснювався наступним чином: орган фіксували у 10 % нейтральному формаліні з подальшим проведенням по спиртах наростаючої концентрації та заливку у парафін. З парафінових блоків на мікротомі виготовляли зрізи товщиною 5 мкм, зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Гістологічні препарати фотографували через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери, на отриманих зображеннях за допомогою програми Quick Photo 2.2 вимірювали площу міокарда, площу порожнини шлуночка, після чого визначали індекс вільної порожнини (ІВП) за формулою:

$ІВП = ПМ / ПП$, де:

ПМ - площа міокарда;

ПП - площа порожнини шлуночка.

Недолік способу полягає в трудомісткості його використання при дослідженні судин, що пов'язано з дрібними розмірами останніх, особливо при вимірюванні звуженого просвіту судини. Також вимірювання неможливо проводити на збережених раніше архівних фотографіях; для вимірювання необхідна наявність мікроскопа, фотоапарата, програм для вимірювання розмірів структур; що викликає труднощі при потребі дистанційної роботи в умовах повномасштабного вторгнення.

В основу корисної моделі поставлена задача визначення індексу площі просвіту судини на архівних фотографіях,

Поставлена задача вирішується тим, що в способі визначення індексу площі просвіту судини, що включає фіксування шматочків плаценти у 10 % нейтральному формаліні, проведення по спиртах наростаючої концентрації, заливку у парафін, виготовлення зрізів товщиною 5 мкм, згідно з корисною моделлю, зрізи фарбують, фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери, на отриманих фото за допомогою SNIPPING TOOL вирізають досліджувану судину, зафарбовують порожнину та тканини що її оточують, отримані фото завантажують у форматі JPEG на програму ONLINE JPG TOOLS, що визначає відсоток кольорів у фото, після чого вираховують індекс площі просвіту (ІПП) за формулою:

$ІПП = ПСС / ПП$, де:

ПСС - відсоток площі стінки судини; ПП - відсоток площі просвіту.

На основі визначення відсотка площ структур, що різняться за кольором фарбування. За нашим способом шматочки тканин також фіксують у 10 % нейтральному формаліні. Проводять по спиртах наростаючої концентрації та заливають у парафін за загально прийнятою методикою. З парафінових блоків на мікротомі Leica SM 2000 R виготовляють зрізи товщиною 5 мкм. Але, спосіб відрізняється тим, що зрізи фарбують гістологічним барвником, який специфічний саме для досліджуваної структури методом MSB в модифікації Зербіно-Лукасевич (ПЧБ - помаранчевий-червоний-блакитний) [7].

Для фарбування за методом MSB в модифікації Зербіно-Лукасевич зрізи занурювали на 5 хвилин в Гемалаун Майера, промивали під проточною водою та залишали в ній до набуття препаратами синього кольору. Фарбували зрізи в розчині Марциуса помаранчевого Ж протягом 2 хвилин з подальшим промиванням водою. Далі занурити зрізи на 7 хвилин в 1 % розчин кислотного-червоного 2 С в 2,5 % водному розчині оцтової кислоти.

Обробити 1 % водним розчином фосфорвольфрамової кислоти протягом 5 хвилин з наступним промиванням водою. Перенести препарати на 1 хвилину в 0,5 % розчин водного

блакитного в 1 % водному розчині оцтової кислоти і промити водою. Зневодити препарати в спиртах, освітлити в ксилолі і заключити в бальзам [8].

Мікроскопію проводять за допомогою мікроскопа Olympus BX41 (об'єтив $\times 20$, окуляр $\times 10$). Гістологічні препарати фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери Olympus SP-500 UZ. На отриманих фото за допомогою SNIPPING TOOL вирізають досліджувану судину, зафарбовують порожнину та тканини навколо судини у кольори, які відрізняються від кольорів гістологічного забарвлення структур на фото (жовтий, білий). Отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на ONLINE JPG TOOLS (onlinejpgtools.com/find-dominant-jpg-colors). Зазначають кількість кольорів - 4-5, відсоток яких потрібно вирахувати. Відсоток кольору у фото є відсотком досліджуваної структури.

Завдяки застосуванню нових дій способу та умов виконання дій забезпечується повне уявлення про кількісний відсоток площі стінки судини та порожнини, що відрізняються за кольором. Після чого визначають індекс площі просвіту (ШП) за формулою:

$ІПП = PP / ПСС$, де:

ПСС - відсоток площі стінки судини;

ПП - відсоток площі просвіту.

Спосіб здійснюється наступним чином:

Приклад 1. Спосіб визначення індексу площі просвіту судини у плаценті при COVID-19. Шматочки плаценти фіксують у 10 % нейтральному формаліні. Проводять по спиртах наростаючої концентрації та заливають у парафін за загально прийнятою методикою. З парафінових блоків на мікротомі Leica SM 2000 R виготовляють зрізи товщиною 5 мкм. Зрізи фарбують методом MSB в модифікації Зербіно-Лукаевич (ПЧБ). Мікроскопію проводять за допомогою мікроскопа Olympus BX41 (об'єтив $\times 20$, окуляр $\times 10$). Гістологічні препарати фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери Olympus SP-500 UZ. На отриманих фото за допомогою SNIPPING TOOL вирізають досліджувану судину та зафарбовують порожнину у жовтий колір; тканини навколо - у білий. Отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на ONLINE JPG TOOLS (onlinejpgtools.com/find-dominant-jpg-colors). Зазначають кількість кольорів - 4-5. Програма вираховує відсоток зазначеного нами кольору у фото.

Фіг. 1. Фото у форматі JPEG. Мікроскопічний зріз плаценти доношеної живонародженої дитини при COVID-19 у матері на 36 тижні гестації. Фарбування MSB в модифікації Зербіно-Лукаевич (ПЧБ), $\times 200$. Артеріола з потовщеною стінкою з наявним звуженням просвітом.

Фіг. 2. Скріншот SNIPPING TOOL. Порожнина зафарбована у колір, відмінний від кольору гістологічного забарвлення структур на фото (жовтий), з застосуванням кнопки (червона стрілка).

Фіг. 3. Скріншот SNIPPING TOOL. Оточені тканини навколо фарбують в білий колір з застосуванням кнопки (червона стрілка).

Фіг. 4. Скріншот ONLINE JPG TOOLS: зліва - завантажене фото, справа - кольори, за якими визначаємо відсоток. Відсоток площі порожнини склав 2,71 %. Сума відсотків відтінків рожевих кольорів є відсотком стінки судини - $43,12 + 21,99 = 65,11$ %.

Вираховуємо відсоток площі просвіту та стінки: $65,11 + 2,71 = 67,82$ (%)

Далі за пропорцією вираховуємо відсоток площі стінки судини:

$65,11 \times 100 / 67,82 = 96$ %

Площа просвіту: $100 - 96 = 4$ (%)

$ІПП = PP / ПСС$, де:

ПСС - відсоток площі стінки судини;

ПП - відсоток площі просвіту.

$ІПП = 4 / 96 = 0,04$ (од).

Фіг. 5. Фото у форматі JPEG. Мікроскопічний зріз плаценти при антенатальній загибелі плода на 35 тижні гестації при COVID-19 у матері на 23-24 тижнях. Фарбування MSB в модифікації Зербіно-Лукаевич (ПЧБ), $\times 200$. Артеріола зі звуженням просвітом.

Фіг. 6. Скріншот SNIPPING TOOL. Порожнина зафарбована у колір, відмінний від кольору забарвлення структур фото (жовтий). Тканини навколо судини розфарбують в білий колір з застосуванням кнопок (червоні стрілки).

Фіг. 7. Скріншот ONLINE JPG TOOLS: зліва - завантажене фото, справа - кольори, за якими визначаємо відсоток. Відсоток площі порожнини на фото (жовтий колір) склав 0,8 %. Сума відсотків відтінків рожевих кольорів є відсотком стінки судини - $27,08 + 26,34 + 16,5 = 69,92$ %.

Вираховуємо відсоток площі просвіту та стінки: $69,92 + 0,8 = 70,72$ (%)

Далі за пропорцією вираховуємо відсоток площі стінки судини: $69,92 \times 100 / 70,72 = 98,8$ %

Площа просвіту: $100 - 98,8 = 1,01$ (%)

ІПП=ПП/ПСС, де:

ПСС - відсоток площі стінки судини;

ПП - відсоток площі просвіту.

ІПП= 1,01/98,8=0,01 (од)

5 Зменшення індексу вказує на зменшення просвіту судини.

Джерела інформації:

1. Гістологія людини. Луцик О.Д., Іванова А.Й., Кабак К.С., Чайковський Ю.Б. Київ. "Книга плюс", 2003.-592с.

10 2. Abaturov AE, Agafonova EA, Krivusha EL, Nikulina AA. Pathogenesis of COVID-19. Child Health. 2020; 15(2): 133-44. doi: 10.22141/2224-0551.15.2.2020.200598.

3. Sergiy G Gychka, Tinatin I Brelidze, Iurii L Kuchyn, Tetyana V Savchuk, Sofia I Nikolaienko, Volodymyr M Zhezhera, Ihor I Chermak. Placental vascular remodeling in pregnant women with COVID-19. Plos one, - 2022, (7), e0268591. doi: 10.1371/journal.pone.0268591.

15 4. Савчук Т. В. Патоморфологічні зміни плаценти при антенатальній асфіксії плода, асоційовані з коронавірусною хворобою (COVID-19) у вагітних. Reproductive health of woman. №3 (66)/2023, с.44-51 DOI:https://doi.org/10.30841/2708-8731.3.2023.283322

5. Пальцев М.А., Коваленко В.Л., Аничков Н.М. Руководство по биопсийно-секционному курсу. // Учебное пособие, 2002.

20 6. Савчук Т.В., Трембовецька О.М., Захарова В.П., Лещенко І.В., Руденко О.В., Приходько Т.О. Спосіб визначення індексу вільної порожнини міокарда. Патент на винахід 107049 Україна, МПК (2014.01) G01N 21/00, G01N 33/483 (2006.01). Державна установа "Національний інститут серцево-судинної хірургії ім. М.М. Амосова" АМН України, №а201309661; заявл. 02.08.2013, опубл. 10.11.2014; Бюл.21.

25 7. Захарова В.П.(UA); Руденко К.В. (UA); Лазоришинець В.В. (UA); Левчишина О.В., (UA); Руденко О.В. (UA); Патент на корисну модель 48119 Україна, МПК (2009) A61B 17/00. Спосіб діагностики морфофункціонального стану кардіоміоцитів на основі вивчення біопатів та некропатів міокарду, заявник і патентоутримувач Державна установа "Національний інститут серцево-судинної хірургії ім. М.М. Амосова Національної академії медичних наук України" (UA). - №и200908910; заявл. 26.08.2009, опубл. 10.03.2009. Бюл. №5).

30 8. Савчук Т.В., Гльоза М.Ю. Спосіб оцінки патоморфологічного стану фіброеластозу ендокарда. Патент на корисну модель 118108 Україна, МПК(2017.01) A61B 5/00 G01N 33/483(2006.01) 61/B 1/04 (2006.01) заявник і патентоутримувач Державна установа "Національний інститут серцево-судинної хірургії ім. М.М. Амосова Національної академії медичних наук України" (UA). -№и201700466; заявл. 18.01.2017, опубл. 25.07.2017. Бюл. №14.

35

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб визначення індексу площі просвіту судини, що включає фіксування шматочків плаценти у 10 % нейтральному формаліні, проведення по спиртах наростаючої концентрації, заливку у парафін, виготовлення зрізів товщиною 5 мкм, який **відрізняється** тим, що зрізи фарбують, фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери, на отриманих фото за допомогою SNIPPING TOOL вирізають досліджувану судину, зафарбовують порожнину та тканини, що її оточують, отримані фото завантажують у форматі JPEG на програму ONLINE JPG TOOLS, що визначає відсоток кольорів у фото, після чого вираховують індекс площі просвіту (ІПП) за формулою:

45 ІПП=ПСС/ПП,

де:

ПСС - відсоток площі стінки судини;

ПП - відсоток площі просвіту.

50 2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що зрізи фарбують методом MSB в модифікації Зербіно-Лукаевич (ПЧБ), специфічним для досліджуваної структури.

3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що додатково зафарбовують просвіт судини та оточуючі тканини у кольори, відмінні від кольору забарвлення структур фото.

55 4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що відсоток досліджуваної структури визначають у ONLINE JPG TOOLS за кольором фарбування.

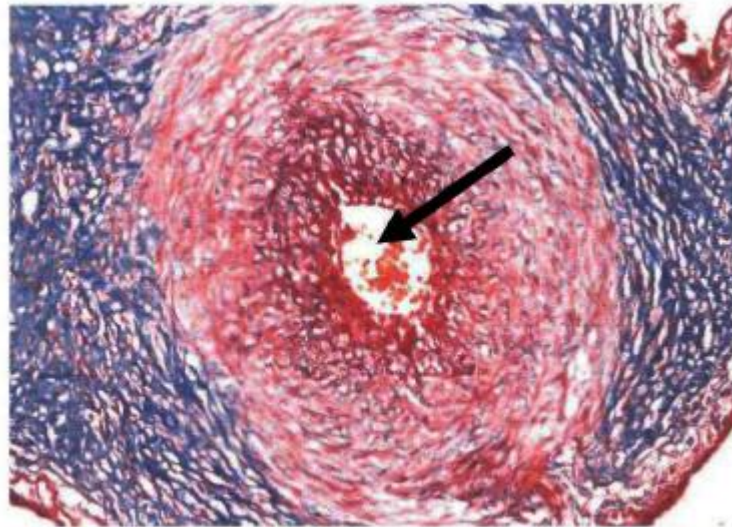


Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4

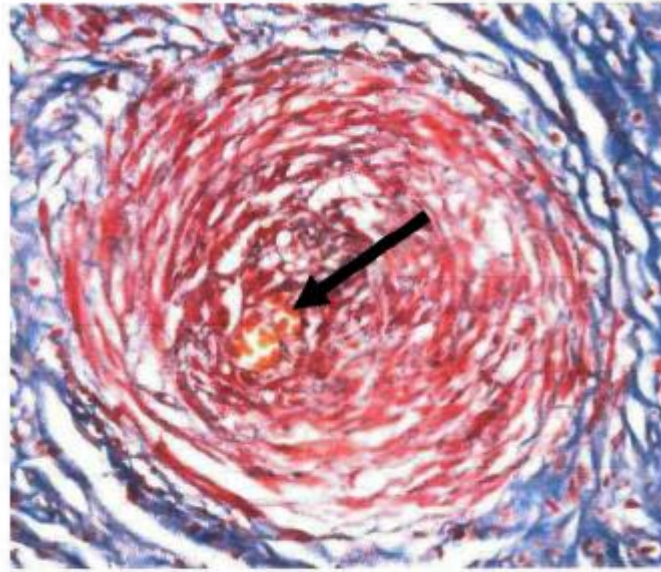
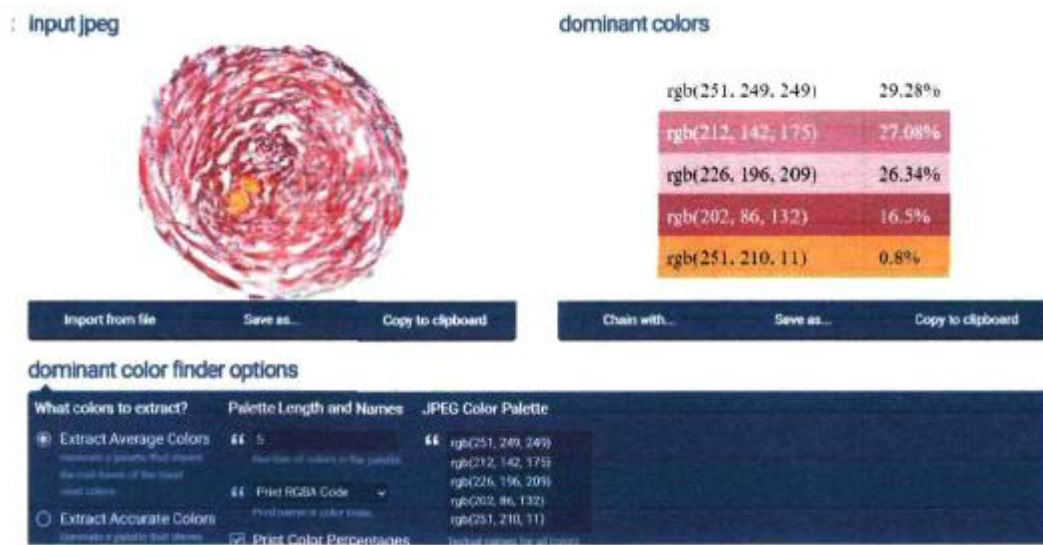


Fig. 5



Fig. 6



Фір. 7