



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **157923** (13) **U**
(51) МПК (2024.01)
G16H 10/00
G01N 33/48 (2006.01)

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

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2024 00917	(72) Винахідник(и):	Савчук Тетяна Василівна (UA), Лещенко Іван В'ячеславович (UA)
(22) Дата подання заявки:	22.02.2024	(73) Володілець (володільці):	НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, бул. Тараса Шевченка, 13, м. Київ, 01601 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності:	19.12.2024		
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію:	18.12.2024, Бюл.№ 51		

(54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЗАТРИМКИ ДОЗРІВАННЯ ПЛАЦЕНТИ

(57) Реферат:

Спосіб кількісного визначення затримки дозрівання плаценти включає фіксування у 10 % нейтральному формаліні, проведення по спиртах наростаючої концентрації, заливку у парафін, виготовлення зрізів, які фарбують гематоксиліном та еозином; фотографування гістологічних препаратів через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери. При цьому на отриманих фото за допомогою Microsoft Paint стовбурові ворсини зафарбовують у кольори, відмінні від кольорів забарвлення структур на фото, отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на ONLINE JPG TOOLS. Програма визначає відсоток домінантних кольорів у фото, де відсоток кольору на фото і є відсотком стовбурових ворсин.

UA 157923 U

Корисна модель належить до сфери медицини, зокрема до патологічної анатомії, гістології, та може бути використана для кількісного визначення досліджуваних гістологічних структур у будь-якому органі та насамперед у плаценті для визначення ступеня її зрілості (затримки дозрівання).

Плацента (хоріон) є тимчасовим органом, морфологія якого змінюється протягом вагітності. Котиледон є структурною і функціональною одиницею доношеної плаценти, він вміщує розгалуження однієї стовбурової ворсини [1]. Ріст хоріона відбувається з прогресуванням вагітності, причому різним її термінам притаманна наявність відповідних ворсин. Спочатку формуються незрілі проміжні (ембріональні) ворсини, які є джерелом утворення стовбурових ворсин, далі проходить формування зрілих проміжних ворсин (напівстовбурових) і надалі поява термінальних ворсин [2]. Достатня кількість останніх спостерігається при доношеній вагітності та забезпечує задовільний стан плода.

Дослідження авторів свідчать про порушення формування хоріона при ураженні вірусом SARS-CoV-2 у другому триместрі вагітності стовбурових та зрілих проміжних ворсин [3].

Структурно це проявляється затримкою дозрівання хоріона або дисоційованим його дозріванням, що є причиною хронічної плацентарної недостатності та антенатальної загибелі плода. Наявність патоморфологічних змін залежало від терміну вагітності, в якому жінка перехворіла на COVID-19 [3].

Кількісне визначення структурних змін є основою для діагностики порушень дозрівання плаценти.

Спосіб оцінки патоморфологічного стану будь-якого органа є оглядовий [4] та включає макроскопічне та мікроскопічне дослідження будови органа.

Однак, недоліком способу є те, що оглядовий спосіб є суб'єктивним, тому не дає об'єктивної уяви про стан органа, бо не передбачає кількісного вимірювання структур.

Найближчим аналогом є спосіб кількісної оцінки гістологічних структур (визначення площі гістологічної структури на прикладі міокарда), який здійснювався наступним чином: шматочки плаценти фіксували у 10 % нейтральному формаліні з подальшим проведенням по спиртах наростаючої концентрації та заливали 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 досліджуваних гістологічних структур з подальшим обчисленням їх відсотка у гістологічному зрізі. Цей спосіб доцільно використовувати при вимірюванні невеликих, правильної форми, розташованих локально структур [5].

Недолік найближчого аналога полягає в трудомісткості його використання при дослідженні ворсин хоріона, що пов'язано з химерною формою останніх. Також, суттєвим недоліком є неможливість використання його при вимірюванні площі на архівних фото.

В основу корисної моделі поставлено задачу кількісного визначення відсотка площ структур, що різняться за кольором фарбування. За цим способом 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 гістологічним барвником.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі кількісного визначення затримки дозрівання плаценти, який включає фіксування у 10 % нейтральному формаліні, проведення по спиртах наростаючої концентрації, заливку у парафін, виготовлення зрізів, які фарбують гематоксиліном та еозином; фотографування гістологічних препаратів через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери, згідно з корисною моделлю, на отриманих фото за допомогою Microsoft Paint стовбурові ворсини зафарбовують у кольори, відмінні від кольорів забарвлення структур на фото, отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на ONLINE JPG TOOLS, і програма визначає відсоток домінантних кольорів у фото, де відсоток кольору на фото і є відсотком стовбурових ворсин.

Мікроскопію проводять за допомогою мікроскопа Olympus BX41 (об'єктив $\times 4$, окуляр $\times 10$). Гістологічні препарати фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери Olympus SP-500 UZ. На отриманому фото за допомогою Microsoft Paint зафарбовують досліджувані гістологічні структури у колір, який відрізняється від кольору гістологічного забарвлення структур. Отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на ONLINE JPG TOOLS (onlinejpgtools.com/find-dominant-jpg-colors). Зазначають кількість кольорів, відсоток яких потрібно вирахувати. Відсоток кольору у фото і є відсотком досліджуваних структур.

Приклад 1. Спосіб кількісного визначення затримки дозрівання плаценти. Шматочки плаценти фіксують у 10 % нейтральному формаліні. Проводять по спиртах наростаючої

концентрації та заливають у парафін за загально прийнятою методикою. З парафінових блоків на мікромомі Leica SM 2000 R виготовляють зрізи товщиною 5 мкм. Зрізи фарбують гематоксиліном та еозином. Мікроскопію проводять за допомогою мікроскопа Olympus BX41 (об'єктив $\times 4$, окуляр $\times 10$). Гістологічні препарати фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери Olympus SP-500 UZ. На отриманих фото за допомогою Microsoft Paint зафарбовують стовбурові ворсини хоріона у зелений колір. Отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на ONLINE JPG TOOLS (onlinejpgtools.com/fmd-dominant-jpg-colors). Зазначають кількість кольорів - 5. Програма вираховує відсоток зазначених нами кольорів на фото.

Фіг. 1 - фото у форматі JPEG. Мікроскопічний зріз плаценти доношеної живонародженої дитини при COVID-19 у матері на 19-20 тижнях гестації (період формування зрілих проміжних ворсин хоріона). Фарбування гематоксиліном та еозином, $\times 40$. Велика кількість фіброзованих стовбурових ворсин, практична відсутність зрілих проміжних ворсин, гіпоплазія термінальних ворсин.

Фіг. 2 - фото у форматі JPEG. За допомогою Microsoft Paint стовбурові ворсини на фото зафарбовують у колір, що відрізняється від кольорів гістологічного забарвлення структур на фото.

Фіг. 3 - скріншот ONLINE JPG TOOLS: зліва - завантажене фото, справа - кольори, за якими визначаємо відсоток.

Фіг. 4 - фото у форматі JPEG. Мікроскопічний зріз плаценти доношеної живонародженої дитини при COVID-19 у матері на 28-29 тижнях гестації (ураження COVID-19 зрілих проміжних ворсин хоріона). Фарбування гематоксиліном та еозином, $\times 40$. Переважають зрілі проміжні ворсини, гіпоплазія термінальних ворсин плаценти.

Фіг. 5 - фото у форматі JPEG. За допомогою Microsoft Paint напівстовбурові ворсини на фото зафарбовують у колір, що відрізняється від кольорів гістологічного забарвлення структур на фото.

Фіг. 6 - скріншот ONLINE JPG TOOLS: зліва - завантажене фото, справа - кольори, за якими визначаємо відсоток.

Фіг. 7 - фото у форматі JPEG. Мікроскопічний зріз плаценти доношеної живонародженої дитини при COVID-19 у матері на 38-39 тижнях гестації (період формування термінальних ворсин хоріона). Фарбування гематоксиліном та еозином, $\times 40$. Нормальна кількість проміжних ворсин, достатня кількість термінальних ворсин.

Фіг. 8 - фото у форматі JPEG. За допомогою Microsoft Paint напівстовбурові ворсини на фото зафарбовують у колір, що відрізняється від кольорів гістологічного забарвлення структур на фото.

Фіг. 9 - скріншот ONLINE JPG TOOLS: зліва - завантажене фото, справа - кольори, за якими визначаємо відсоток.

Кількісні характеристики (відсоток досліджуваних структур у фото) плацент COVID-19 у вагітної у різних термінах гестації представлені у таблиці.

Таблиця

Кількісні характеристики плацент при COVID-19 у вагітної у різних термінах гестації

Кількісні характеристики (%)	COVID-19 у вагітної (тижні)		
	19-20 (n=26)	28-29 (n=26)	38-39 (n=26)
Стовбурові, напівстовбурові ворсини	42,3 [37; 47] *	24,2 [23; 26]*	7,7 [7; 9]
Термінальні ворсини	31,73 [28; 34] *	33 [29; 36]*	63,71 [58; 68]
Міжворсинчастий простір	23,06 [19; 27]	41,67 [36; 46] *	27,91 [24; 30]

Примітка: (Mann-Whitney U Test) - статистична значущість відмінностей між групами; * $p < 0,001$

У плацентах при COVID-19 у вагітної на 19-20 та 28-29 тижнях гестації відсоток стовбурових та напівстовбурових ворсин у одному полі зору склав 42,3 [37; 47] та 24,2 [23; 26], відповідно; $p_{1,2} = 0,0001$. Причому у плацентах при COVID-19 у вагітної на 19-20 переважали стовбурові ворсини при практичній відсутності зрілих проміжних ворсин; на 28-29 тижнях гестації були наявні зрілі проміжні ворсини та зменшена кількість термінальних ворсин. У плацентах доношених дітей з COVID-19 у матері на 38-39 тижнях вагітності відсоток стовбурових та напівстовбурових ворсин склав 7,7 [7; 9] та достовірно не відрізнявся від плацент групи порівняння. У контрольній групі виявлялася велика кількість термінальних ворсин з

поодинокими проміжними ворсинами. Відсоток термінальних ворсин при COVID-19 у вагітної на 19-20 тижнях склав 31,73 [28; 34] проти 63,71 [58; 68] (COVID-19 на 38-39 тижнях), $p < 0,001$.

Завдяки застосуванню нових дій способу, умов виконання дій забезпечується повне уявлення про кількісну структуру ворсинчастого хоріона: відсоток стовбурових, напівстовбурових, термінальних ворсин та міжворсинчастого простору. Збільшення відсотку стовбурових, напівстовбурових ворсин та зменшення термінальних свідчить про затримку дозрівання плаценти.

Джерела інформації:

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

2. Turowski Gitta, Vogel Martin/ Re-view and view on maturation disorders in the placenta/ APMIS (Journal of Pathology, Microbiology and Immunology) 126: 602-612. <https://doi.org/10.1111/apm.12858>

3. 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

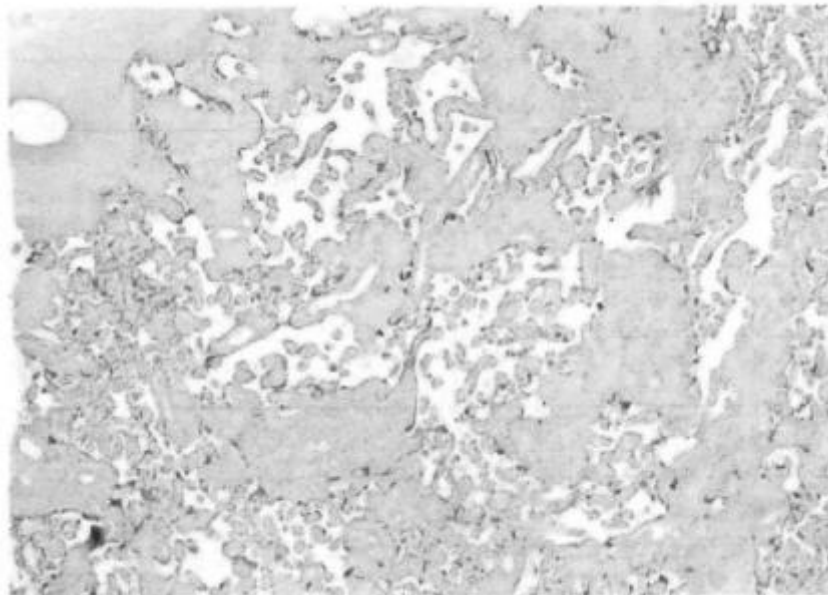
DOI: <https://doi.org/10.30841/2708-8731.3.2023.283322>

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

5. 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.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб кількісного визначення затримки дозрівання плаценти, який включає фіксування у 10 % нейтральному формаліні, проведення по спиртах наростаючої концентрації, заливку у парафін, виготовлення зрізів, які фарбують гематоксиліном та еозином; фотографування гістологічних препаратів через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери, який **відрізняється** тим, що на отриманих фото за допомогою Microsoft Paint стовбурові ворсини зафарбовують у кольори, відмінні від кольорів забарвлення структур на фото, отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на ONLINE JPG TOOLS, і програма визначає відсоток домінантних кольорів у фото, де відсоток кольору на фото і є відсотком стовбурових ворсин.



Фіг. 1

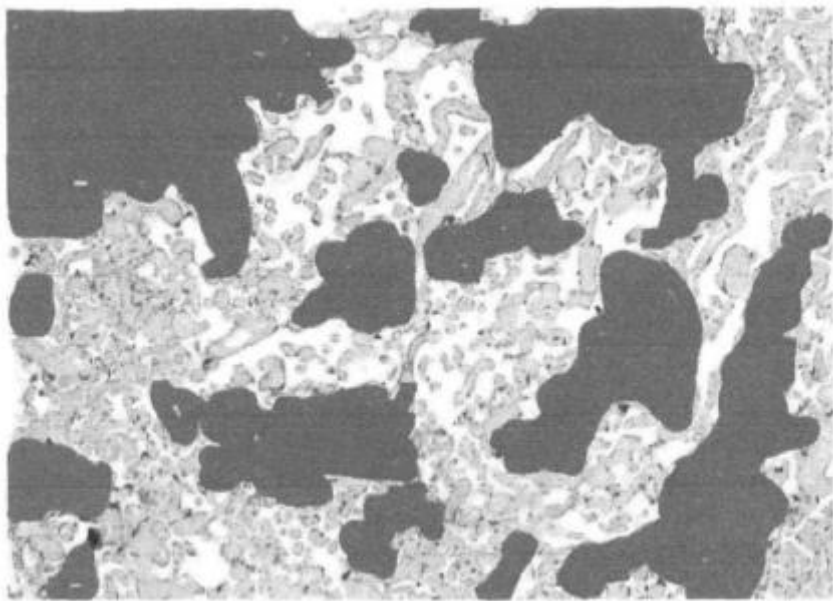
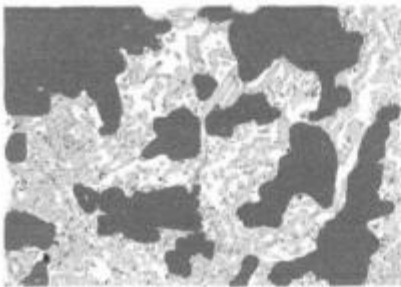


Fig. 2

input jpeg



dominant colors

rgb(54, 115, 71)	45.22%
rgb(252, 242, 250)	23.06%
rgb(239, 191, 230)	18.35%
rgb(204, 147, 197)	9.25%
rgb(146, 88, 148)	4.13%

Fig. 3

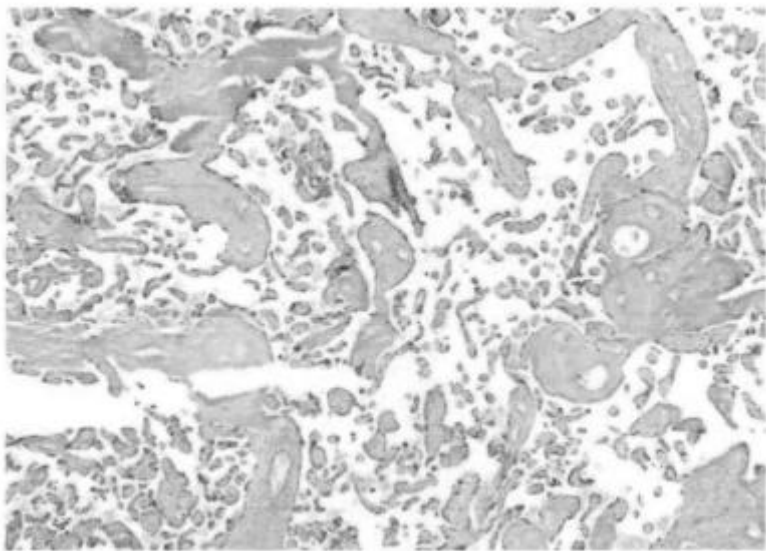


Fig. 4

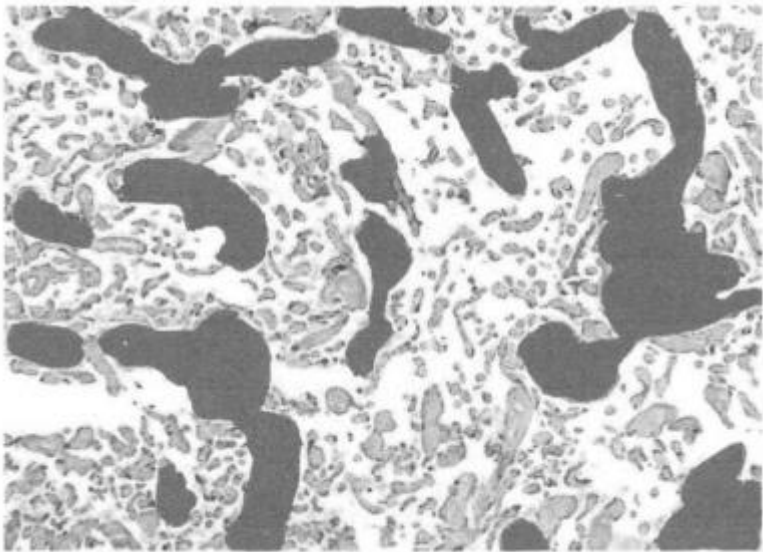


Fig. 5



Fig. 6

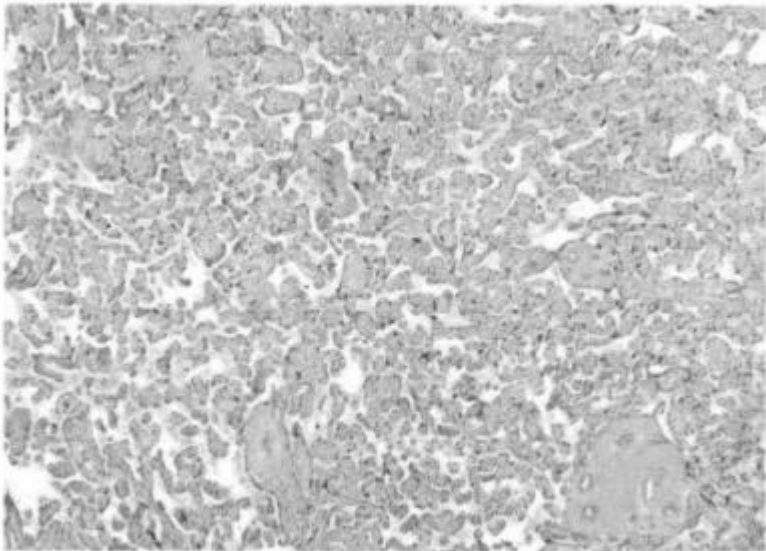


Fig. 7

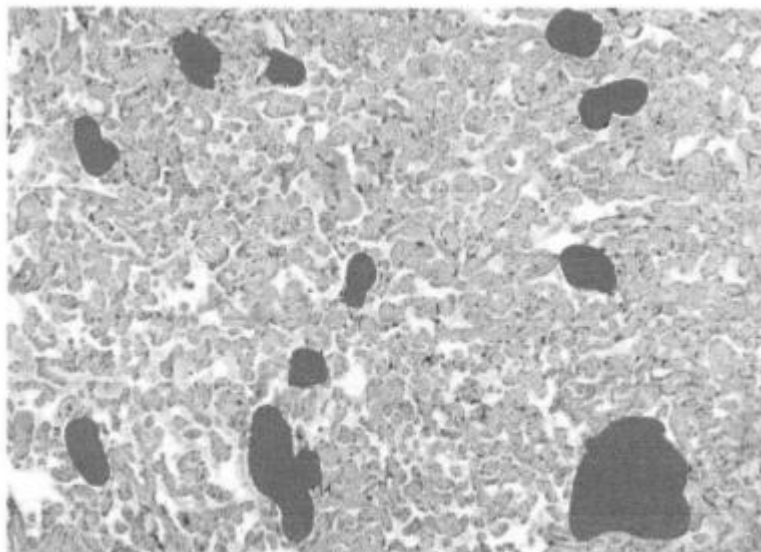
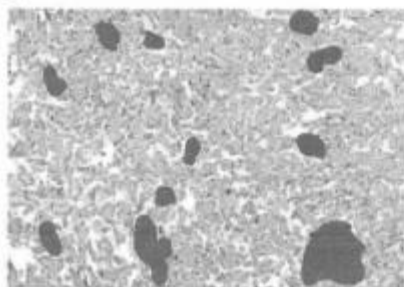


Fig. 8

input jpeg



dominant colors

rgb(236, 173, 213)	30.81%
rgb(250, 227, 243)	27.91%
rgb(210, 129, 180)	23.33%
rgb(164, 74, 136)	9.57%
rgb(55, 113, 72)	8.38%

Fig. 9