



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **160305** (13) **U**
(51) МПК (2025.01)
A61B 5/00
G01N 33/483 (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 05494	(72) Винахідник(и): Савчук Тетяна Василівна (UA), Лещенко Іван В'ячеславович (UA)
(22) Дата подання заявки: 20.11.2024	(73) Володілець (володільці): НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, бульв. Шевченка, 13, м. Київ, 01601 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 28.08.2025	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 27.08.2025, Бюл.№ 35	

(54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ДОСЛІДЖУВАНИХ ГІСТОЛОГІЧНИХ СТРУКТУР

(57) Реферат:

Спосіб кількісного визначення досліджуваних гістологічних структур, за яким шматочки плаценти фіксують у 10 % нейтральному формаліні, проводять через серію спиртів наростаючої концентрації, заливають у парафін, виготовляють зрізи тканини товщиною 5 мкм, фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери. Зрізи фарбують гістологічним барвником за методикою Зербіно-Лукаsevич. Отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на онлайн-сервіс, за допомогою якого визначають колір пікселя у фото та його відсоток.

UA 160305 U

UA 160305 U

Корисна модель належить до медицини, зокрема до патологічної анатомії, і призначена покращити кількісне визначення гістологічних структур у будь-якому органі, а також у плаценті.

Спосіб оцінки будь-якого органу є оглядовий, що виконується на розтинах [1], 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.

Найбільш близький спосіб, який передбачає кількісну оцінку гістологічних структур, здійснювався наступним чином: орган фіксували у 10 % нейтральному формаліні з подальшим проведенням по спиртам 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 визначали площу досліджуваних гістологічних структур з подальшим обчисленням їх відсотка у гістологічному зрізі. Цей спосіб доцільно використовувати при вимірюванні структур серця [2, 3] або локалізованих патологічних вогнищ у будь-якому органі.

Недолік способу полягає в тому, що обведення досліджуваної гістологічної структури, площу якої необхідно визначити у програмі Quick Photo 2.2, проводили вручну, що давало велику похибку, також недоліком є трудомісткість його використання при дослідженні плаценти, що пов'язано з особливостями гістологічної будови останньої, а саме: різний розмір ворсин, їх химерна неправильна форма, чисельність, віддалене розташування однієї від іншої, наявність дрібних структур (клітини, фібрин), які мають хаотичне розташування, площу яких неможливо виміряти використовуючи цей спосіб.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення кількісної оцінки структур плаценти, що різняться за кольором при їх фарбуванні, шляхом якісної попиксельної детальної візуалізації досліджуваних структур.

Поставлена задача вирішена тим, що шматочки плаценти фіксують у 10 % нейтральному формаліні, проводять через серію спиртів наростаючої концентрації, заливають у парафін, виготовляють зрізи тканини товщиною 5 мкм, фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери, згідно корисної моделі, зрізи фарбують за методикою Зербіно-Лукасевич, отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на сервіс ONLINE JPG TOOLS, за допомогою якого визначають колір пікселя у фото та його відсоток згідно з корисною моделлю.

Перелік фігур та креслень:

Фіг. 1. Фото у форматі JPEG. Мікроскопічний зріз плаценти доношеної живонародженої дитини при COVID-19 у матері на 37 тижні гестації. Фарбування за методикою Зербіно-Лукасевич, $\times 400$ Структури, відсоток яких визначають: 1 - міжворсинчастий простір, 2 - термінальні ворсини.

Фіг. 2. Скріншот ONLINE JPG TOOLS: зліва - завантажене фото, справа - кольори, за якими визначають відсоток. 3 - відсоток міжворсинчастого простору склав 19,79 %. 4 - відсоток термінальних ворсин ($100\% - 19,79\% = 80,21\%$).

Фіг. 3. Фото у форматі JPEG. Мікроскопічний зріз плаценти при антенатальній загибелі плода на 34 тижні гестації при COVID-19 у матері на 20-21 тижнях. Фарбування за методика Зербіно-Лукасевич, $\times 400$. Структури, відсоток яких визначають: 1 - міжворсинчастий простір, 2 - термінальні ворсини.

Фіг. 4. Скріншот ONLINE JPG TOOLS: зліва - завантажене фото, справа - кольори, за якими визначають відсотки 3 - відсоток міжворсинчастого простору - 58,91 %. 4 - відсоток термінальних ворсин ($100\% - 58,91\% = 41,09\%$). Зменшення відсотка термінальних ворсин свідчить про зменшення їх кількості

- затримку дозрівання плаценти (гіпоплазія термінальних ворсин), що пов'язано з COVID-19 у матері у другому триместрі вагітності, а саме з ураженням стовбурових та напівстовбурових ворсин, які є джерелом росту для термінальних ворсин.

Фіг. 5. Фото у форматі JPEG. Мікроскопічний зріз плаценти доношеної живонародженої дитини при COVID-19 у матері на 38 тижні гестації. Фарбування за методикою Зербіно-Лукасевич, $\times 400$. Структура, відсоток якої визначають: "молодий" фібрин (стрілки).

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

Фіг. 7. Фото у форматі JPEG. Мікроскопічний зріз, плаценти при COVID-19 у матері на 27-28 тижнях та пологах на 32 тижні. Фарбування за методикою Зербіно-Лукасевич, $\times 400$. Структура, відсоток якої визначають: "молодий" фібрин (стрілка).

Фіг. 8. Скріншот ONLINE JPG TOOLS: зліва - завантажене фото, справа - кольори, за якими визначаємо відсоток. Визначення відсотка "молодого" фібрину у міжворсинчастому просторі - 6,42 % (стрілка).

Шматочки плаценти фіксують у 10 % нейтральному формаліні. Проводять через серію спиртів наростаючої концентрації, 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, специфічним саме для досліджуваної структури, за методикою Зербіно-Лукасевич - що використовується зазвичай для визначення ступеня зрілості фібрину, також для виявлення сполучної, м'язової тканин [4].

Для фарбування за методикою Зербіно-Лукасевич зрізи занурюють на 5 хвилин в Гемалаун Майера, промивають під проточною водою та залишають в ній до набуття препаратами синього кольору. Фарбують зрізи в розчині Марциуса жовтого або помаранчевого Ж протягом двох хвилин з подальшим промиванням водою. Далі занурюють зрізи на сім хвилин в 1 % розчин кислотного червоного 2 с в 2,5 %) водному розчині оцтової кислоти. Обробляють 1 % водним розчином фосфорвольфрамової кислоти протягом п'яти хвилин з наступним промиванням водою. Занурюють препарати на 1 хвилину в 0,5 % розчин водного блакитного в 1 % водному розчині оцтової кислоти і промивають водою. Зневоджують препарати в спиртах, освітляють в ксилолі і заключають в бальзам [5].

Мікроскопію проводять за допомогою мікроскопа Olympus BX41 (об'єктив $\times 40$, окуляр $\times 10$). Гістологічні препарати фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери Olympus SP-500 UZ. Отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на сервіс ONLINE JPG TOOLS (onlinejpgtools.com/find-dominant-jpg-colors). За допомогою сервісу ONLINE JPG TOOLS визначають колір пікселя та його відсоток у фото. Зазначають кількість кольорів, відсоток яких потрібно вирахувати. Чим менше площа досліджуваної структури, тим більше число кольорів необхідно вказувати, так як сервіс першими вказує відсоток домінантних кольорів. Відсоток кольору у фото є відсотком досліджуваної структури.

Спосіб кількісного визначення досліджуваних гістологічних структур, при якому шматочки плаценти фіксують у 10 % нейтральному формаліні, проводять через серію спиртів наростаючої концентрації, заливають у парафін, виготовляють зрізи тканини товщиною 5 мкм, фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери, зрізи фарбують гістологічним барвником за методикою Зербіно-Лукасевич, отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на онлайн-сервіс, за допомогою якого визначають колір пікселя у фото та його відсоток.

Завдяки застосуванню нових дій способу, умов виконання дій забезпечується повне уявлення про кількісний відсоток структур плаценти, що відрізняються за кольором гістологічного забарвлення.

Приклад 1. Спосіб кількісного визначення відсотка термінальних ворсин, який свідчить про ступінь зрілості плаценти. Шматочки плаценти фіксують у 10 % нейтральному формаліні. Проводять через серію спиртів 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 за методикою Зербіно-Лукасевич. Мікроскопію проводять за допомогою мікроскопа Olympus BX41 (об'єктив $\times 40$, окуляр $\times 10$). Гістологічні препарати фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери Olympus SP-500 UZ. Отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на сервіс ONLINE JPG TOOLS (onlinejpgtools.com/find-dominant-jpg-colors). Зазначають кількість кольорів - 8. Сервіс визначає колір пікселя та вираховує відсоток кольорів у фото.

Приклад 2. Спосіб кількісного визначення вмісту фібрину у міжворсинчастому просторі. Шматочки плаценти фіксують у 10 % нейтральному формаліні. Проводять по спиртам 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 за методикою Зербіно-Лукасевич. Мікроскопію проводять за допомогою мікроскопа Olympus BX41 (об'єктив $\times 40$, окуляр $\times 10$). Гістологічні препарати фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери Olympus SP-500 UZ. Отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на сервіс ONLINE JPG TOOLS (onlinejpgtools.com/find-dominant-jpg-colors). Зазначають кількість кольорів від 2 до 7, тому що сервіс першими вказує відсотки домінатних кольорів, а вміст фібрину у двох випадках значно відрізнявся.

Джерела інформації:

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

2. 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 107049 Україна, МПК G01

33/483 Київ. Державна установа "Національний інститут серцево-судинної хірургії ім. М.М. Амосова" АМН України, заявл. 02.08.2013, опубл. 10.11.2014, Бюл. 21.

3. Савчук Т.В., Захарова В.П., Лещенко І.В., Приходько Т.О. Спосіб визначення "робочої" площі правого шлуночка серця при синдромі гіпоплазії лівих відділів серця. Патент на винахід 109840 Україна, МПК (2015.01) G01 N33/48 G01 N21/00 (2006.01). заявник і патенто-утримувач Державна установа "Національний інститут серцево-судинної хірургії ім. М.М. Амосова Національної академії медичних наук України" (UA). - № а201405813; - заявл. 29.05.2014, опубл. 12.10.2015; Бюл. № 19.

4. 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) А 61 В 17/00. Спосіб діагностики морфофункціонального стану кардіоміоцитів на основі вивчення біоптатів та некроптів міокарду. заявник і патентоутримувач Державна установа "Національний інститут серцево-судинної хірургії ім. М.М. Амосова Національної академії медичних наук України" (UA). - № u200908910; заявл. 26.08.2009, опубл. 10.03.2009. Бюл. № 5).

5. Савчук Т.В., Гльоза М.Ю. Спосіб оцінки патоморфологічного стану фіброеластозу ендокарда. Патент на корисну модель 118108 Україна, МПК(2017.01) А 61В 5/00 G01 N33/483(2006.01) 61/В 1/04 (2006.01) заявник і патентоутримувач Державна установа "Національний інститут серцево-судинної хірургії ім. М.М. Амосова Національної академії медичних наук України" (UA). - № u201700466; заявл. 18.01.2017, опубл. 25.07.2017, Бюл. № 14.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб кількісного визначення досліджуваних гістологічних структур, за яким шматочки плаценти фіксують у 10 % нейтральному формаліні, проводять через серію спиртів наростаючої концентрації, заливають у парафін, виготовляють зрізи тканини товщиною 5 мкм, фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери, який **відрізняється** тим, що зрізи фарбують гістологічним барвником за методикою Зербіно-Лукасевич, отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на онлайн-сервіс, за допомогою якого визначають колір пікселя у фото та його відсоток.

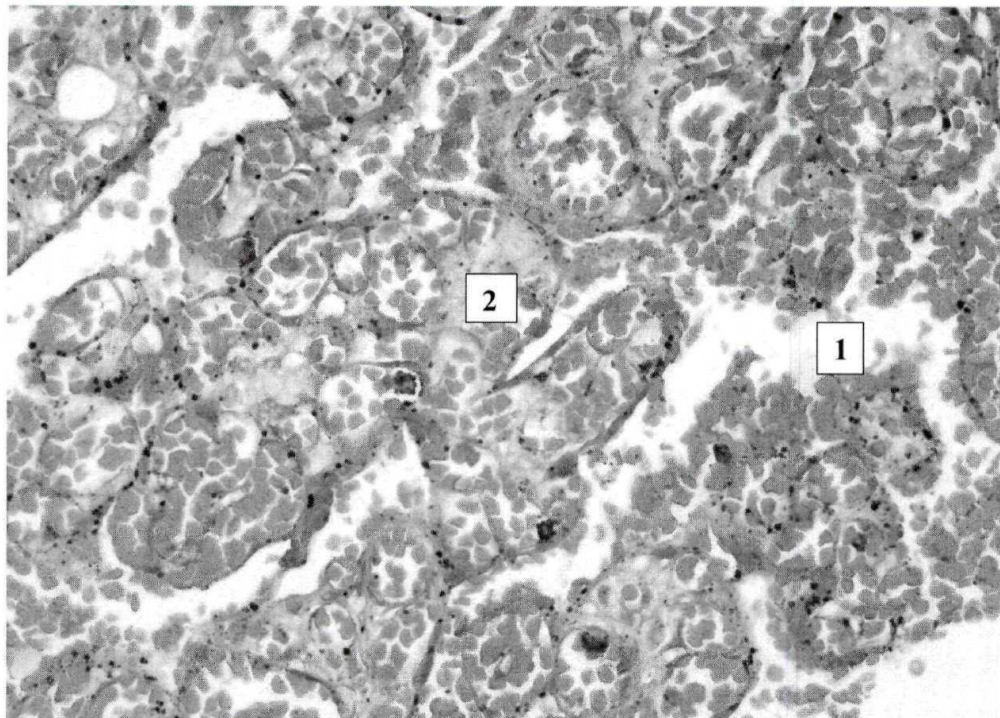


Fig.1

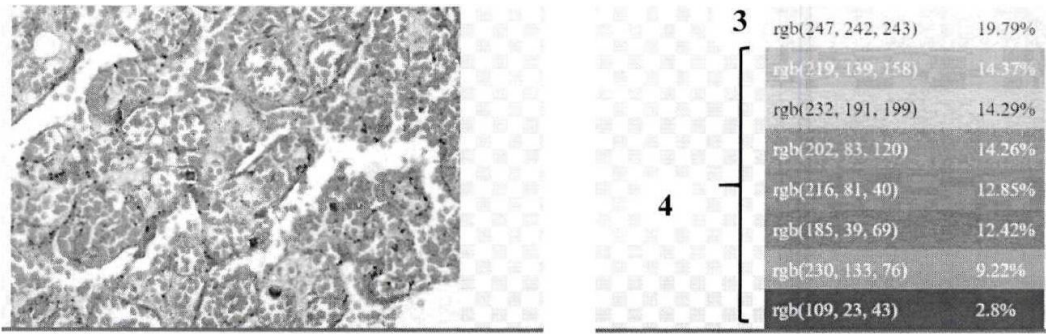


Fig.2.

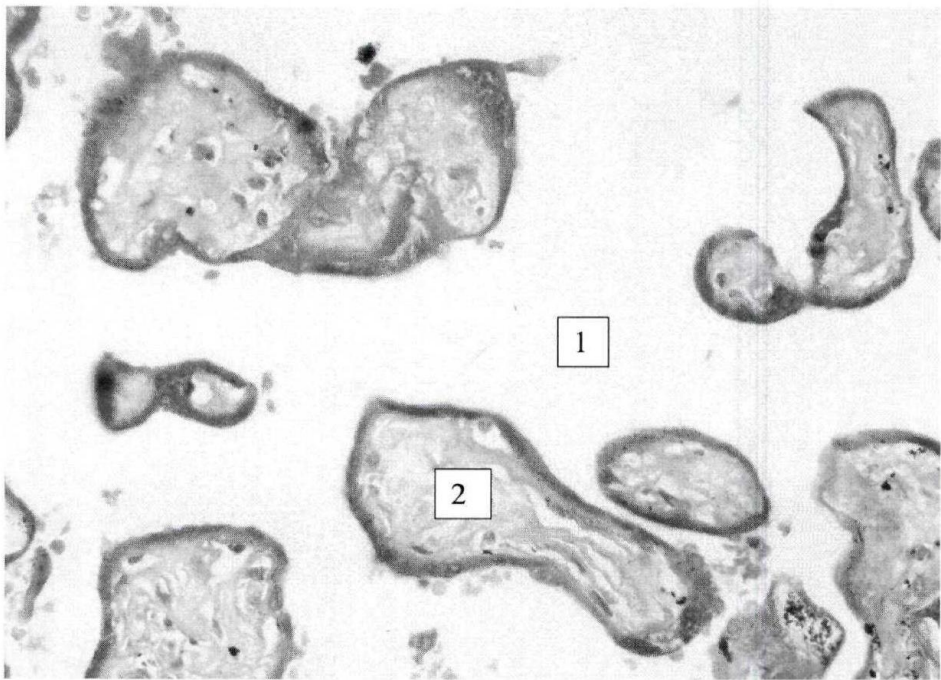


Fig. 3.

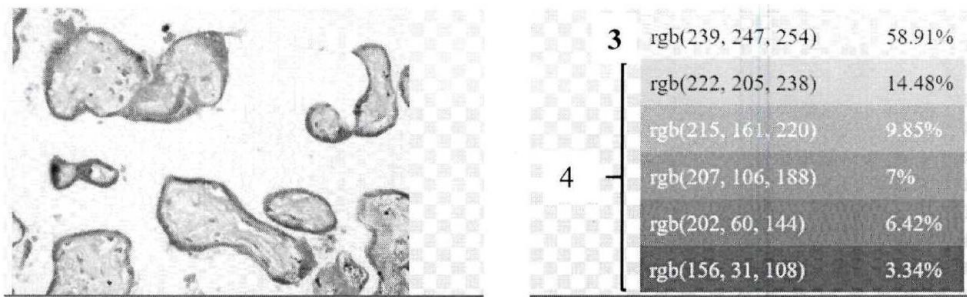


Fig.4.

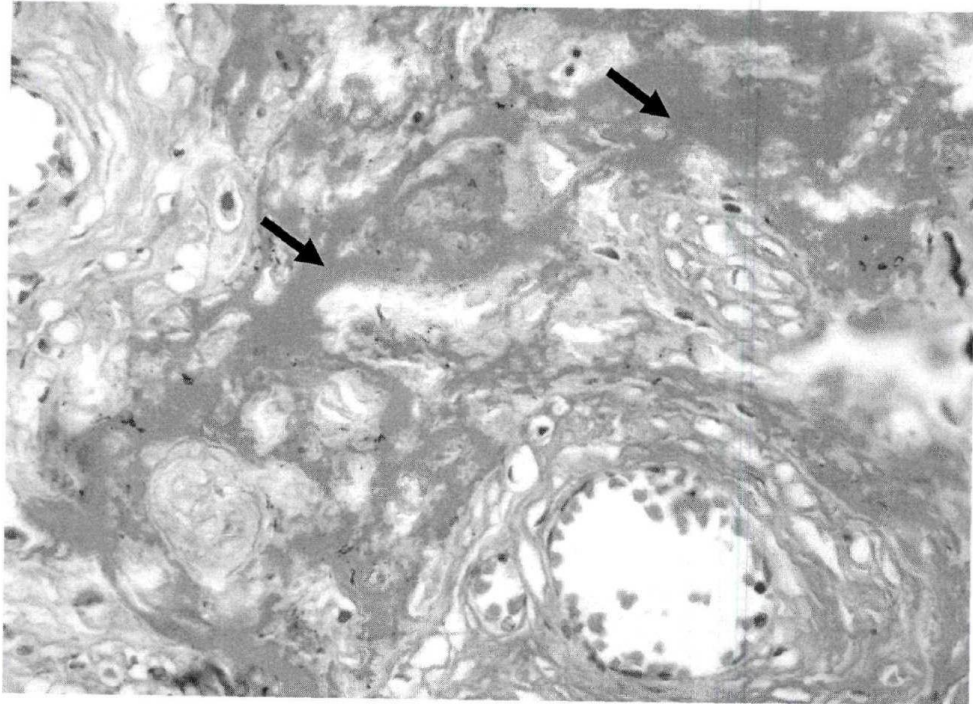


Fig.5.

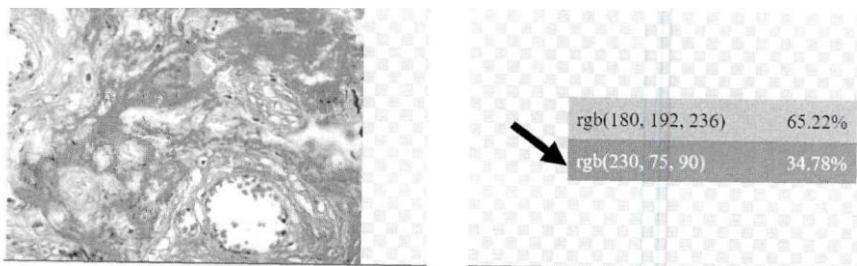


Fig.6.

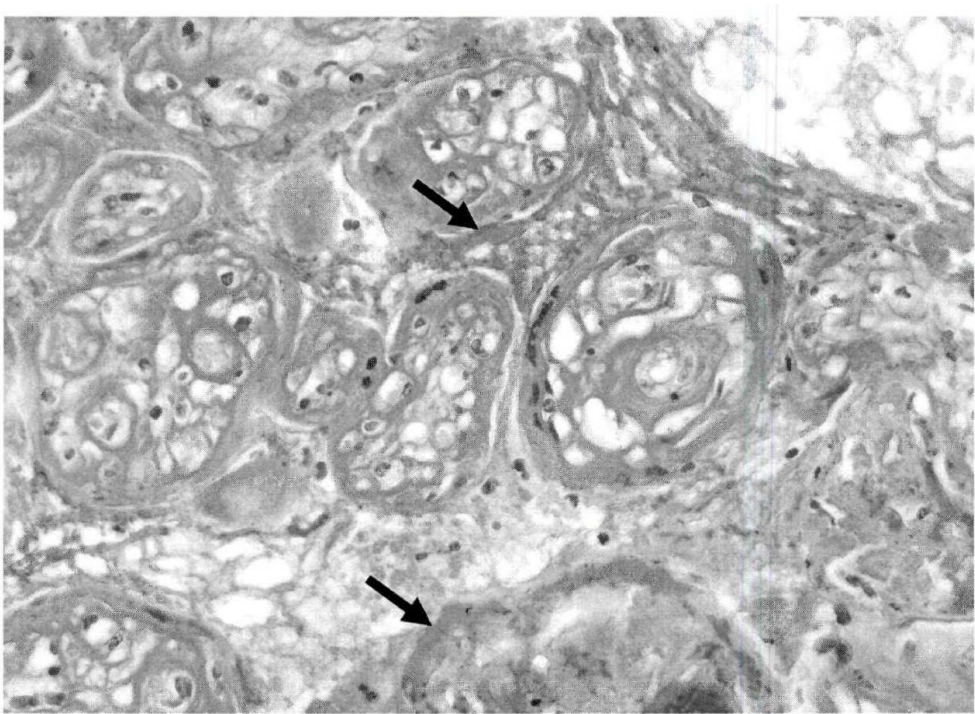


Fig.7.

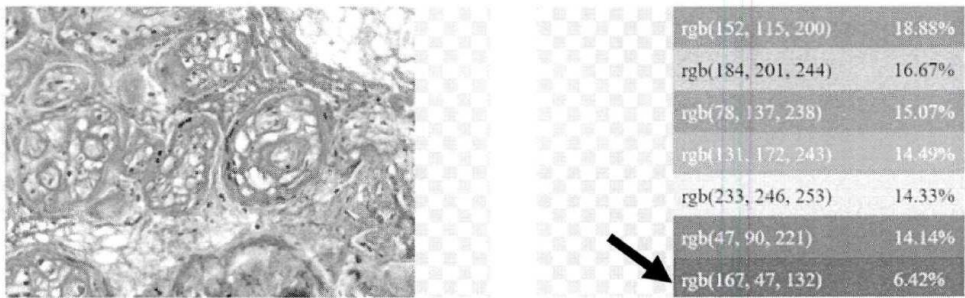


Fig.8.