



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 158471

(13) U

(51) МПК

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 02856**
(22) Дата подання заявки: **28.05.2024**
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **13.02.2025**
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **12.02.2025, Бюл.№ 7**

(72) Винахідник(и):
**Савчук Тетяна Василівна (UA),
Лещенко Іван В'ячеславович (UA)**
(73) Володілець (володільці):
**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ,
бул. Тараса Шевченка, 13, м. Київ, 01601
(UA)**

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СУДИННО-СТРОМАЛЬНОГО ІНДЕКСУ ВОРСИН ХОРІОНА

(57) Реферат:

Спосіб визначення судинно-стромального індексу, при якому шматочки плаценти фіксують у 10 % нейтральному формаліні, проводять через серію спиртів наростаючої концентрації, заливають у парафін, виготовляють зрізи тканини товщиною 5 мкм, фарбують імуногістохімічно (CD34), фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери, зрізи на фото зафарбовують за допомогою Microsoft Paint, завантажують у форматі JPEG на сервіс ONLINE JPG TOOLS, за допомогою якого визначають колір пікселя у фото та його відсоток і вираховують судинно-стромальний індекс: CCI = Всуд/Встр.

UA 158471 U

Корисна модель належить до сфери медицини, зокрема до патологічної анатомії, гістології та може бути використана для кількісного визначення співвідношення відсотків судин та строми у ворсинах хоріона.

Плацента (хоріон) - орган, від якого залежить стан плода протягом вагітності. Морфологія плаценти представлена котиледонами, які є розгалуженням однієї стовбурової ворсини [1]. З прогресуванням вагітності відбувається утворення зрілих проміжних ворсин (напівстовбурових) та термінальних. Функція останніх - обмін між кров'ю матері та плода. Достатня кількість судин у термінальній ворсині, їх розташування, стан просвіту - оцінюється морфологом для визначення порушення мальперфузії та діагностики плацентарної недостатності.

Дослідження авторів свідчать про зміни у судинному руслі при прееклампсії у вигляді ангіоматоза (збільшена кількість судин з розширенням просвіту). При ураженні вірусом SARS-CoV-2 виникає набряк строми термінальних ворсин хоріона, що призводить до стиснення судин ззовні та зменшення їх просвіту [2].

Важливим у даному випадку є визначення співвідношення відсотка судин та строми ворсини: судинно-стромального індексу ворсин хоріона.

Є спосіб оцінки судинного русла плаценти [3], який включає мікроскопічне дослідження поперечного зрізу ворсини з обчисленням кількості судин у одній ворсині хоріона. Однак, недоліком способу є те, що він не враховує різницю у площі судин, яка може відрізнятися, тому неможливо визначити відсоток судин у ворсині.

Авторами у доступних джерелах науково-технічної інформації не знайдено опису способу, подібного до запропонованого.

В основу корисної моделі поставлено задачу визначення судинно-стромального індексу - співвідношень відсотків площ судин та строми у ворсині хоріона, які різняться за кольором фарбування.

Поставлена задача вирішується способом визначення судинно-стромального індексу, при якому шматочки плаценти фіксують у 10 % нейтральному формаліні, проводять через серію спиртів наростаючої концентрації, заливають у парафін, виготовляють зрізи тканини товщиною 5 мкм, фарбують імуногістохімічно (CD34), фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери, зрізи на фото зафарбовують за допомогою Microsoft Paint, завантажують у форматі JPEG на сервіс ONLINE JPG TOOLS, за допомогою якого визначають колір пікселя у фото та його відсоток і вираховують судинно-стромальний індекс: $CCI = V_{суд}/V_{стр}$.

За нашим способом шматочки плаценти фіксують у 10 % розчині нейтрального формаліну. Проводять по спиртах наростаючої концентрації та заливають у парафін, формуючи блоки. З парафінових блоків на мікротомі Leica SM 2000 R виготовляють зрізи товщиною 5 мкм. Зрізи фарбують імуногістохімічно з визначенням експресії моноклональних антитіл проти CD34 (ендотеліальний маркер). 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. На отриманому фото за допомогою Microsoft Paint додатково зафарбовують просвіт судини та фон у кольори, які відмінні від кольорів гістологічного забарвлення структур на фото. Отримані фотографії завантажують у форматі JPEG на сервіс ONLINE JPG TOOLS (onlinejpgtools.com/find-dominant-jpg-colors), за допомогою якого визначають колір пікселя у фото та його відсоток. Відсоток кольору у фото є відсотком досліджуваної структури. Вираховують відсотки судин ($V_{суд}$) та строми ($V_{стр}$) без урахування відсотку фону:

$$V_{суд} = V_{суд\ 1} \times 100 / (V_{стр\ 1} + V_{суд\ 1}).$$

$$V_{стр} = V_{стр\ 1} \times 100 / (V_{стр\ 1} + V_{суд\ 1}), \text{ де } V_{суд\ 1}; V_{стр\ 1} - \text{відсотки кольорів у сервісі ONLINE JPG TOOLS. Судинно-стромальний індекс (CCI) обчислюють за формулою: } CCI = V_{суд} / V_{стр}.$$

Приклад 1. Шматочки плаценти фіксують у 10 % розчині нейтрального формаліну. 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 імуногістохімічно з визначенням експресії моноклональних антитіл проти CD34. 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. У Microsoft Paint на фото додатково зафарбовують досліджувані гістологічні структури (просвіт судин та фон), завантажують архівні фото у форматі JPEG на сервіс ONLINE JPG TOOLS (onlinejpgtools.com/find-dominant-jpg-colors). Зазначають кількість кольорів - 3, відсоток яких вираховують, де сірий колір - це фон, чорний - просвіт судини, світло-сірий - строма. Відсоток кольору у фото є відсотком досліджуваної структури.

Фіг. 1. Фото у форматі JPEG. Мікроскопічний зріз термінальної ворсини плаценти доношеної живонародженої дитини при COVID-19 у матері у гострому періоді. Імуногістохімічне забарвлення CD34, $\times 400$. Просвіт судин звужений.

5 Фіг. 2. Фото у форматі JPEG. За допомогою Microsoft Paint зафарбовують фон: на фото - сірий колір та просвіт судин - чорний колір. Строма - світло-сірий колір. Відсоток судин склав 19,76, строми - 37,95, фон - 42,28.

Фіг. 3. Фото у форматі JPEG. Мікроскопічний зріз термінальної ворсини плаценти доношеної живонародженої дитини (група порівняння). Імуногістохімічне забарвлення CD34, $\times 400$.

10 Фіг. 4. Фото у форматі JPEG. За допомогою Microsoft Paint зафарбовують фон на фото - сірий колір та просвіт судин - чорний колір. Строма - світло-сірий колір. Відсоток судин склав 43,83, строми - 16,82, фон - 39,35.

Надалі вираховують відсотки судин ($V_{\text{суд}}$) та строми ($V_{\text{стр}}$) без урахування відсотка фону:

$$V_{\text{суд}} = V_{\text{суд } 1} \times 100 / (V_{\text{стр } 1} + V_{\text{суд } 1}).$$

15 $V_{\text{стр}} = V_{\text{стр } 1} \times 100 / (V_{\text{стр } 1} + V_{\text{суд } 1})$, де $V_{\text{суд } 1}$; $V_{\text{стр } 1}$ - відсотки кольорів у сервісі ONLINE JPG TOOLS (Фіг. 2., Фіг. 4). Обчислюють судинно-стромальний індекс (CCI):

$$CCI = V_{\text{суд}} / V_{\text{стр}}$$

Таблиця 1

Кількісні характеристики плацент у гострому періоді COVID-19 у вагітної та в групі порівняння

Кількісні характеристики, відсоток (%)	COVID-19 у вагітної (n=32)	Група порівняння (n=30)
Судини термінальних ворсин хоріона	29,0 [25,6; 34,2]*	67,8 [60,3; 73,7]
Строма термінальних ворсин хоріона	72,3 [65,8; 78,7]*	32,1 [26,2; 39,6]
Судинно-стромальний індекс	0,38 [0,34; 0,51]*	2,15 [1,52; 2,81]

Примітка: (Mann-Whitney U Test) - статистична значущість відмінностей між групами; * $p = 0,0039$

20 У плацентах доношених живонароджених дітей у гострому періоді COVID-19 у вагітної відсоток судин термінальних ворсин хоріона склав 29,0 [25,6; 34,2] проти 67,8 [60,3; 73,7] у групі порівняння (плацента за 2018 р.) Відсоток строми термінальних ворсин хоріона переважав у основній групі - 72,3 [65,8; 78,7] проти 32,1 [26,2; 39,6] у контролі. Судинно-стромальний індекс (CCI) склав при COVID-19 у вагітної - 0,38 [0,34; 0,51] проти 2,15 [1,52; 2,81] у нормі; $p = 0,0039$.

25 Завдяки застосуванню нових дій способу та умов виконання дій забезпечується повне уявлення про відсоток судин та строми у термінальній ворсині хоріона з подальшим обчисленням судинно-стромального індексу (CCI): $CCI = \text{відсоток судин} / \text{відсоток строми}$.

Джерела інформації:

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

30 2. 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>

35 3. Kadyrov N, Kosanke G, Kingdom J, Kaufmann P. Increased fetoplacental angiogenesis during first trimester in anaemic women. The Lancet. 1998 Nov; 352(9142):1747-9. DOI: <https://doi.org/10.30841/2708-8731.3.2023.283322>

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

40 Спосіб визначення судинно-стромального індексу, при якому шматочки плаценти фіксують у 10 % нейтральному формаліні, проводять через серію спиртів наростаючої концентрації, заливають у парафін, виготовляють зрізи тканини товщиною 5 мкм, фарбують імуногістохімічно (CD34), фотографують через мікроскоп за допомогою цифрової фотокамери, зрізи на фото зафарбовують за допомогою Microsoft Paint, завантажують у форматі JPEG на сервіс ONLINE JPG TOOLS, за допомогою якого визначають колір пікселя у фото та його відсоток і

45 вираховують судинно-стромальний індекс: $CCI = V_{\text{суд}} / V_{\text{стр}}$.



Fig. 1

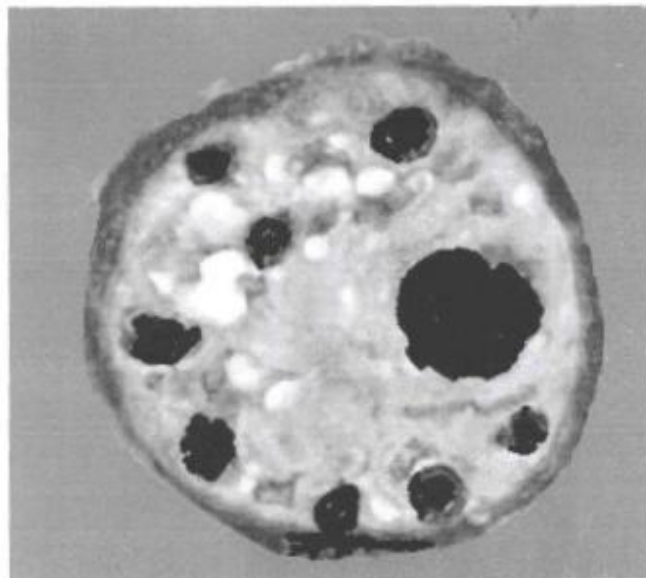


Fig. 2

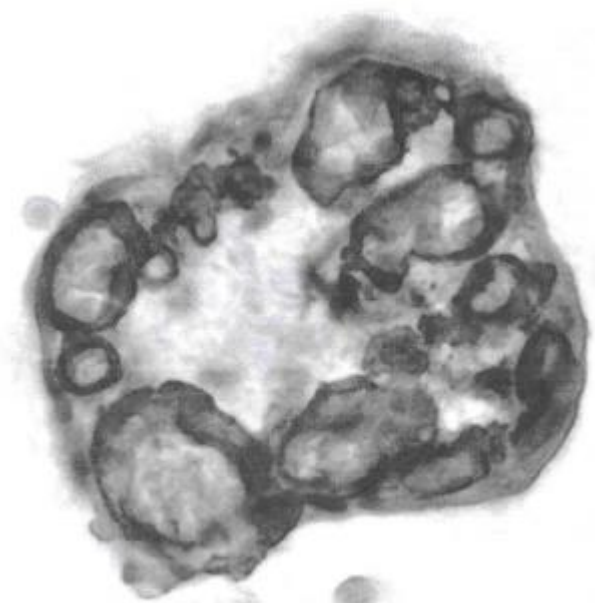


Fig. 3

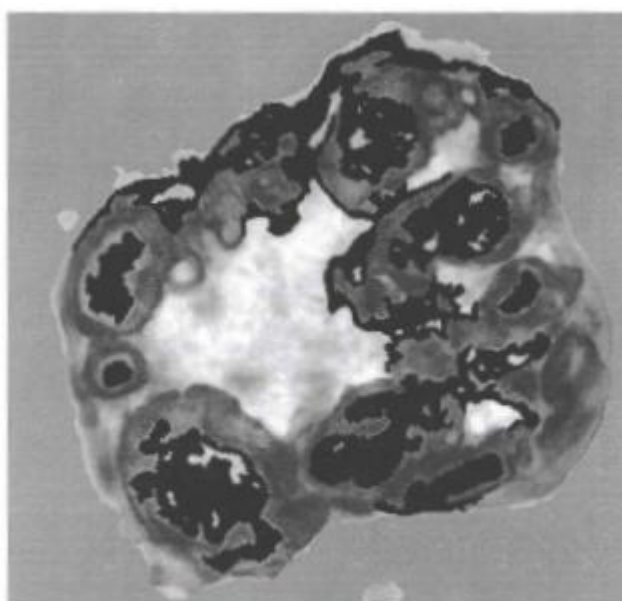


Fig. 4