



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **102418**

(13) **U**

(51) МПК

A61B 5/117 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2015 04714**

(22) Дата подання заявки: **15.05.2015**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **26.10.2015**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **26.10.2015, Бюл.№ 20**

(72) Винахідник(и):

**Кам'янський Віктор Віталійович (UA),
Яценко Іван Володимирович (UA),
Бондаревський Микола Михайлович
(UA),
Гетманець Олег Михайлович (UA)**

(73) Власник(и):

**Кам'янський Віктор Віталійович,
вул. 17-го Партз'їзду, 6, смт Нова Водолага,
Нововодолазький р-н, Харківська обл.,
63200 (UA),
Яценко Іван Володимирович,
ХДЗВА, гурт. № 3, к. 41, смт Данилівка,
Дергачівський р-н, Харківська обл., 62341
(UA),
Бондаревський Микола Михайлович,
пров. Лінійний, 1, м. Дергачі, Харківська
обл., 62300 (UA),
Гетманець Олег Михайлович,
пр. Правди, 5, кв. 139, м. Харків, 61058 (UA)**

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ВІКУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ЗА МІКРОСТРУКТУРНИМИ ПАРАМЕТРАМИ КОМПАКТНОЇ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ДІАФІЗА КІСТОК ПЛЕСНА

(57) Реферат:

Спосіб визначення віку великої рогатої худоби за мікроструктурними морфологічними параметрами компактної кісткової тканини діафіза кісток плесна включає виготовлення шліфу поперечного перерізу кістки та проведення вимірювання кількості остеонних структур на одиниці площі. Визначають загальну кількість остеонів на одиниці площі шліфу у ($1/\text{мм}^2$) та за її значенням розраховують вік тварини Т (у місяцях) згідно з регресійним рівнянням 4-го ступеня за у: $T=260328,40-36180,30 \times u + 1881,73 \times u^2 - 43,42 \times u^3 + 0,38 \times u^4$.

UA 102418 U

Корисна модель належить до ветеринарної медицини, зокрема до ветеринарно-санітарної експертизи продуктів тваринництва та судово-ветеринарної експертизи, а також до морфології і може бути використана для визначення віку великої рогатої худоби (ВРХ) за мікроструктурними морфологічними параметрами гістологічних досліджень компактної кісткової тканини діяфіза кісток плесна.

Відомий спосіб встановлення віку людини за результатами гістологічних досліджень кісткової тканини, як найменш здатної до руйнування, широко застосовується в гуманній судово-медичній експертизі [1-7]. Але цей спосіб дає можливість встановлювати вік людини лише з точністю до 5 років та має суттєвий недолік, який полягає у використанні лише якісних критеріїв опису кісткової тканини, що призводить до недостатньої об'єктивності результатів експертизи.

Найбільш близьким технічним рішенням до корисної моделі, що пропонується, є спосіб встановлення віку людини за морфометричними параметрами гістологічних препаратів кісткової тканини [8], який полягає в проведенні вимірювань протяжності зони активного остеогенезу, співвідношення площ хрящової і кісткової тканин в перехідній зоні поздовжнього зрізу 3-го ребра, діаметра гаверсових каналів ендотрабекулярних остеонів в зрізі епіфіза великої гомілкової кістки та кількості ендотрабекулярних остеонів в зрізі діяфіза великої гомілкової кістки, отримані дані вводять в регресійні рівняння, в результаті розрахунків за якими отримують вік людини. Але цей спосіб, по-перше, не може бути застосованим для встановлення віку ВРХ в судово-ветеринарній експертизі через відсутність відповідних методик. По-друге, відомий спосіб дозволяє встановлювати вік з точністю до 1,5-2 роки. По-третє, застосування відомого способу для вирішення завдання визначення віку ВРХ потребує проведення великої кількості досліджень та використання рівнянь множинної регресії, до яких входить багато змінних - відповідних ознак, що ускладнює проведення експертних досліджень.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалення способу визначення віку ВРХ за мікроструктурними морфологічними параметрами гістологічних досліджень компактної кісткової тканини діяфіза кісток плесна з метою спрощення експертних досліджень за рахунок визначення найбільш інформативних суттєвих ознак, які входять до відповідних регресійних рівнянь, та одночасне підвищення точності й надійності експертних висновків.

Спосіб визначення віку ВРХ за мікроструктурними морфологічними параметрами гістологічних досліджень компактної кісткової тканини діяфіза кісток плесна полягає в тому, що після приготування шліфу кісткової тканини діяфіза кісток плесна проводять мікроструктурний аналіз карбонізованого шліфа, в результаті якого визначають кількість видів остеонних структур на одиниці площі зрізу. Значення загальної кількості остеонів на одиниці площі (тобто їх поверхневу щільність) підставляють до відповідного регресійного рівняння, виконують прості розрахунки та на їх основі визначають вік ВРХ.

Спосіб визначення віку великої рогатої худоби за мікроструктурними морфологічними параметрами компактної кісткової тканини діяфіза кісток плесна включає виготовлення шліфу поперечного перерізу кістки та проведення вимірювання кількості остеонних структур на одиниці площі, згідно з корисною моделлю, що пропонується, визначають загальну кількість остеонів на одиниці площі у (1/мм²) та за її значенням розраховують вік тварини Т (у місяцях) згідно з регресійним рівнянням 4-го ступеня за у: $T = 260328,40 - 36180,30 \times u + 1881,73 \times u^2 - 43,42 \times u^3 + 0,38 \times u^4$.

Суть запропонованого способу пояснюється проведеними авторами дослідженнями. Кістковий матеріал, що досліджувався, було відібрано від забитих тварин в умовах господарства. Загалом було досліджено 160 кісток плесна від 80-ти голів ВРХ української червоно-рябої породи у віці від народження до 12-ти років. Усю кількість тварин було розбито на дев'ять вікових груп: 1 група - 0-2 міс.; 2 група - 2-5 міс.; 3 група - 5-9 міс.; 4 група - 9-14 міс.; 5 група - 14-20 міс.; 6 група - 20-36 міс.; 7 група - 36-60 міс.; 8 група - 60-120 міс.; 9 група - 120-144 міс.

Мікроструктуру середини діяфіза кісток плесна досліджували на кісткових шліфах, виготовлених за методикою, що була описана в керівництві Д.С. Саркісова [9], в нашій модифікації. Для цього препарували трубчасту кістку від м'яких тканин. Пилкою випилювали із середньої третини діяфіза трубчастої кістки у фронтальній площині кільце товщиною 2-3 мм. Рівномірність товщини випиляного зразка контролювали мікрометром (за необхідності проводили шліфування для досягнення рівномірної товщини по всій його поверхні).

Знежирювали кісткове кільце протягом 7-й діб, витримуючи його у 96 % етиловому спиртї. Кісткове кільце приклеювали на предметному скельці (розміром 50×40×3 мм) рідким канадським бальзамом (останній попередньо готували на ксилолі у співвідношенні 1:1) протягом однієї доби. Для прискорення процесу приклеювання предметне скельце попередньо підігрівали над полум'ям спиртівки до відходження легких парів бальзаму, поміщали на підігрітий канадський

бальзам кістковий зразок, який зверху накривали покривним скельцем з грузиком. Процес фіксації відбувався за кімнатної температури (+18...20 °C).

Послідовно шліфували кісткове кільце на грубо- та дрібноабразивному камені, періодично зрошуючи його поверхню водопровідною водою, аж поки шліф не став завтовшки 500 мкм. Потім здійснювали дефіксацію шліфа з предметного скельця над полум'ям спиртівки. Помічали відшліфовану поверхню.

Звільняли шліф від залишків канадського бальзаму у технічному ксилолі, промивали його у проточній водопровідній воді і висушували на повітрі за кімнатної температури (+18...20 °C). Фіксували шліф на предметному скельці рідким канадським бальзамом (шліфованою поверхнею до предметного скельця) протягом однієї доби.

Проводили шліфування протилежної (не шліфованої) поверхні шліфа, на дрібнозернистому абразиві доки шліф ставав завтовшки 90-100 мкм. Де фіксацію шліфа із предметного скельця проводили шляхом занурення останнього у технічний ксилол. Звільняли шліф від залишків канадського бальзаму технічним ксилолом протягом однієї доби. Промивали шліф у проточній водопровідній воді, висушували на повітрі за кімнатної температури (+18...20 °C), розмістивши між двома покривними скельцями.

Карбонізацію шліфа проводили на електроплитці між двома покривними скельцями (за Сміттом [9]). Цей процес завершували у разі появи світло-коричневого забарвлення шліфа.

Заключали шліф між предметним та покривним скельцями із використанням рідкого канадського бальзаму, наносячи його тонким шаром лише по краях покривного скельця зі збереженням повітряного прошарку навколо шліфа. Потім проводили мікроскопію кісткового шліфа.

В результаті досліджень встановлювали кількість видів остеонних структур для кожної кістки на площі 2,5 мм², зокрема: первинних, вторинних, третинних, первинних багатоканальних, вторинних багатоканальних та їх загальну суму. Результати досліджень наведено в таблиці 1.

Враховуючи виявлені закономірності в розподілі поверхневої щільності різних остеонних структур за віковими групами, як найбільш інформативну ознаку було вибрано загальну кількість остеонів (у) на одиниці площі. Ця ознака має тенденцію повільного зростання із збільшенням середньогрупового віку в усьому діапазоні його зміни. Враховуючи це, було застосовано нелінійний регресійний аналіз для отримання рівняння регресії віку ВРХ Т (в місяцях) від поверхневої щільності загальної кількості остеонів у (в 1/мм²), в результаті якого за методом найменших квадратів було отримано рівняння регресії 4-го порядку:

$$T=260328,40-36180,30 \times u+1881,73 \times u^2-43,42 \times u^3+0,38 \times u^4, \quad (1)$$

Таблиця 1

Кількість видів остеонних структур на площі 2,5 мм²

Вікові групи, міс.	Біометричні параметри	Види остеонних структур на площі 2,5 мм ²					
		Первинні	Вторинні	Третинні	Первинні багатоканальні	Вторинні багатоканальні	Загальна кількість остеонів
0-2	M	50,30	-	-	14,70	-	65,00
	±m	3,12	-	-	0,90	-	4,02
	σ	7,14	-	-	2,10	-	9,36
2-5	M	50,8	0,90	-	15,30	0,20	67,20
	±m	3,13	0,08	-	0,94	0,01	4,11
	σ	7,12	0,11	-	2,19	0,02	9,59
5-9	M	58,30	1,50	-	7,30	0,30	67,40
	±m	3,62	0,06	-	0,45	0,02	4,13
	σ	8,34	0,14	-	1,04	0,04	9,63
9-14	M	56,30	2,10	-	9,30	0,50	68,20
	±m	3,47	0,13	-	0,57	0,03	4,18
	σ	8,02	0,30	-	1,33	0,07	9,74
14-20	M	51,10	8,30	-	7,90	1,50	68,80
	±m	3,12	0,51	-	0,48	0,09	4,21
	σ	7,11	1,19	-	1,13	0,21	9,83

Продовження таблиці 1

Кількість видів остеонних структур на площі 2,5 мм²

Вікові групи, міс.	Біометричні параметри	Види остеонних структур на площі 2,5 мм ²					
		Первинні	Вторинні	Третинні	Первинні багато-канальні	Вторинні багато-канальні	Загальна кількість остеонів
20-36	M	45,30	23,00	-	1,20	0,80	70,30
	±m	2,83	1,41	-	0,07	0,05	4,30
	σ	6,57	3,29	-	0,17	0,11	10,04
36-60	M	28,70	39,70	-	2,15	2,60	73,15
	±m	1,83	2,43	-	0,13	0,16	4,48
	σ	4,15	5,67	-	0,31	0,37	10,45
60-120	M	20,80	55,50	1,50	0,30	1,50	79,0
	±m	1,34	3,39	0,51	0,02	0,09	4,84
	σ	3,07	7,90	1,19	0,04	0,21	11,29
120-144	M	11,00	64,10	3,30	0,50	2,25	81,20
	±m	0,72	3,94	1,30	0,03	0,14	4,97
	σ	1,53	9,18	3,26	0,07	0,32	11,60

Коефіцієнт детермінації рівняння (1), нормований на кількість ступенів свободи, дорівнює $R^2=0,999$; стандартна помилка регресії становить $S_r=1,4$ міс. Рівняння (1) взагалі є значущим за Фішером з довірчою ймовірністю $P>0,999$, а усі його коефіцієнти є значущими за Стюдентом з тою самою довірчою ймовірністю: $P>0,999$. 4-й порядок рівняння (1) за у обумовлений максимізацією коефіцієнта детермінації при максимальному рівні достовірності. На фігурі 1 передбачення рівняння регресії (1) порівнюються з експериментальними даними для різних вікових груп ВРХ.

Таким чином, вимірюючи поверхневу щільність загальної кількості остеонів та застосовуючи рівняння нелінійної регресії (1), можна встановити значення віку ВРХ в межах визначеної помилки.

Приклад конкретного виконання

Спосіб визначення віку великої рогатої худоби за мікроструктурними морфологічними параметрами компактної кісткової тканини діафіза кісток плесна здійснюється наступним чином.

Надані на експертизу кістки плесна оглядають. Потім препарують трубчасту кістку від м'яких тканин. Випилюють із середньої третини діафіза трубчастої кістки у фронтальній площині кільце товщиною 2-3 мм. Рівномірність товщини випиляного зразка контролюють мікрометром (за необхідності проводять шліфування для досягнення рівномірної товщини по всій його поверхні).

Знежирюють кісткове кільце протягом 7 діб, витримуючи його у 96 % етиловому спирті. Кісткове кільце приклеюють до предметного скельця (розміром 50×40×3 мм) рідким канадським бальзамом (останній попередньо готують на ксилолі у співвідношенні 1:1) протягом однієї доби. Для прискорення процесу приклеювання предметне скельце попередньо підігрівають над полум'ям спиртівки до відходження летких парів бальзаму, поміщують на підігрітий канадський бальзам кістковий зразок, який зверху накривають покривним скельцем з грузиком. Процес фіксації відбувається за кімнатної температури (+18...20 °C).

Послідовно шліфують кісткове кільце на грубо- та дрібноабразивному камені, періодично зрошуючи його поверхню водопровідною водою, аж поки шліф не стане завтовшки 500 мкм. Здійснюють дефіксацію шліфа з предметного скельця над полум'ям спиртівки. Помічають відшліфовану поверхню.

Звільняють шліф від залишків канадського бальзаму у технічному ксилолі, промивають його у проточній водопровідній воді і висушують на повітрі за кімнатної температури (+18...20 °C). Фіксують на предметному скельці рідким канадським бальзамом (шліфованою поверхнею до предметного скельця) протягом однієї доби.

Проводять шліфування протилежної (нешліфованої) поверхні шліфа, на дрібнозернистому абразиві аж доки шліф досягне товщини 90-100 мкм. Дефіксацію шліфа із предметного скельця проводять шляхом занурення останнього у технічний ксилол. Звільняють шліф від залишків канадського бальзаму технічним ксилолом протягом однієї доби. Промивають шліф у проточній водопровідній воді, висушують на повітрі за кімнатної температури (+18...20 °C), розмістивши між двома покривними скельцями.

Карбонізацію шліфа проводять на електроплитці між двома покривними скельцями. Цей процес завершують у разі появи світло-коричневого забарвлення шліфа.

Заключають шліф між предметним та покривним скельцями із використанням рідкого канадського бальзаму, наносячи його тонким шаром лише по краях покривного скельця зі збереженням повітряного прошарку навколо шліфа. Потім проводять мікроскопію кісткового шліфа. Підраховують кількість видів остеонних структур для кожної кістки на виділеній площі, зокрема: первинних, вторинних, третинних, первинних багатоканальних, вторинних багатоканальних та їх загальну кількість. Потім визначають поверхневу щільність загальної суми остеонів у ($1/\text{мм}^2$). Це значення підставляють в рівняння регресії (1), за яким визначають вік ВРХ з точністю близько 1,5 місяців.

Приклад 1. В результаті досліджень було встановлено значення поверхневої щільності загальної кількості остеонів на кістковому шліфі діафіза кісток плесна: $y_1=29$ ($1/\text{мм}^2$). Підставивши це значення в регресійне рівняння (1), одержуємо відповідне значення віку ВРХ: $T_1=44$ міс.

Приклад 2. В результаті досліджень було встановлено значення поверхневої щільності загальної кількості остеонів на кістковому шліфі діафіза кісток плесна: $y_2=32$ ($1/\text{мм}^2$). Підставивши це значення в рівняння регресії (1), одержуємо відповідне значення віку ВРХ: $T_2=105$ міс.

Таким чином, запропонований спосіб визначення віку великої рогатої худоби за мікроструктурними морфологічними параметрами компактної кісткової тканини діафіза кісток плесна дозволяє:

1. Об'єктивно та достовірно з точністю близько 1,5 місяців встановлювати вік великої рогатої худоби у межах від народження до 12-ти років.

2. Реалізувати спосіб, якщо на експертизу потрапляють фрагменти діафіза кісток плесна у випадках трупних змін, пошкодження, розчленування та скелетування трупів ВРХ.

ДЖЕРЕЛА ІНФОРМАЦІЇ:

1. Гладышев Ю.М. О возрастном развитии первичной остеонной сети в костях человека / Ю.М. Гладышев // Труды 8-й научной конференции по возрастной морфологии, физиологии и биохимии. - М., 1971. - С. 90-93.

2. Гладышев Ю. М. Применение количественных показателей для изучения возрастных особенностей костей человека в судебно-медицинском отношении / [Ю.М. Гладышев, Н.Н. Семенов, Л.А. Дмитриенко и др.] // Физико-технические методы исследования в судебной медицине: Тезисы Пленума Правления Всесоюзного научного общества. - Москва-Ставрополь, 1972. - С. 119-120.

3. Бабичев В.И. О количественном распределении некоторых остеонных конструкций большеберцовой кости человека в связи с возрастом / В.И. Бабичев // Современные вопросы судебно-медицинской экспертизы и экспертной практики. - Ижевск, 1975. - С. 303-304.

4. Донцов В.Г. Особенности распределения микроскопических конструкций в диафизе плечевой кости в связи с возрастом человека / В.Г. Донцов // Современные вопросы судебно-медицинской экспертизы и экспертной практики. - Ижевск, 1975. - С. 305-306.

5. Лаптев Л.З. Гистоструктурные изменения грудины с возрастом / Л.З. Лаптев // Материалы судебных медиков Казахстана. - Алма-Ата, 1968. - С. 447-449.

6. Пиголкин Ю.И. Возрастные изменения микроструктуры костной ткани и возможности их использования для идентификации личности / [Ю.И. Пиголкин, Д.В. Богомолов, М.В. Федулова и др.] // Судебно-медицинская экспертиза. - 2002. - № 3. - С. 17-20.

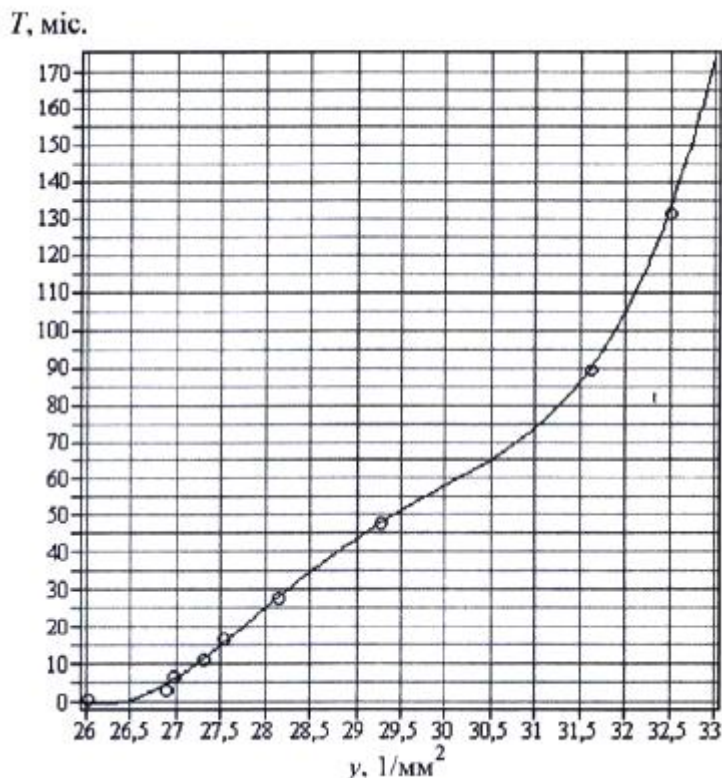
7. Джигора С.Т. Значение морфологической структуры гаверсовых каналов и спонгиозы при определении видовой принадлежности костей / С.Т. Джигора // Врачебное дело. - 1957. - № 1. - С. 49-56.

8. Патент РФ № 2202280, МКВ А61В 5/117. Способ определения возраста человека по морфометрическим параметрам гистологических препаратов костной ткани / Ю.И. Пиголкин, М.В. Федулова, Д.В. Богомолов и др. (РФ); Российский центр судебно-медицинской экспертизы МЗ РФ; заявл. 08.07.2001; опубл. 20.04.2003-5 с.

9. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника: руководство для врачей и лаборантов / Под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Перова. - Москва: Медицина, 1996. - 325 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб визначення віку великої рогатої худоби за мікроструктурними морфологічними параметрами компактної кісткової тканини діяфіза кісток плесна, що включає виготовлення шліфу поперечного перерізу кістки та проведення вимірювання кількості остеонних структур на одиниці площі, який **відрізняється** тим, що визначають загальну кількість остеонів на одиниці площі шліфу y ($1/\text{мм}^2$) та за її значенням розраховують вік тварини T (у місяцях) згідно з регресійним рівнянням 4-го ступеня за y : $T=260328,40-36180,30 \times y+1881,73 \times y^2-43,42 \times y^3+0,38 \times y^4$.



Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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