



УКРАЇНА

(19) UA (11) 31190 (13) U  
(51) МПК (2006)  
G01N 33/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ГІСТОПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН ЕНДОТЕЛІЮ СУДИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ

1

(21) u200714387

(22) 20.12.2007

(24) 25.03.2008

(46) 25.03.2008, Бюл. № 6, 2008 рік

(72) ПАШКОВСЬКА НАТАЛІЯ ВІКТОРІВНА, UA,  
ДАВИДЕНКО ІГОР СВЯТОСЛАВОВИЧ, UA,  
ПАШКОВСЬКИЙ ВАЛЕРІЙ МЕЛЕНТІЙОВИЧ, UA

(73) БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ, UA

(56)

(57) Спосіб діагностики гістопатологічних змін  
ендотелію судин головного мозку шляхом  
фарбування гістологічних препаратів ядерними

2

барвниками та оцінки характеру розподілу  
хроматину, який **відрізняється** тим, що за  
допомогою цифрового фотоапарата та оптичного  
мікроскопа отримують цифрові зображення  
пофарбованих ядер клітин, в яких засобами  
комп'ютерної програми вимірюють середню  
арифметичну оптичної густини забарвлення (у  
відносних одиницях оптичної щільності у діапазоні  
"0-1") та вираховують показник  
середньоквадратичного відхилення оптичної  
густини забарвлення (у відносних одиницях  
густини).

Корисна модель відноситься до  
медицини, а саме до неврології, гістології,  
цитології, патологічної анатомії, судової медицини,  
клінічної медицини, може бути використана для  
морфологічної оцінки функціонального стану  
клітинних ядер ендотеліоцитів на підставі  
об'єктивної оцінки організації ядерного хроматину  
клітин людини як в нормі, так і при патології.

Однією з найважливіших ланок патогенезу  
уражень церебральних судин є пошкодження  
ендотелію. Проте оцінка ступеня цього процесу, як  
правило, зводиться до трактування наявності  
ендотеліальної дисфункції за визначенням  
окремих ендотеліальних факторів. Водночас  
ендотелій відіграє багато функцій, зокрема  
бар'єрну, секреторну, гемостатичну, вазотонічну,  
бере участь у процесах ремоделювання та  
запалення судинної стінки тощо. У реалізації  
більшості з них бере участь ДНК ядра  
ендотеліоцитів шляхом залучення останньої до  
процесів продукції різних протеїнів (через  
посередництво відповідних РНК) - ферментів,  
структурних та рецепторних білків тощо.  
Вважається, що функціональне навантаження  
ядра із залученням ДНК віддзеркалює будова  
ядерного хроматину. Зокрема, про підсилення  
активності ДНК ядра у вказаних процесах  
неспецифічне свідчить зсув балансу  
еухроматин/гетерохроматин у бік першого.  
Еухроматин при забарвленні ядерними

барвниками, наприклад, гематоксиліном чи  
ядерним червоним, виглядає як ділянки дифузного  
профарбовування в клітинному ядрі, а  
гетерохроматин - як ділянки гранулярного більш  
темного забарвлення. Вважається, що це два  
різних функціональних стани хроматину, які  
відображають інтенсивність участі ядра у різних  
метаболічних непродуктивних та  
продуктивних процесах. Все це принципово  
важливо враховувати при оцінці  
морфофункціональних особливостей ендотелію.

Аналогом способу, що заявляється, є спосіб  
оцінки організації ядерного хроматину клітин  
людини та тварин [декларційний патент України  
на винахід №13218, опубл. 15.03.2006., бюл. ПВ,  
№3, заявл. 10.10.2005, заявка №u20050951,  
заявник: БДМУ, автори - Яковець К.І., Давиденко  
І.С., Давиденко О.М.]. Спосіб-аналог полягає у  
тому, що після забарвлення ядерним барвником  
гістологічного чи цитологічного препарату органа  
чи тканини людини або тварини організацію  
ядерного хроматину об'єктивно оцінюють за  
показником "Відхилення яскравості", величину  
якого отримують на підставі комп'ютерного аналізу  
цифрової копії зображення забарвленого  
клітинного ядра. Недоліком способу-аналога є те,  
що він є коректним тільки для визначення  
розподілу ядерного хроматину в клітинах одного  
типу, проте недостатньо точно оцінює ступінь  
організації цієї субстанції в клітинах різних типів.

(19) UA (11) 31190 (13) U

Прототипом корисної моделі є спосіб діагностики гістопатологічних змін шляхом фарбування гістологічних препаратів ядерними барвниками та оцінки характеру розподілу хроматину [Общая патология человека: Руководство для врачей / под ред. А.И. Струкова, В.В. Серова, Д.С. Саркисова: в 2т., Т1. - М.: Медицина, 1990. - С.44-45.]. Спосіб-прототип полягає у тому, що після фарбування ядерними барвниками хроматину у гістологічних або цитологічних препаратах дослідник під великим збільшенням мікроскопа суб'єктивно оцінює характер розподілу хроматину у ядрах клітин, враховуючи дифузний або гетерогенний характер забарвлення ядер.

Недоліком прототипу є суб'єктивна основа оцінки, яка може спричинити порушення відтворюваності результатів наукових та клінічних досліджень.

Нами пропонується рішення, що усуває вказані недоліки.

В основу корисної моделі поставлене завдання удосконалити спосіб діагностики гістопатологічних змін ендотелію судин головного мозку шляхом проведення оцінки розподілу ядерного хроматину засобами цифрової фотографії та комп'ютерного аналізу мікроскопічного зображення із застосуванням коефіцієнту варіації оптичної густини забарвлення для забезпечення об'єктивної та адекватної оцінки.

Поставлене завдання вирішується тим, що в способі діагностики гістопатологічних змін ендотелію судин головного мозку шляхом фарбування гістологічних препаратів ядерними барвниками та оцінки характеру розподілу хроматину, згідно до корисної моделі, за допомогою цифрового фотоапарата та оптичного мікроскопа отримують цифрові зображення пофарбованих ядер клітин, в яких засобами комп'ютерної програми вимірюють середню арифметичну оптичної густини забарвлення (у відносних одиницях оптичної щільності у діапазоні «0-1») та вираховують показник середньоквадратичного відхилення оптичної густини забарвлення (у відносних одиницях оптичної густини).

Спільними ознаками прототипу та рішення, що заявляється, є те, що проводять фарбування гістологічних препаратів ядерними барвниками. Корисна модель відрізняється від прототипу тим, що вимірювання проводять за середньою арифметичною оптичної густини забарвлення та показником середньоквадратичного відхилення оптичної густини забарвлення.

Спосіб що заявляється, здійснюється наступним чином. Фарбують гістологічний або цитологічний препарат ядерним барвником. Далі за допомогою цифрового фотоапарата та оптичного мікроскопа при великому збільшенні отримують цифрове зображення ядра клітини.

Потім в ділянці цифрового зображення ядра клітини засобами комп'ютерного аналізу зображення (комп'ютерної програми) вимірюють середню арифметичну оптичної густини

забарвлення (у відносних одиницях оптичної щільності у діапазоні «0-1») та показник середньоквадратичного відхилення оптичної густини забарвлення (у відносних одиницях оптичної густини). Обрахування коефіцієнту варіації оптичної густини забарвлення (вираженого у відсотках) здійснюють шляхом ділення величини середньоквадратичного відхилення оптичної щільності забарвлення на середню арифметичну оптичної щільності забарвлення із множенням на 100.

За величиною цього показника судять про ступінь організації ядерного хроматину, враховуючи що збільшення величини показника відповідає більш гетерогенному забарвленню і гетерохроматичній організації хроматину, і, отже, є морфологічним субстратом щодо трактування обмеження функціональної здатності клітини.

Використання способу пояснюється конкретними прикладами.

Приклад використання способу №1

Досліджено секційний матеріал (тканину стовбуру головного мозку) 22 хворих на діабетичну енцефалопатію, який отримували впродовж 10-12 год після смерті (дослідна група). Для порівняння використовували зразки мозкової тканини 20 загинувших від нещасних випадків, практично здорових за життя (контрольна група). Шматочки тканини фіксували у 5% водному розчині сульфосаліцилової кислоти впродовж 24 годин. Здійснювали проводку у висхідній батареї етанолу та парафінову заливку при 56°C (для збереження параметрів ядра). Виготовлені парафінові зрізи товщиною 5 мкм фарбували гематоксиліном Гарріса, який дає можливість отримання контрастного забарвлення ядерного хроматину. Цифрові копії оптичного зображення виготовляли із використанням об'єктиву мікроскопа 60<sup>x</sup> - при водній імєрсії. Коефіцієнт оптичної густини забарвлення ядерного хроматину ендотеліоцитів капілярів судин стовбуру мозку за діабетичної енцефалопатії становив  $19,2 \pm 0,52\%$  і перевищував контрольний показник ( $15,1 \pm 0,24\%$ ) з високим ступенем вірогідності ( $P < 0,001$ ). Таке зростання гетерогенності ядра ендотеліоцитів вказує на зменшення в ньому еухроматину, тобто є свідченням зниження активності ядра щодо залучення ДНК до синтетичних процесів і може розцінюватися у якості морфологічного субстрату для виникнення ендотеліальної дисфункції та розвитку діабетичних мікроангіопатій головного мозку.

Приклад використання способу №2

Досліджено гістопатологічні препарати тканини мозочку 22 хворих на діабетичну енцефалопатію (дослідна група) та 20 загинувших від нещасних випадків, практично здорових за життя (контрольна група).

Коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину ендотеліальних клітин венул мозочку становив  $10,3 \pm 0,70\%$  і майже у 1,7 рази вірогідно ( $P < 0,001$ ) перевищував контрольний показник ( $6,5 \pm 0,48\%$ ), що свідчить про порушення балансу між еу- та гетерохроматином за рахунок зменшення вмісту останнього і створює підґрунт

для розвитку дисфункції ендотеліальних клітин.

Приклад використання способу № 3

При дослідженні гістологічних препаратів лобової частки півкуль головного мозку за діабетичної енцефалопатії виявлено вірогідне ( $P < 0,001$ ) зростання у 1,6 рази коефіцієнта варіації оптичної густини ядер ендотеліоцитів артерій дрібного калібру ( $11,2 \pm 0,64\%$ ,  $n=22$ ) порівняно з контрольною групою ( $8,3 \pm 0,47\%$ ,  $n=20$ ). Виявлені зміни вказують на значний ступінь ураження ендотеліоцитів артеріальних судин головного мозку за діабетичної енцефалопатії.

Технічний результат: наведений спосіб дозволяє в гістологічному або цитологічному препараті об'єктивно та універсально оцінити організацію ядерного хроматину ендотеліальних клітин судин головного мозку.