



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 98563

(13) U

(51) МПК

G01N 33/06 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 13630**

(22) Дата подання заявки: **19.12.2014**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **27.04.2015**

(46) Публікація відомостей **27.04.2015, Бюл.№ 8**
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Цема Євген Володимирович (UA),
Діброва Юлія В'ячеславівна (UA)**

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ,
бул. Т. Шевченка, 13, м. Київ-4, 01601 (UA)**

(54) СПОСІБ МОРФОМЕТРИЧНОГО АНАЛІЗУ РОЗПОВСЮДЖЕНОСТІ ГІАЛІНОВИХ МЕМБРАН В АЛЬВЕОЛАХ ПРИ ДИФУЗНОМУ АЛЬВЕОЛЯРНОМУ УРАЖЕННІ

(57) Реферат:

Спосіб морфометричного аналізу розповсюдженості гіалінових мембран в альвеолах при дифузному альвеолярному ураженні, що передбачає визначення наповненості просвіту альвеол гіаліновими мембранами при аналізі гістологічних препаратів, пофарбованих гематоксиліном-еозином, причому морфометричний аналіз легеневої паренхіми проводять шляхом розрахунку індексу розповсюдження гіалінових мембран в альвеолах з використанням комп'ютерної програми ImageJ, як співвідношення площі зрізу альвеоли, заповненої гіаліновими мембранами, і площі зрізу загальної респіраторної частини альвеоли.

UA 98563 U

Корисна модель стосується медицини, а саме патоморфології, і може бути використана для проведення морфометричного визначення розповсюдження гіалінових мембран у просвіті альвеол при важкому перебігу грипу H_1N_1 та інших патологічних станах, які супроводжуються утворенням інтраальвеолярних гіалінових мембран.

Найбільш близьким за суттєвими ознаками до способу, що заявляється, є спосіб патогістологічного дослідження зрізів легеневої тканини, за якого проводять забарвлення гістологічних препаратів легеневої паренхіми з використанням гематоксиліну та еозину з наступним орієнтовним (суб'єктивним) визначенням кількості гіалінових мембран у просвіті альвеоли відносно загального просвіту респіраторної частини альвеоли [1]. При цьому, проводиться аналіз різних зрізів уражених ділянок легеневої паренхіми, а ступінь розповсюдження гіалінових мембран у просвіті альвеол визначається, виходячи із суб'єктивного сприйняття дослідником наповненості просвіту альвеол гіаліновими мембранами, відносно загальної площі повітроносних порожнин легеневої паренхіми.

Недоліками способу-прототипу є те, що:

- спосіб не носить об'єктивний характер, оскільки базується на суб'єктивному сприйнятті дослідником фактичного патоморфологічного матеріалу, а отримані результати не можуть бути задокументовані;

- спосіб є наближеним, оскільки не дає можливості визначення чітких кількісних (параметричних) критеріїв для вимірювання розповсюдженості гіалінових мембран в альвеолах, які могли б використовуватися при статистичному аналізі;

- спосіб є якісним, оскільки дозволяє отримати лише непараметричні характеристики ступеня розповсюдженості гіалінових мембран в альвеолах;

- спосіб не є стандартизованим, оскільки не має чітких кількісних критеріїв для співставлення результатів морфометричного аналізу проведеного різними дослідниками;

- спосіб-прототип не дає можливості проведення точного наукового порівняльного аналізу розповсюдження гіалінових мембран в просвіті альвеол у різних пацієнтів;

- спосіб-прототип має низький рівень відтвореності, оскільки залежить від досвіду та суб'єктивного сприйняття морфологічних знахідок дослідником;

- результати морфометричного аналізу ступеня розповсюдження гіалінових мембран в альвеолах з використанням способу-прототипу не можуть бути використані при інтерпретації результатів клініко-морфологічних досліджень, оскільки не відповідають фундаментальним засадам доказової медицини;

- спосіб є трудомістким та орієнтовним.

Задачею корисної моделі є розробка такого способу визначення морфометричних характеристик розповсюдженості гіалінових мембран в альвеолах, який дозволить отримати об'єктивні кількісні показники поширеності цього патологічного процесу, розрахувати відповідні морфометричні параметричні критерії, що підвищать ступінь відтворюваності методу та надасть можливість проводити достовірний статистичний аналіз отриманих результатів.

Технічний результат, що досягається від вирішення поставленої задачі, полягає в розробці точного, простого, стандартизованого, параметричного та об'єктивного способу морфометричного визначення розповсюдженості гіалінових мембран в альвеолах, який може бути використаний при проведенні фундаментальних клініко-морфологічних досліджень, що базуються на принципах доказової медицини.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, який передбачає суб'єктивне визначення наповненості просвіту альвеол гіаліновими мембранами при аналізі гістологічних препаратів, пофарбованих гематоксиліном-еозином, згідно з корисною моделлю, морфометричний аналіз легеневої паренхіми проводять шляхом розрахунку індексу розповсюдженості гіалінових мембран в альвеолах з використанням комп'ютерної програми ImageJ, як співвідношення площі зрізу альвеоли, заповненої гіаліновими мембранами, і площі зрізу загальної респіраторної частини альвеоли.

Суть корисної моделі полягає у тому, що за допомогою цифрової камери виконують мікрофотознімки гістологічних мікропрепаратів досліджуваної легеневої паренхіми, а отримані мікрофотографії аналізують з використанням спеціального програмного забезпечення (ImageJ), яке дозволяє отримати вихідні параметричні дані для розрахунку індексу розповсюдження гіалінових мембран в альвеолах (співвідношення між площею внутрішньоальвеолярних гіалінових мембран на гістологічному зрізі і загальною площею просвіту респіраторної частини альвеоли).

Спосіб виконується наступним чином.

Суть корисної моделі пояснена графічно.

На фіг. 1 наведені етапи проведення морфометричного аналізу розповсюдження гіалінових мембран в альвеолах з використанням програми ImageJ 1.48v.

На фіг. 1А - виділення з допомогою інструменту "Polygon Selection" площі повітроносної частини альвеоли;

5 На фіг. 1Б - введення з допомогою інструменту "Polygon Selection" площі альвеоли, заповненої гіаліновими мембранами, де

1 - розрахункове значення у пікселях (по замовчуванню) площі зрізу загальної повітроносної частини альвеоли;

10 2 - виділена з допомогою інструменту "Polygon Selection" площа зрізу респіраторної частини альвеоли;

3 - розрахункове значення у пікселях (по замовчуванню) площі зрізу альвеоли, заповненої гіаліновими мембранами;

4 - виділена з допомогою інструменту "Polygon Selection" площа зрізу альвеоли, заповненої гіаліновими мембранами;

15 5 - активована кнопка інструменту "Polygon Selection" (з'єднання контрольних точок).

За стандартною методикою проводять зафарбовування гематоксилином-еозином зрізів досліджуваної легеневої паренхіми. Під час патогістологічного дослідження отриманих препаратів дослідник відбирає найбільш показові ділянки предметного скельця. З допомогою цифрової фотокамери, адаптованої до оптичного мікроскопу, виконують мікрофотографії відібраних ділянок гістологічного препарату. Отримані цифрові мікрофотографії зберігають у пам'яті персонального комп'ютера у будь-якому з доступних форматів (tiff, gif, jpeg, png, dicom, bmp, pgm, fits), які підтримує специфікація цифрової фотокамери. Розрахунок площі поверхні зрізу мікрофотографії, які заповнені гіаліновими мембранами, проводять з допомогою спеціального програмного забезпечення - програми ImageJ. ImageJ - це безкоштовна комп'ютерна програма з відкритим кодом, яка працює в операційних системах Windows та Linux. Програма ImageJ безкоштовно розповсюджується національним інститутом здоров'я США та може бути завантажена за адресою: <http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html>. Робочий інтерфейс програми ImageJ представлений на рис.

30 Алгоритм розрахунку індексу розповсюдження гіалінових мембран в альвеолах, згідно з корисною моделлю, наступний.

По-перше, додають зображення мікрофотографії до робочого інтерфейсу програми ImageJ 1.48v (команди Fill => Open) у будь-якому із доступних форматів графічного файлу (рис.).

По-друге, визначають площу мікрофотографії, яка заповнена гіаліновими мембранами. Для цього проводять виділення відповідної ділянки мікрофотографії (4) з допомогою інструментів "Polygon Selection" (з'єднання контрольних точок - (5), "Freehand Selection" (обведення довільною кривою) або "Wand tool" (виділення суміжних кольорів). Площу виділеного замкненого контуру зрізу гіалінової мембрани визначають з допомогою команди "Analyze" => "Measure", яка виводить таблицю з розрахунковими цифровими даними (площа контуру - "Area"). Отримане цифрове значення наведене, за замовчуванням, у пікселях (3).

40 По-третє, визначають площу мікрофотографії, яка обмежує контури повітроносної порожнини альвеоли. Для цього, за вищеописаним алгоритмом, обводять контур (2) та визначають конкретне числове значення загальної площі респіраторної частини альвеоли (1).

По-четверте, розраховують індекс розповсюдження гіалінових мембран в альвеолах. Для цього визначають співвідношення отриманого числового значення площі гіалінових мембран на зрізі (16937 пікселів) і загальної площі повітроносних порожнин альвеоли (85882 пікселів). При цьому, одиниці вимірювання числового значення такої площі (піксели, міліметри, мікрометри) не мають значення, оскільки індекс розповсюдження гіалінових мембран в альвеолах є показником співвідношення. Таким чином, розрахункове значення індексу розповсюдження гіалінових мембран в альвеолах на мікрофотографії, зображеній на рис. становить 0,197 (тобто, 16937 розділити на 85882) або 19,7 %.

50 Проведення морфометричного аналізу розповсюдженості гіалінових мембран в альвеолах, згідно з корисною моделлю, має наступні переваги:

- спосіб має об'єктивний характер, оскільки не залежить від суб'єктивної інтерпретації дослідником фактичного патоморфологічного матеріалу, а отримані результати морфометричних досліджень без додаткових видатків можуть бути задокументовані у цифровому форматі;

60 - спосіб характеризується математичною точністю, оскільки дає можливість отримати конкретне числове значення індексу розповсюдження гіалінових мембран в альвеолах, яке може використовуватися при проведенні параметричного статистичного зіставлення отриманих результатів;

- спосіб має кількісний характер, оскільки дозволяє отримати конкретну параметричну характеристику ступеня розповсюдженості гіалінових мембран в альвеолах - індекс розповсюдженості гіалінових мембран в альвеолах (співвідношення між площею зрізу альвеоли, заповненою гіаліновими мембранами, і загальної площі зрізу респіраторного відділу альвеоли);

- спосіб є стандартизованим, оскільки базується на використанні єдиної комп'ютерної програми з вільним кодом та дає можливість проводити співставлення результатів морфометричного аналізу виконаного різними дослідниками, навіть у віддаленому доступі;

- запропонований спосіб дає можливість проводити точний науковий порівняльний аналіз розповсюдження гіалінових мембран в просвіті альвеол у різних пацієнтів;

- запропонований спосіб має високий рівень відтвореності, оскільки не залежить від суб'єктивного сприйняття морфологічних знахідок дослідником та обчислюється з використанням сучасних комп'ютерних технологій;

- результати морфометричного аналізу розповсюдженості гіалінових мембран в альвеолах за запропонованим способом можуть бути використані при інтерпретації результатів клініко-морфологічних досліджень, оскільки відповідають фундаментальним засадам доказової медицини;

- спосіб є точним і простим у виконанні, не потребує спеціальних навичок та тривалого досвіду роботи.

Запропонований спосіб застосовувався при аналізі 518 мікрофотографій від 189 пацієнтів, які померли від важких форм грипу H_1N_1 . В усіх випадках вдалося отримати конкретне значення індексу розповсюдженості гіалінових мембран в альвеолах та встановити кореляційний зв'язок між тяжкістю перебігу захворювання (проявами дихальної недостатності) та розповсюдженістю гіалінових мембран в просвіті альвеол у померлих (величиною індексу розповсюдженості гіалінових мембран в альвеолах). При вибіркового повторному аналізі 72 мікрофотографій, згідно зі способом-прототипом, суттєвих відхилень в отриманих показниках не виявлено.

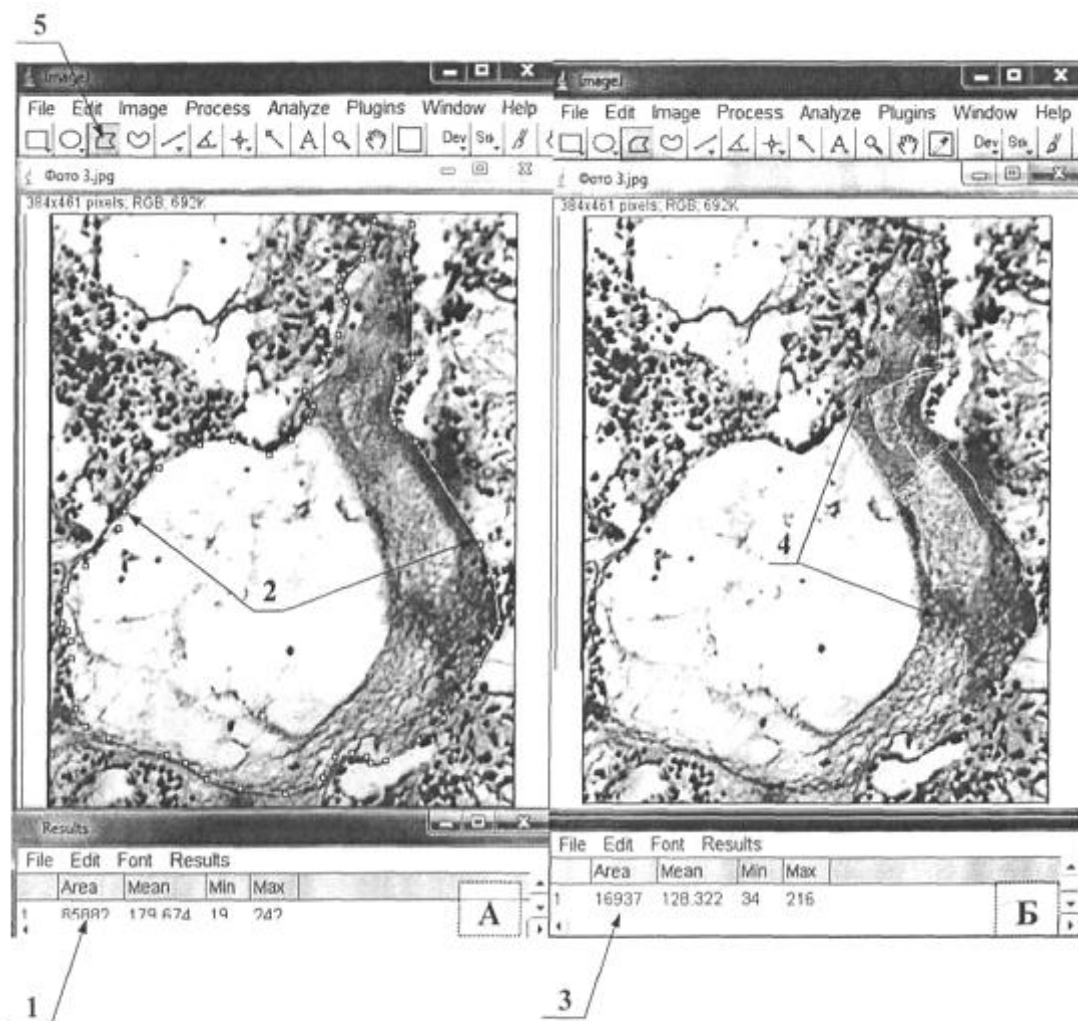
Спосіб, що заявляється, був апробований на базі кафедри патологічної анатомії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Отримані позитивні результати дають підстави рекомендувати цей спосіб у широку медичну практику.

Джерело інформації:

1. Медицинская морфометрия / Под. ред. Г.Г. Автандилова. - М: Медицина, 1990. - 382 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб морфометричного аналізу розповсюдженості гіалінових мембран в альвеолах при дифузному альвеолярному ураженні, що передбачає визначення наповненості просвіту альвеол гіаліновими мембранами при аналізі гістологічних препаратів, пофарбованих гематоксиліном-еозином, який **відрізняється** тим, що морфометричний аналіз легеневої паренхіми проводять шляхом розрахунку індексу розповсюдження гіалінових мембран в альвеолах з використанням комп'ютерної програми ImageJ, як співвідношення площі зрізу альвеоли, заповненої гіаліновими мембранами, і площі зрізу загальної респіраторної частини альвеоли.



Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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

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