



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **41934** (13) **U**
(51) МПК (2009)
G01N 1/28МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС**
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ТРИВАЛОСТІ ПОСТРЕАНІМАЦІЙНОГО ПЕРІОДУ ПІСЛЯ ФІБРИЛЯЦІЇ ШЛУНОЧКІВ**

1

2

(21) u200902861

(22) 27.03.2009

(24) 10.06.2009

(46) 10.06.2009, Бюл.№ 11, 2009 р.

(72) ДІБРОВА В'ЯЧЕСЛАВ АНДРІЙОВИЧ, ЦЕМА
ЄВГЕН ВОЛОДИМИРОВИЧ(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

(57) Спосіб визначення тривалості постреанімаційного періоду після фібриляції шлуночків, що передбачає дослідження морфології серцевого м'яза, який **відрізняється** тим, що визначають відносний об'єм мітохондрій кардіоміоцитів, середню кількість органел на тестовій площині зрізу та питомий об'єм мітохондрій і при зміні цих показників визначають тривалість постреанімаційного періоду після фібриляції шлуночків.

Корисна модель стосується медицини, а саме патоморфології, і може бути використана для точного визначення тривалості постреанімаційного періоду після перенесеної 10-15-хвилинної фібриляції шлуночків.

Відомий спосіб визначення тривалості постреанімаційного періоду після перенесеної фібриляції шлуночків заснований на виявленні ультраструктурних змін кардіоміоцитів серцевого м'язу реанімованої тварини [1-3], обраний нами в якості прототипу.

Способу властиві наступні недоліки:

суб'єктивність інтерпретації виявлених морфологічних змін в кардіоміоцитах серцевого м'язу, виявлених при світловій мікроскопії;

критерії оцінки та інтерпретації виявлених морфологічних змін в кардіоміоцитах серцевого м'язу мають лише якісний характер, а тому їх оцінка в значній мірі залежать від досвіду дослідника, що призводить до неоднозначного тлумачення отриманих результатів;

відсутні кількісні морфологічні критерії визначення тривалості постреанімаційного періоду;

методи засновані на даних, отриманих при світлооптичній мікроскопії, тоді як перші зміни, які визначають тривалість постреанімаційного періоду виникають в мітохондріях кардіоміоцитів, які можливо виявити лише на ультраструктурному рівні.

Задачею корисної моделі є розробка більш інформативного способу визначення тривалості постреанімаційного періоду після перенесеної клінічної смерті.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі визначення тривалості постреанімаційного періоду після перенесеної фібриляції, що передбачає дослідження кардіоміоцитів серцевого м'язу, згідно корисної моделі визначають відносний об'єм мітохондрій кардіоміоцитів, середню кількість органел на тестовій площині зрізу та питомий об'єм мітохондрій і при зміні цих показників визначають тривалість постреанімаційного періоду після фібриляції шлуночків.

Суть корисної моделі полягає у тому, що тривалість постреанімаційного періоду після перенесеної 10-15-хвилинної фібриляції шлуночків серця визначається за змінами в ультраструктурі мітохондрій кардіоміоцитів, які визначається з допомогою морфометрії при електронній мікроскопії пореанімованого серцевого м'язу, оскільки саме в цій органелі виникають найперші структурні зміни, які є наслідком порушення в енергосинтезуючому апараті клітини.

Спосіб виконується наступним чином.

У тварини, яка перенесла 10-15-хвилинну клінічну смерть в наслідок фібриляції шлуночків проводять пункційну біопсію серцевого м'язу. Матеріал для ультраструктурного аналізу беруть з міокарду передньої стінки лівого шлуночку серця в її безсудинній зоні. Всього беруть 6-8 шматочків тканини міокарду. Фіксацію шматочків проводять в 2,5 % розчині глютаральдегіду на фосфатному буфері за Міллонігом. Ультрамикротомію проводять з допомогою ультратому LKB-8802. Ультраструктуру кардіоміоцитів вивчають на електронному мікроскопі JEM-100B. Ультраструктурний

(13) **U**
(11) **41934**
(19) **UA**

морфометричний аналіз мітохондрій кардіоміоцитів проводять з допомогою методу точково-розрахункової об'ємометрії. Визначають наступні кількісні морфометричні показники: відносний об'єм мітохондрій кардіоміоцитів, середню кількість органел на тестовій площині зрізу (обмеженого 100 точками решітки) та питомий об'єм мітохондрій. За результатами проведеного ультраструктурного морфометричного аналізу, відповідно до отриманих кількісних показників роблять висновок про тривалість постреанімаційного періоду, тобто часу який пройшов від моменту закінчення фібриляції шлуночків до моменту взяття біоптату тканин міокарду. При визначенні тривалості постреанімаційного періоду необхідно керуватися наступними морфометричними критеріями.

Зміни міокарду через 1 годину після перенесеної 10-15-хвилинної фібриляції шлуночків серця відповідають наступним морфометричним показникам: відносний об'єм мітохондрій і середня кількість органел на тестовій площині зрізу більша в 1,48-1,62 рази від норми, ознак деструкції мітохондрій не має, проте визначаються ознаки гіперплазії: впорядкування типової архітекtonіки крист та нормалізація щільності матриксу, як показників репродуктивних процесів у органелі; розмноження мітохондрій кардіоміоцитів внаслідок поперечного їх поділу або брунькування.

Зміни міокарду через 4 години після перенесеної 10-15-хвилинної фібриляції шлуночків серця відповідають наступним морфометричним показникам: відносний об'єм мітохондрій і середня кількість органел на тестовій площині зрізу більша в 1,19-1,37 рази від норми, питомий об'єм мітохондрій в 1,17-1,23 рази менший від норми, з'являються ознаки деструкції мітохондрій: набуханням органел, просвітленням їх матриксу, незначна фрагментація з ушкодженням крист.

Зміни міокарду через 9 годин після перенесеної 10-15-хвилинної фібриляції шлуночків серця відповідають наступним морфометричним показникам: відносний об'єм мітохондрій і середня кількість органел на тестовій площині зрізу більша в 1,47-1,65 рази від норми, є ознаки незворотної деструкції мітохондрій кардіоміоцитів: різка деструкція та гомогенізація крист, вакуолізація матриксу мітохондрій, зникнення двоконтурності біліпідного шару органел, руйнування зовнішньої оболонки мітохондрій.

Зміни міокарду через 24 години після перенесеної 10-15-хвилинної фібриляції шлуночків серця відповідають наступним морфометричним показникам: відносний об'єм мітохондрій і середня кількість органел на тестовій площині зрізу відповідає нормальним величинам, ознаки деструкції мітохондрій відсутні, чітко визначаються ознаки гіперплазії мітохондріальних структур: ультраструктурна архітекtonіка крист типова, щільність матриксу відповідає нормальним величинам, виявляється багато молодих органел, які утворилися в наслідок їх поперечного поділу або брунькування.

Запропонований спосіб, на відміну від способу-прототипу, ґрунтується на конкретних кількісних морфометричних характеристиках ультраструктури кардіоміоцитів, тому носить об'єктивний характер. Крім того, визначення тривалості постреані-

маційного періоду, згідно з корисною моделлю, засноване на ультраструктурних змінах в енергосинтезуючому апараті кардіоміоцитів (мітохондріях), тому є більш чутливим, і дозволяє визначити найперші ультраструктурні зміни в кардіоміоцитах, які ще не можливо виявити на світлооптичному рівні дослідження, а тому є більш точним методом, порівняно з способом-прототипом.

Приклад: у безпорідної собаки чоловічої статі вагою 7,2 кг змодельована клінічна смерть у результаті механічної асфіксії (шляхом перекриття інтубаційної трубки), яка викликала 14-хвилинну фібриляцію шлуночків серця. Методика знеболення та позбавлення тварини життя відповідали "Правилам виконання робіт з використанням експериментальних тварин" затверджених наказом МОЗ України. Реанімацію тварини проводили за допомогою модифікованого методу С.С. Брюхоненка (методу донорського штучного кровообігу). Через 1, 4 та 9 годин (препарати промарковані як зразок міокарду №1, 2, 3) після реанімації у тварини взята біопсія міокарду. Проведено сліпий морфометричний аналіз отриманих біоптатів за способом, згідно корисної моделі, при чому дослідник не знав в які строки після реанімації був взятий кожний зі зразків тканин міокарду. При електронномікроскопічному дослідженні препаратів міокарду зразка №1, отримані наступні дані: відносний об'єм мітохондрій був в 1,54 рази більший за норму, середня кількість органел на тестовій площині зрізу в 1,61 рази більша від норми, ознак деструкції мітохондрій не виявлено, ультраструктурна архітекtonіка крист мітохондрій типова, щільності матриксу відповідає нормі, визначається значна кількість мітохондрій з поперечною перетяжкою (поперечний поділ) та органел, що діляться шляхом брунькування. Згідно запропонованих критеріїв корисної моделі, зроблено висновок, що зразки міокарду №1 були взяті від тварини через 1 годину після фібриляції шлуночків серця. При дослідженні препаратів міокарду зразка №2, отримані наступні дані: відносний об'єм мітохондрій перевищував норму в 1,32 рази, середня кількість органел на тестовій площині зрізу більша від норми в 1,27 рази, питомий об'єм мітохондрій в 1,22 рази менший від норми, визначаються ознаки деструкції органел: зменшення щільності матриксу мітохондрій, їх набухання, атипова ультраструктурна архітекtonіка крист мітохондрій за рахунок їх фрагментації. Згідно запропонованих критеріїв корисної моделі, зроблено висновок, що представлені зразки міокарду №2 були взяті від тварини через 4 години після фібриляції шлуночків серця. При дослідженні препаратів міокарду №3, отримані наступні дані: відносний об'єм мітохондрій більший в 1,54 рази, середня кількість органел на тестовій площині зрізу в 1,57 разів перевищує норму, в значній кількості мітохондрій мають місце ознаки незворотної їх деструкції: деструкція та гомогенізація крист, вакуолізація матриксу мітохондрій, зникнення двоконтурності біліпідного шару органел, руйнування зовнішньої оболонки мітохондрій. Згідно запропонованих критеріїв корисної моделі, зроблено висновок, що представлені зразки міокарду №3 були взяті від тварини через 9 годин після фібриляції шлуночків серця. Таким чином, визна-

чена, з допомогою запропонованого способу, тривалість постреанімаційного періоду збігаються з реальним часом взяття препаратів після перенесеної 14-хвилинної фібриляції шлуночків. Отримані препарати міокарду досліджені з допомогою світлооптичної мікроскопії, згідно способу-аналогу, зроблені наступні висновки: зразок міокарду №1 – міокард тварини, яка не переносила фібриляцію шлуночків, зразок міокарду №2 – міокард тварини на 2-гу годину після реанімації, зразок міокарду №3 – міокард тварини на 7-му годину після перенесеної фібриляції шлуночків серця. Таким чином, встановлені критерії, згідно способу-аналогу, не відповідають реальній тривалості постреанімаційного періоду.

За запропонованим способом досліджено міокард 17 тварин, в усіх випадках визначена тривалість постреанімаційного періоду збігалася з реальним часом, який пройшов після 10-15 хвилинної

фібриляції шлуночків серця. При дослідженні міокарду у цих тварин, згідно способу-прототипу, в 64,7 % усіх випадків встановлена тривалість постреанімаційного періоду була на 1-3 години меншою від реального значення.

Література:

1. Золотокрылина Е.С. Стадии постреанимационной болезни у больных с массивной кровопотерей и травмой // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1987. – вып. 3. – С.30-34.

2. Неговский В.А., Гурвич А.М., Золотокрылина Е.С. Постреанимационная болезнь. – М.: Медицина, 1979. – 384с.

3. Неговский В.А., Золотокрылина Е.С. Вопросы патогенеза постреанимационной болезни // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1980. – вып. 3. – С.3-11.