



УКРАЇНА

(19) UA (11) 28980 (13) U
(51) МПК (2006)
A61B 8/00
A61B 10/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ КОМПЛЕКСНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУР ДІЛЯНКИ ХРЕБЕТНОГО СТОВПА В ПРЕНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ ЛЮДИНИ

1

(21) u200710221

(22) 13.09.2007

(24) 25.12.2007

(72) КРИВЕЦЬКИЙ ВІКТОР ВАСИЛЬОВИЧ, UA,
КРИВЕЦЬКА ІННА ІВАНІВНА, UA

(73) БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ
ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ, UA

(56)

(57) 1. Спосіб комплексного дослідження структур ділянки хребетного стовпа в пренатальному періоді онтогенезу шляхом виготовлення та дослідження макро- та мікропрепаратів зрізів ділянки хребетного стовпа, який **відрізняється** тим, що додатково проводять виготовлення топографо-анатомічних зрізів, графічних та пластичних реконструктивних моделей, ін'єкцію судин та стереофотографування, комп'ютерну томографію, магнітно-резонансну томографію, цифрову реєстрацію даних з наступним проведенням морфометричних вимірювань та кореляційно-регресивний аналіз цифрових показників.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що мікропрепарати структур ділянки хребетного стовпа виготовляють після фіксування у 5-6 % розчині нейтрального формаліну впродовж 15 діб, промивають у проточній воді 1-2 доби, занурюють на 24 години в 35° спирт та тотально фарбують борним карміном протягом 1-3 діб залежно від розміру препарату, виконують зневоднення шляхом проведення через батарею спиртів зростаючої концентрації, заливають у парафін.

3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що виготовлення топографо-анатомічних зрізів структур ділянки хребетного стовпа проводять фіксацією блоків хребта у 5-6 % розчині нейтрального формаліну протягом 15 діб з наступним виготовленням топографо-анатомічних

2

зрізів у фронтальній, горизонтальній або сагітальній площині.

4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що ін'єкцію кровоносних судин проводять масою Герота, краплаку, кіноварі через черевну аорту після попередньої перев'язки вище місця ін'єкції, далі об'єкт фіксують в 10 % розчині формаліну протягом 3-7 днів, після цього препарати відбілюють в 3 % розчині перекису водню, промивають, проводять через батарею спиртів у напрямку збільшення міцності, просвітлюють в метиловому ефірі саліцилової кислоти, далі виконують гістологічні зрізи, які вивчають за допомогою біокулярного мікроскопа МБС-10.

5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що для ін'єкції з наступною рентгенографією як рентгенконтрастні маси використовують сурик та свинцеві білила.

6. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що після ретельного вивчення серій гістологічних препаратів під мікроскопом відбирають, підраховують гістологічні зрізи, які за допомогою мікропроекційного апарата проєктують на воскові пластини, з яких виготовляють пластичні реконструкції ділянки хребетного стовпа.

7. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що виготовляють стереопари зрізів ділянки хребетного стовпа і за допомогою окулярів отримують стереоефект.

8. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що цифрову реєстрацію даних здійснюють за допомогою цифрових камер Nikon 4300 та Olympus 4000, з наступними морфометричними вимірюваннями структур ділянки хребетного стовпа за допомогою програми Відеотест-Розмір 5.0.

9. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вивчення ділянки хребта здійснюють шляхом магнітно-резонансного та комп'ютерно-томографічного дослідження.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до морфології, гістології, ембріології та

судової медицини і може бути використана для більш досконалого вивчення структур ділянки

(13) U

(11) 28980

(19) UA

хребетного стовпа в пренатальному періоді онтогенезу людини.

Інтерес до вивчення закономірностей, які визначають структуру і функцію органів і тканин, значно виріс у зв'язку з тим, що досягнення медицини в лікуванні ряду захворювань на перший план висунули разом з серцево-судинними і пухлинними, боротьбу з природженими захворюваннями, причини яких необхідно шукати у внутрішньоутробному періоді розвитку. Цим пояснюється не тільки велике теоретичне, але і практичне значення досліджень з ембріології. За даними ВООЗ (2006р.) число нових випадків природжених аномалій сягає близько 4,5млн. в рік. Із щорічно народжуваних у світі - майже 180 мільйонів малят, біля 4-5млн. з'являються на світ із серйозними природженими аномаліями, тобто є інвалідами.

Вивчення морфологічних закономірностей розвитку органів людини необхідне для правильного розуміння суті тих складних процесів, що відбуваються у період антенатального життя. Для виявлення відхилень розвитку і пояснення їх причин необхідно мати точні відомості про нормальний розвиток органів і систем. Однак знайомство з літературою з цього питання показало, що відомості про розвиток хребетного стовпа, його відділів і паравертебральних структур - ще мало вивчений розділ вікової морфології.

Незважаючи на велику кількість робіт, присвячених морфології хребетного стовпа, багато питань ще недостатньо вивчені. Зокрема це відноситься до формування хребетного стовпа, його з'єднань, формування хребців різних відділів, каналу хребтового стовпа, а також співвідношення із суміжними паравертебральними структурами.

Проблема антенатальної охорони плода, який розвивається, особливо гостро стоїть сьогодні, коли значно виріс пошкоджуючий вплив факторів зовнішнього середовища, в тому числі екологічних.

Ретроспективний аналіз літератури і особливо досвіду морфологічних досліджень анатомічної школи Буковини [Ахтемічук Ю.Т. 2006, Макар Б.Г. 2006] вказує на те, що комплексні морфологічні дослідження органів в пренатальному періоді онтогенезу з наступним їх аналізом і статистичною обробкою надають клініцистам і діагностам (УЗД, КТ, МРТ) цінну інформацію.

Комплексне дослідження особливостей розвитку, становлення топографії структур ділянки хребетного стовпа в пренатальному періоді онтогенезу та новонароджених людини має важливе значення для з'ясування морфологічних передумов та часу можливого виникнення їх природжених вад з метою розробки нових, більш раціональних методів їх хірургічної корекції.

Існуючі методи дослідження хребетного стовпа в пренатальному періоді онтогенезу передбачають дослідження макроскопічних або мікроскопічних параметрів органа. Це не дозволяє всебічно оцінити становлення топографії ділянки хребетного стовпа в пренатальному періоді онтогенезу та повністю і всебічно описати цей процес.

Прототипом винаходу є спосіб дослідження хребетного стовпа у пренатальному періоді онтогенезу шляхом виготовлення та дослідження макро- та мікропрепаратів зрізів ділянки хребетного стовпа [Хабилов Ф.А. Клиническая неврология позвоночника - Казань, 2001, - 472с.]. Спосіб-прототип здійснюється наступним чином: проводять макроскопічне та мікроскопічне дослідження з метою оцінки стану хребетного стовпа. Недоліками прототипу є те, що за допомогою тільки макро- та мікроскопічного дослідження неможливо отримати об'єктивну картину розвитку структур хребетного стовпа в онтогенезі людини.

Нами пропонується спосіб, що усуває вказані недоліки.

В основу корисної моделі поставлене завдання удосконалити спосіб комплексного дослідження структур ділянки хребетного стовпа в пренатальному періоді онтогенезу людини шляхом додаткового дослідження методом пластичних і графічних реконструкцій, проведення стереофотографування, МРТ, КТ, методом цифрової реєстрації даних, проведення морфометричних вимірювань, методом ін'єкції судин з наступним просвітленням або рентгенографією для забезпечення об'єктивного дослідження усіх особливостей закладки органів та тканин.

Поставлене завдання вирішується тим, що у спосіб комплексного дослідження структур ділянки хребетного стовпа в пренатальному періоді онтогенезу шляхом виготовлення та дослідження макро- та мікропрепаратів зрізів ділянки хребетного стовпа, згідно до корисної моделі, додатково проводять виготовлення топографо-анатомічних зрізів, графічних та пластичних реконструктивних моделей, ін'єкцію судин та стереофотографування, комп'ютерну томографію, магнітно-резонансну томографію, цифрову реєстрацію даних з наступним проведенням морфометричних вимірювань та кореляційно-регресивний аналіз цифрових показників. Спосіб за п. 1 який відрізняється тим що мікропрепарати структур ділянки хребетного стовпа виготовляють після фіксування у 5-6% розчину нейтрального формаліну впродовж 15 діб, промивають у проточній воді 1-2 доби занурюють на 24 години в 35° спирт та тотально фарбують борним карміном протягом 1-3 діб залежно від розміру препарату, виконують зневоднення шляхом проведення через батарею спиртів зростаючої концентрації, заливають у парафін. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що виготовлення топографо-анатомічних зрізів структур ділянки хребетного стовпа проводять фіксацією блоків хребта у 5-6% розчині нейтрального формаліну протягом 15 діб з наступним виготовленням топографо-анатомічних зрізів у фронтальній, горизонтальній або сагітальній площині. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що ін'єкцію кровоносних судин проводять масою Герота, крапка, кіновара через черевну аорту після попередньої перев'язки вище місця ін'єкції, надалі об'єкт фіксують в 10% розчині

формаліну протягом 3-7 днів, після цього препарати відбілюють в 3% розчині перекису водню, промивають, проводять через батарею спиртів у напрямку збільшення міцності, просвітлюють в метиловому ефірі саліцилової кислоти, далі виконують гістологічні зрізи, які вивчають за допомогою біокулярного мікроскопа МБС-10. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що для ін'єкції з наступною рентгенографією в якості рентгенконтрастних мас використовують сурик та свинцеві білила. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, після ретельного вивчення серій гістологічних препаратів під мікроскопом відбирають, підраховують гістологічні зрізи, які за допомогою мікропроекційного апарата проєктують на воскові пластини, з яких виготовляють пластичні реконструкції ділянки хребетного стовпа. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що виготовляють стереопари зрізів ділянки хребетного стовпа і за допомогою окулярів отримують стереоефект. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що цифрову реєстрацію даних здійснюють за допомогою цифрових камер Nikon 4300, та Olimpus 4000, з наступними морфометричними вимірювання структур ділянки хребетного стовпа за допомогою програми Відеотест-Розмір 5.0. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що вивчення ділянки хребта здійснювали шляхом магнітно-резонансного та комп'ютерно-томографічного дослідження.

Спосіб здійснюється наступним чином.

Після проведення вимірювання тім'яно-куприкової довжини свіжих трупів зародків і передплідів людини ранніх стадій розвитку, останні фіксують в 5-6% розчині нейтрального формаліну протягом 15 діб. Після фіксації об'єкт протягом 1-2 діб промивають у проточній воді, потім занурюють на 24 години в 35° спирт, після чого тотально фарбують борним карміном протягом 1-3 діб (залежно від розміру препарату). Зневоднення об'єктів виконують шляхом проведення їх через батарею спиртів зростаючої концентрації (від 30° до абсолютного спирту включно). Препарати заливають у парафін. Проміжним середовищем між спиртом і парафіном був хлороформ.

Починаючи з передплідів 18,0мм тім'яно-куприкової довжини, препарати декальцинують, спочатку занурюючи у 7% розчин азотної кислоти на 24-72 години, після чого, з метою попередження набряку сполучної тканини, витримують протягом 24-30 годин у 5% розчині сульфату натрію і промивають у проточній воді протягом доби.

З парафінових блоків шматочків тканини готують серії гістологічних зрізів товщиною 5-10мкм. Виготовлення серійних гістологічних зрізів проводять в одній з трьох площин тіла зародка - сагітальній, горизонтальній або фронтальній, що дає можливість вивчити не тільки будову окремих структур але й їх гістотопографію.

Співставлення одержаних даних дає можливість найбільш об'єктивно вивчити будову усіх відділів хребетного стовпа і їх взаємовідношення з оточуючими структурами. Для отримання диференційованого поліхромного

забарвлення різних тканин застосовують додаткове фарбування зрізів на предметних скельцях гематоксиліном і еозином, лійонською синькою, пікрофуксином, індігокарміном за загальноприйнятими методиками. Імпрегнацію симпатичного стовбура і спинномозкових нервів проводили за методом Більшовського-Грос. Після закінчення зрізів в канадський бальзам вивчають препарати під мікроскопом з наступною цифровою реєстрацією даних за допомогою цифрової камери Nikon 4300, та Olimpus 4000.

Для виготовлення пластичних і графічних реконструкцій при вивченні особливостей форми, розташування, напрямку, направлення і синтопії структур ділянки хребетного стовпа на ранніх стадіях пренатального розвитку використовують метод пластичної реконструкції.

Для проведення макроскопічного дослідження фіксовані в розчині формаліну трупи передплідів, плідів і новонароджених промивають протягом 1-2 діб у проточній воді. Потім скальпелем обережно здійснюють доступ до органів грудної і черевної порожнин.

Методом тонкого препарування добираються до органів ділянки хребетного стовпа. Проводять морфометричні дослідження структур ділянки хребетного стовпа, вивчають розташування із суміжними структурами. Препарують та досліджують кровоносні судини та нерви в паравертебральній ділянці.

Для вивчення топографо-анатомічних особливостей хребетного стовпа мікротомним ножом з накрученою ручкою проводять розтин у паравертебральній ділянці у фронтальній, горизонтальній або сагітальній площинах. Це дає можливість дослідити розташування та взаємовідношення хребців усіх відділів хребта з іншими компонентами ділянки хребетного стовпа.

Для вивчення артеріальних судин, які проходять в ділянці хребетного стовпа, використовують метод ін'єкції з наступним просвітленням або рентгенографією.

У першому випадку в якості контрастних мас використовують масу Герота, крапак, кіновар. Фарби готують на хлороформі і вводять через черевну аорту після попередньої перев'язки вище місця ін'єкції. Спочатку вводять рідку масу для заповнення дрібних судин, а потім більш густу, що дає можливість рівномірно заповнювати як дрібні, так і великі судини. Надалі об'єкт фіксують в 10% розчині формаліну протягом 3-7 днів. Після цього препарати відбілюють в 3% розчині перекису водню, промивають, проводять через батарею спиртів у напрямку збільшення міцності, просвітлюють в метиловому ефірі саліцилової кислоти. Далі виконують гістологічні зрізи, які вивчають за допомогою біокулярного мікроскопа МБС-10.

Для ін'єкції з наступною рентгенографією в якості рентгенконтрастних мас використовують фарби - сурик, свинцеві білила.

Метод стереофотографування передбачає виготовлення та перегляд стереопар при допомозі окулярів для отримання стереоефекту при

вивченні та описі топографо-анатомічних взаємовідношень структур, які вивчаються.

Для виготовлення стереопар об'єкт, який досліджується, фотографують з двох боків під кутом 7° - 9° до вертикальної осі. В подальшому виготовлені стереопари, після друкування фотографій, максимально співставляють і розміщують таким чином, щоб відстань між однаковими структурами на стереопарах не перевищувала 6,5-7,0 см.

Морфометричні вимірювання проводять за допомогою програми Відео-тест - Розмір 5.0, яка призначена для роботи із зображеннями, а також серіями зображень у складі одного документа. Програма забезпечує широкі можливості для проведення вимірювань, редагування і перетворення зображень.

Вводили зображення за допомогою цифрових камер Nikon 4300, та Olympus 4000 (8, 10, 12, 16 бітових), сканера, відкриття зображень з файлів, копіювання з буфера.

За допомогою програми працюють з серією зображень, що відносяться до одного експерименту, зразка або препарату, і результатами їх вимірювань у складі одного документа.

Проведення МРТ та КТ проводять за стандартними методами.

Даний спосіб був апробований на кафедрі анатомії людини Буковинського державного медичного університету при виконанні планової НДР «Статеві-вікові закономірності будови і топографо-анатомічних взаємовідношень органів та структур в онтогенезі людини. Особливості вікової та статевої ембріотопографії» (№ держреєстрації - 01050002927, шифр - ІН.07.00.0001.05). Було досліджено 225 біологічних об'єктів людини. Це дозволило якісно оцінити розвиток та становлення ділянки хребетного стовпа і отримати нові наукові дані.

Технічний результат. Таке поєднання вищезазначених методів морфологічного дослідження дає можливість вивчити досить складні та різнобічні процеси закладки, розвитку, формоутворення, динаміку становлення ембріотопографії ділянки хребетного стовпа з наступним визначенням термінів і механізмів можливих відхилень в їх розвитку у внутрішньоутробному періоді життя, впливу судинних та нервових елементів на диференціювання компонентів ділянки хребетного стовпа.