



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 44406

(13) A

(51) B 6 A61B10/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ МОРФОЛОГІЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ СТАНУ СУГЛОБА

1

(21) 2000052666

(22) 11 05 2000

(24) 15 02 2002

(46) 15 02 2002, Бюл. № 2, 2002 р.

(72) Боброва Олена Олексійовна, Дзяк Георгій
Вікторович, Дроздов Олексій Леонидович,
Палієнко Людмила Олексійовна(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧ-
НА АКАДЕМІЯ(57) Спосіб морфологічного визначення стану
суглоба, що передбачає виготовлення серії зрізів
капсули суглобів, їх фарбування і мікроскопічне
визначення показників з наступною оцінкою ре-
зультатів, який відрізняється тим, що додатково
в серії зрізів виявляють кількість судин і тканин-
них базofilів, розраховують їх співвідношення

2

на одну судину, визначають індекси насичування
та дегрануляції як функціональні показники стану
популяції цих клітин, при цьому по збільшенню
співвідношення і/або менш виразній зміні дисба-
лансу функціональних показників у
гіпертрофованій капсулі виявляють термінальну
стадію ураження суглоба при остеоартрози, а по
зменшенню співвідношення і/або по більш вираз-
ному дисбалансу функціональних показників у
вогнищах хронічного запалення чи грануляціях в
склерозованій капсулі - стадію ураження суглоба
при ревматоїдному артриті, з урахуванням того,
що оцінку проводять відносно контрольних по-
казників, які встановлюються по незмінній кап-
сулі нормального суглоба

Винахід відноситься до медицини, переважно
до методів діагностики, що здійснюються з вико-
ристанням біологічних клітин і може бути вико-
ристаним для визначення патологічних відхилень
стану тканин суглобів від норми

В діагностичній практиці стан тканин досить
часто аналізується за допомогою кількісних діаг-
ностичних критеріїв, що характеризують життеді-
яльність різних клітин, що утворюють тканини [1-
3] Але, використання багатьох із них обмежено,
здебільшого специфічністю показників

Відомий спосіб морфологічного визначення
стану суглобу, що містить виділення з нього си-
новіальної рідини з наступною оцінкою клітинного
вмісту [4] Проте, його використання стримується
в зв'язку з тим, що клітинний стан вмісту синові-
альної рідини може бути характерним лише для
раннього періоду перебігу захворювання

Найбільш приближеним по технічному вирі-
шенню задачі й максимальній кількості істотних
ознак до об'єкта, який заявляється, є спосіб мо-
рфологічного визначення стану суглобу, що міс-
тить вироблення серії зрізів капсули суглобів, їх
фарбування і мікроскопічне визначення показни-
ків з наступною оцінкою результатів, відповідно з
яким, зразки капсули отримують при здійсненні
оперативного втручання при ендопротезуванні,

що проводиться в термінальній стадії ураження
суглобів, і фарбують надалі толуїдиновим синім
фарбувачем після включення в парафін, а насту-
пну оцінку патологічного стану зразків суглобної
капсули здійснюють на підставі опису результатів
мікроскопічної візуалізації та призначення стадії
ураження суглобу, у залежності від складності
патологічних обставин [5]

До причини, що стримує досягнення заявле-
ного технічного результату належить відсутність
визначення кількісних показників, як критеріїв
оцінки діагнозу, що спроможні надати досліджен-
ню об'єктивний напрямок, а внаслідок цього, під-
вищити точність визначення стану суглоба У
більшості випадків отримані результати потребу-
ють подальшого уточнення шляхом співставлен-
ня отриманих результатів з результатами альтер-
нативних методів обстеження хворих,
наприклад, рентгенологічних, радіоімунологічних
тощо

До основи удосконалення відомого способу
визначення стану суглобу поставлена задача
підвищити об'єктивність й точність оцінки шляхом
визначення кількісних і функціональних показни-
ків, що відповідають стадії ураження суглобу, при
використанні

Означений технічний результат досягається

(13) A

(11) 44406

(19) UA

тим, що у відомому способі визначення стану суглоба, що містить вироблення серії зрізів капсульним суглобів, їх фарбування і мікроскопічне визначення показників з наступною оцінкою результатів, особливість полягає в тому, що додатково в серії зрізів виявляють кількість судин і тканинних базофілів, розраховують їх співвідношення на 1 судину, визначають індекси насичування та дегрануляції як функціональні показники стану популяції цих клітин, при цьому по збільшенню співвідношення і/або менш виразній зміні дисбалансу функціональних показників у гіпертрофованій капсулі виявляють термінальну стадію ураження суглоба при остеоартрозі, а по зменшенню співвідношення і/або по більш виразному дисбалансу функціональних показників у вогнищах хронічного запалення чи грануляціях в склерозованій капсулі – стадію ураження суглоба при ревматоїдному артриті, з урахуванням того, що оцінку проводять відносно контрольних показників, які встановлюються по незмінній капсулі нормального суглоба

Права заявника розповсюджуються на можливість отримання даних для встановлення діагнозу, щодо термінальної стадії ураження суглобу при остеоартрозі (ОА), ревматоїдному артриті (РА) чи стану, що відбиває індивідуальну анатомічну норму, шляхом кількісної та функціональної оцінок або їх комбінацій поміж собою

Причинно-наслідковий зв'язок сукупності істотних ознак, що заявляється, з очікуваним технічним результатом полягає в тому, що, по-перше, мікроскопічне виявлення кількості судин і тканинних базофілів (ТБ) в серії зрізів дозволяє визначити їх взаємне співвідношення, як відносно одиницю виміру ступеня відхилення патологічного стану капсули суглобу від нормального, по-друге, визначення індексів насичування та дегрануляції, як функціональних показників популяції клітин в патологічно уражених капсулах, сприяє отриманню більш ефективного відокремлювання термінальних стадій ураження суглобу при РА та ОА, що за сукупними даними дозволяє кваліфікувати їх, як відносно стійкі вимірні одиниці, що відбивають стан окремих зразків капсули. Поряд із цим, розрахунок співвідношення кількості ТБ на 1 судину дозволяє виключити вплив на кількісний вміст неконтрольованих факторів, наприклад габариту, обсягу, товщини зрізів, які здатні істотно порушувати оціночні критерії дослідження

Використання пропонуємих кількісно-функціональних показників у способі діагностики надало можливість встановити закономірність виникання у гіпертрофованій та склерозованій капсулах суглобу термінальної стадії при ОА та РА, здебільшого, по змінам означених співвідношень або виразливості дисбалансів індексів, з урахуванням того, що діагностична оцінка здійснюється відносно контрольних показників, які встановлюються по незмінній капсулі нормального суглобу

Отже, сукупність істотних відокремлюючих ознак заявленого рішення задачі вважається суттєвою, бо має причинно-наслідковий зв'язок з технічним результатом, що заявляється

Зіставлення заявленого об'єкту з прототипом

свідчить про те, що діагноз суглобної патології визначається не за описом результатів мікроскопічної візуалізації аналізу і не за визначенням стадії ураження суглобу, у залежності від складності патологічних обставин, а здійснюється шляхом визначення кількісно-функціональних показників з наступним використанням останніх для оцінки результатів діагностики. Вперше надана сукупність цих показників з можливістю отримання диференційованих діагностичних результатів за рахунок оцінки кількісних, функціональних і комбінованих змін у зразках капсули, а також визначення в суглобі нормального стану, захворювання, переважно, його стадій ураження, зокрема термінальної стадії при ОА та РА, з можливістю підвищення об'єктивності й точності діагнозу у 3 – 4 рази

Таким чином, пропозиція заявника відповідає критерію винаходу «новизна»

Для підтвердження можливостей здійснення заявленого способу були досліджені фрагменти капсул тазостегнових суглобів у хворих на РА в стадії фіброзного анкілозу та ОА (ідіопатичний коксартроз) II-III ступенів

Зразки капсул одразу ж після відбору розміщували у розчин нейтрального 10% формаліну. Після фіксації, вирізували 5 – 6 поперечних шматочків для подальшої стандартної обробки та отримання серії парафінових зрізів. Після депарафінізації ці зрізи фарбували толудиновою синім фарбувачем для виявлення судин і ТБ (останні придбали після толудинового синього фарбувача метакроматичне забарвлення). На кожному зрізі при збільшенні мікроскопу у 400 разів визначали кількість судин і ТБ. Надалі розраховували їх кількість на 1 судину та наступні функціональні параметри ТБ

– індекс насичування (D_n), що характеризує інтенсивність синтезу медіаторів, за формулою

$$D_n = \frac{\sum (DT + T)}{\sum (C + DC)}, \% [a],$$

де, DT – дуже темні, T – темні, C – світлі, DC – дуже світлі клітини,

– індекс дегрануляції (D_d), що характеризує активність секреції медіаторів, з формули

$$D_d = \frac{\sum [(NTB_0 - 0) + (NTB_1 - 1) + (NTB_2 - 2) + (NTB_3 - 3)]}{\sum TK} [b],$$

де, 0,1,2,3 – форми дегрануляції (%),

NTB_i – кількість тканинних базофілів (ТБ) з даною формою секреції,

0 – не секретуючи, 1- слабо секретуючи, 2- помірні, 3 – сильно секретуючи

Отримані дані обробляли математично за методикою Ст'юдента

У зразках капсул, що відповідали нормальному стану суглобу фізично здорових осіб, ТБ знаходили в низових структурах, їхні функціональні параметри характеризувались балансом індексів насичування та грануляції, з незначним переваженням величини індексу насичування у всіх структурно-функціональних зонах ворсинках, власно синовіальній оболонці, фіброзно-м'язовому шарі капсули

Кількісні показники знаходили простим співвідношенням кількостей ТБ і судин, з отриманням значення показника на 1 судину

У зразках капсул суглобів термінальної стадії

ураження РА визначали зменшену кількість ТБ, які були повністю відсутніми у вогнищах склерозу, їх знаходили, переважно, в місцях хронічних запалень чи вогнищах грануляцій, що визначали у різних структурно-функціональних зонах потовщення капсул. Функціональні параметри популяцій ТБ в різних шарах характеризувались при цьому виразливим дисбалансом індексів насичування та дегрануляції. А у зразках капсул, що відповідали суглобам з термінальною стадією ураження ОА знаходили значне збільшення кількості ТБ. Їхні функціональні параметри характеризувались відмінністю індексів насичування та дегрануляції у гістологічних зонах капсули (визначених з урахуванням наявності структур функціональних зон в нативній капсулі): гіпертрофованих ворсинах, власно синовіальній оболонці у стані склерозу, глибоких шарах фіброзної капсули та м'язах зовнішнього шару, без виразливих змін.

При наступній оцінці результатів висновки корегували відповідно до означеної вище умови, тобто по збільшенню співвідношень і/або менш виразливий зміні дисбалансу функціональних показників у склерозованій капсулі виявляли термінальну стадію ураження суглобу при ОА, а по зменшенню співвідношень і/або по більш виразливому дисбалансу функціональних показників у вогнищах хронічного запалення чи грануляціях в гіпертрофованій капсулі – стадію ураження суглобу при РА, відносно контрольних показників, котрі встановлюються по незмінній капсулі нормального суглобу.

Приклад №1 У хворої А в стерильних умовах взяли пункцію ураженого тазостегнового суглобу. Отриманий зразок капсули взяли на стандартну обробку, а після парафінізації виконали 3 зрізи, які пофарбували толуїдиновим синім фарбувачем і під мікроскопом визначили, що на зрізах були наявними власно синовіальна оболонка та ворсини стані гіпертрофі.

Надалі, при збільшенні мікроскопу у 400 разів, виявили кількість усіх судин ($N_{суд}$) і тканинних базofilів (НТБ), визначили співвідношення ТБ на 1 судину, а також і функціональні показники – індекси насичування (D_n) та дегрануляції (D_d) за вище наданими формулами [а,б]. Результати обчислення показників на першому, другому та третьому зрізах зрізах відбито у Табл № 1,2,3, відповідно.

Дані обстеження звели у Табл. №4. Усі дані були порівняні з контролем, що був отриманий

попередньо при обстеженні зразків незмінних капсул нормальних суглобів фізично здорових осіб жіночої статі, загинувших від травм другої локалізації (Табл №5).

Заключення. Остеоартроз II-III ступеня, термінальна стадія ураження суглобу. Хворій рекомендована операція тотального ендопротезування.

Приклад №2 У хворої Б Здійснювали обстеження капсули суглобу аналогічно за Прикладом №1.

Надалі, при збільшенні мікроскопу у 400 разів, виявили кількість усіх судин ($N_{суд}$) і тканинних базofilів НТБ, визначили співвідношення ТБ на 1 судину, а також і функціональні показники – індекси насичування (D_n) та дегрануляції (D_d) за вище наданими формулами [а,б]. Результати обчислення показників на першому, другому та третьому зрізах зрізах відбито у Табл. № 6,7,8, відповідно.

Дані обстеження звели у Табл. №9. Усі дані були порівняні з контролем, що був отриманий попередньо при обстеженні зразків незмінних капсул нормальних суглобів фізично здорових осіб жіночої статі, загинувших від травм другої локалізації (Табл №5).

На зрізах зразка капсули були наявними синовіальна оболонка та ворсини у стані виразливого склерозу з вогнищами хронічного запалення.

Заключення. Ревматоїдний артрит, стадія фіброзного анкілозу (термінальна стадія ураження суглобу). Хворій рекомендована операція тотального ендопротезування тазостегнового суглобу.

Отже, завдяки визначенню сукупності кількісно-функціональних показників тканинних базofilів з'явилась можливість об'єктивно оцінити термінальну стадію ураження суглобів як ревматоїдним артритом, так і остеоартрозом з підвищенням точності кінцевого діагностичного результату майже у 3 – 4 рази.

Оцінка результатів по структурним показникам капсули, без використання тканин іншої локалізації, наприклад хряща чи епіфізів сполучених кісткових поверхонь, відкриває нові напрямки досліджень механізмів їхньої участі в розвитку суглобних патологій, особливо при ревматоїдному артриті та остеоартрози.

Таким чином, технічне рішення задачі задовольняє умови винаходу «промислова придатність» і за усіма наданими твердженнями може бути кваліфіковано винаходом України.

Результати обчислення показників на першому зрізі

Таблиця №1

N _{суд}	N _{ТБ}	N _{суд}	N _{ТБ}	T%	Д _Т %	С %	ДС %	Д _н	НТБ ₀ %	НТБ ₁ %	НТБ ₂ %	НТБ ₃ %	Д _л
16	41	2,560	5	32	16	47	0,587	92	5	0	3	0,140	

Результати обчислення показників на другому зрізі

Таблиця №2

N _{суд}	N _{ТБ}	N _{суд}	N _{ТБ}	T%	ДТ %	С %	ДС %	Д _н	НТБ ₀ %	НТБ ₁ %	НТБ ₂ %	НТБ ₃ %	Д _л
5	51	10,200		29.4	0	32.3	38.2	0.417	50	12	6	32	1,206

Результати обчислення показників на третьому зрізі

Таблиця №3

N _{суд}	N _{тб}	N _{суд} / N _{тб}	T%	Дт %	C %	ДС %	Д _н	НТБ ₀ %	НТБ ₁ %	НТБ ₂ %	НТБ ₃ %	Д _і
3	18	6,000	17,2	16	42,6	42,6	0,496	71,0	8,5	3,0	17,5	0,668

Дані обстеження зрізів за Прикладом №1

Таблиця №4

Показники	№ зрізів		
	1	2	3
Співвідношення ТБ	2,560	10,200	6,000
Індекс насичування	0,587	0,417	0,496
Індекс дегрануляції	0,140	1,206	0,668

Дані обстеження незмінених капсул нормальних суглобів

Таблиця № 5

Співвідношення ТБ	Індекс насичування Д _н	Індекс дегрануляції Д _і
1,040 ± 0,400	1,083 ± 0,240	1,013 ± 0,244

Результати обчислення показників на першому зрізі

Таблиця №6

N _{суд}	N _{тб}	N _{суд} / N _{тб}	T%	Дт %	C %	ДС %	Д _н	НТБ ₀ %	НТБ ₁ %	НТБ ₂ %	НТБ ₃ %	Д _і
100	52	0,520	83,4	8,22	4,11	4,11	11,14	84,4	10,3	3,4	2,0	0,233

Результати обчислення показників на другому зрізі

Таблиця №7

N _{суд}	N _{тб}	N _{суд} / N _{тб}	T%	Дт %	C %	ДС %	Д _н	НТБ ₀ %	НТБ ₁ %	НТБ ₂ %	НТБ ₃ %	Д _і
25	32	1,280	0,0	100	0,00	0,00	0,00	100	0,0	0,0	0,0	0,000

Результати обчислення показників на третьому зрізі

Таблиця №8

N _{суд}	N _{тб}	N _{суд} / N _{тб}	T%	Дт %	C %	ДС %	Д _н	НТБ ₀ %	НТБ ₁ %	НТБ ₂ %	НТБ ₃ %	Д _і
23	8	0,348	83,33	0,0	0,0	16,67	4,999	83,33	16,67	0,0	0,0	0,167

Дані обстеження зрізів за Прикладом №2

Таблиця №9

Показники	№ зрізів		
	1	2	3
Співвідношення ТБ	0,520	1,280	0,348
Індекс насичування (Д _н)	11,14	0,000	4,999
Індекс дегрануляції (Д _і)	0,233	0,000	0,167

Джерела інформації

1 А с 1173990 Способ определения активности процесса костеобразования / Илизаров Г А , Палиенко Л А , Шрейнер А А (СССР) -1985

2 А с 1274683 Способ определения активности костеобразования / Илизаров Г А , Палиенко Л А , Шрейнер А А (СССР) -1986

3 5 А с 1821742 Способ определения гепа-

тотропного действия веществ / Палиенко Л А , Гриша Н П , Ушаков В Ф (СССР) -1992

4 Павлова В Н Синовиальная среда суставов -М Медицина, 1990 -С 115-155

5 Дедух Н В Остеоартроз // Консервативная терапия / За ред М О Коржа -Х Прапор, 1999 -С 98-115