



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **107049** (13) **C2**
(51) МПК (2014.01)
G01N 21/00
G01N 33/483 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

- | | |
|--|---|
| <p>(21) Номер заявки: а 2013 09661</p> <p>(22) Дата подання заявки: 02.08.2013</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.11.2014</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 25.12.2013, Бюл.№ 24</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.11.2014, Бюл.№ 21</p> <p>(72) Винахідник(и):
Савчук Тетяна Василівна (UA),
Трембовецька Олена Михайлівна (UA),
Захарова Валентина Петрівна (UA),
Лещенко Іван В'ячеславович (UA),
Руденко Олена Володимирівна (UA),
Приходько Тетяна Олександрівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и):
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "НАЦІОНАЛЬНИЙ
ІНСТИТУТ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ ХІРУРГІЇ
ІМ. М.М. АМОСОВА НАЦІОНАЛЬНОЇ
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ",
вул. М. Амосова, 6, м. Київ-110, 03680 (UA)</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
Довгаль Г. В. Особливості розвитку і будова папілярно-трабекулярного апарату серця людини: дис. ... канд. мед. наук : 14.03.01 / Г. В. Довгаль; Харк. Держ. Мед. ун-т. – Х.
Sedmera D. Remodeling of chick embryonic ventricular myoarchitecture under experimentally changed loading conditions/ Sedmera D, Pexieder T, Rychterova V, Hu N, Clark EB // The Anatomical Record. - [1999. - № 254(2). – p. 238-252</p> | <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
K. Stankunas. Endocardial Brg1 Represses ADAMTS1 to Maintain the Microenvironment for Myocardial Morphogenesis/K. Stankunas, C. T. Hang, Zhi-Yang Tsun, Hanying Chen, N. V. Lee, J. I. Wu, Ching Shang, J. H. Bayle, W. Shou, M. L. Iruela- Arispe, Ching-Pin Chang// Developmental Cell. – 2008. - Volume 14. - Issue 2. – p. 298–311
D. SEDMERA. Developmental Changes in the Myocardial Architecture of the Chick / D. SEDMERA, T. PEXIEDER, N. HU, E. B. CLARK // THE ANATOMICAL RECORD. - 1997. - №248. - 421–432
R. Jenni. Echocardiographic and pathoanatomical characteristics of isolated left ventricular non-compaction: a step towards classification as a distinct cardiomyopathy/R Jenni, E Oechslin, J Schneider, C Jost, P Kaufmann//Heart.- Dec. 2001.- № 86(6). P. 666–671
T. K. Chin. Isolated noncompaction of left ventricular myocardium. A study of eight cases/T. K. Chin, J. K. Perloff, R. G. Williams, K. Jue, R. Mohrmann// Circulation.-1990.- №82.-p. 507-513
R. Jenni. Isolated ventricular non?compaction of the myocardium in adults/ R. Jenni, E. N. Oechslin, B. van der Loo // Heart.- 2007.- №93.- p. 11–15
М.А. Пальцев. Руководство по биопсийному секционному курсу/ Пальцев М.А., Коваленко В. Л., Аничков Н. М// Учебное пособие. – М.: Медицина, 2002. – 256 с.
http://ua.bookfi.org/book/554595</p> |
|--|---|

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ІНДЕКСУ ВІЛЬНОЇ ПОРОЖНИНИ МІОКАРДА

(57) Реферат:

Винахід належить до медицини і може бути використаний для визначення будови трабекулярного та компактного шарів міокарда. Спосіб визначення індексу вільної порожнини серця включає мікроскопію за допомогою мікроскопа. Новим є те, що гістологічні препарати фотографують за допомогою цифрової фотокамери, а на отриманих зображеннях вимірюють площу трабекулярного шару міокарда і площу порожнини шлуночка, після чого визначають індекс вільної порожнини (ІВП) за формулою:

UA 107049 C2

$ІВП = ПТМ / ПП$, де:

ПТМ - площа трабекулярного шару міокарда;

ПП - площа порожнини шлуночка.

Винахід належить до сфери медицини, зокрема до нормальної та патологічної анатомії, кардіології та кардіохірургії, і може бути використаний для більш ретельного дослідження особливостей будови трабекулярного та компактного шарів міокарда в нормі та при різноманітній патології сердець плодів, дітей та дорослих за допомогою оптичних пристосувань.

5 Стан трабекулярного апарата, типи трабекул, варіанти їх будови є суцільно індивідуальними для кожної людини. Вони залежать від морфогенетичних особливостей організму та від особливостей розвитку у онтогенезі (Моталин, С. Б. Морфогенез структур серця і судин, определяющих движение крови в них в онтогенезе // Кр. тез. докл. 70-й итоговой научной сессии АГМИ. Астрахань. 1989. С. 46). В кінці четвертого тижня вагітності міокард являє собою систему численних трабекул, що утворюють складну тривимірну комірчасту структуру на місці порожнин майбутніх шлуночків. У подальшому відбувається процес ущільнення зовнішніх шарів трабекулярного апарата з утворенням компактного шару. Порушення процесів ущільнення міокарда призводить до розвитку деяких уроджених вад та патологічних набутих станів (некомпактний міокард, синдром гіоплазії лівих відділів серця, кардіоміопатії). За даними (Jenni R., Oechslin E., Schneider J. et al. Echocardiographic and pathoanatomical characteristics of isolated left ventricular non-compaction: a step towards classification as a distinct cardiomyopathy // Heart. 2001. № 86. Р. 666-667) трабекулярний шар, що зберігається після реконструкції у нормі не повинен перевищувати за товщиною компактний більше ніж удвічі.

Відомий спосіб оцінки трабекулярності міокарда лівого шлуночка (Chin K., Perloff J.K., Williams R.G. et al. Isolated noncompaction of left ventricular myocardium: a study of eight cases // Circulation. 1990. № 82. Р 507-513) в якому для постановки діагнозу некомпактного міокарда враховувалася величина відношення загальної товщини міокарда до товщини компактного шару, вимірювання проводилися в діастолу в чотири- і п'ятикамерної позиції (Chin K., Perloff J.K., Williams R.G. et al. Isolated noncompaction of left ventricular myocardium: a study of eight cases // Circulation. 1990. № 82. Р 507-513; Jenni R., Oechslin E.N., van de Loo B. Isolated ventricular non-compaction of the myocardium in adults // Heart. 2007. № 93. Р. 11-15); величина співвідношення некомпактного шару до компактного вимірювалася в систолу по короткій осі лівого шлуночка на рівні верхівки, папілярних м'язів і мітрального клапана (Jenni R., Oechslin E.N., van de Loo B. Isolated ventricular non-compaction of the myocardium in adults // Heart. 2007. № 93. Р. 11-15).

Недоліками даної методики є те, що неможливо адекватно оцінити за її допомогою трабекулярність шлуночків у дітей як в нормі, так і при патології. Основним недоліком методики Jenni R. виявилось те, що для проведення вимірювань в рекомендовану фазу серцевого циклу (систолу лівого шлуночка) лакуни зменшувалися, близько розташовані сегменти зближувалися, у зв'язку з чим виникали складності у розмежуванні шарів один від одного. Основними недоліками методики Chine K. виявилось обмежена кількість сегментів (6 сегментів), які можуть бути оцінені за її допомогою, а так само те, що рекомендованому пороговому відношенню загальної товщини міокарда до товщини компактного, рівному двом.

Інший відомий спосіб (Сильнова И.В., Дворяковский И.В., Басаргина Е.Н., Иванов А.П. Эхокардиография в оценке состояния детей с некомпактным миокардом // Материалы XIV Конгресса педиатров.-2010. - С. 730) кількісної оцінки трабекулярності, що об'єднав у собі переваги вищезазначених способів: всі вимірювання проводилися за допомогою ехокардіографії в пізню діастолу, в момент, коли межа між шарами була достовірно помітна; вимірювалося співставлення трабекулярного шару до компактного шару; вимірювання проводилися в кожному трабекулярному сегменті. При проведенні ехокардіографії у 71 % здорових дітей у структурі міокарда лівого шлуночка можна було виділити два шари: внутрішній гіперехогенний трабекулярний і зовнішній гіпоехогенний компактний.

Недоліком цієї методики є те, що не в кожній ділянці, яка представляє зацікавленість можливо візуалізувати двошаровий міокард. Також недоліком способу є те, що неможливо визначити площу шарів та порожнини шлуночків, що є важливим для діагностики.

Найбільш близьким способом оцінки архітекtonіки міокарда, зокрема трабекулярності, є спосіб оглядової мікроскопії, що виконується на розтинах (Пальцев М.А., Коваленко В.Л., Аничков Н.М. Руководство по биопсийно-секционному курсу// Учебное пособие, 2002), який передбачає макроскопічне та мікроскопічне дослідження будови трабекул. За способом ціле серце плода або новонародженого, чи шматочки отримані із різних сегментів міокарда дорослих людей (секційний матеріал) фіксують у 10 % нейтральному формаліні. Здійснюють проведення по спиртах наростаючої концентрації та заливку у парафін. Виготовляють парафінові блоки. З парафінових блоків на мікротомі виготовляють зрізи товщиною 5 мкм. По отриманих зрізах візуально оцінюють архітекtonіку міокарда.

Однак, візуальна оцінка архітекτονіки міокарда не може дати адекватної оцінки співвідношень компактного та трабекулярного шару міокарда та визначити патогенетичну значимість змін трабекулярності.

В основу винаходу поставлено задачу створення способу визначення індексу вільної порожнини серця, в якому шляхом застосування нових дій, порядку виконання дій та умов їх виконання забезпечується більш точна та кількісна оцінка архітекτονіки міокарда за рахунок кількісного визначення індексу вільних порожнин шлуночків серця що надає можливість кількісно оцінити стан трабекулярного міокарда та відповідно оцінити різноманітні патології сердець плодів, дітей та дорослих при розтинах та мікроскопії операційного матеріалу.

Для вирішення поставленої задачі спосіб визначення індексу вільної порожнини серця включає фіксування у 10 % нейтральному формаліні цілого серця або шматочків сегментів міокарда, проводять по спиртах наростаючої концентрації, виготовляють парафінові блоки, з парафінових блоків на мікротомі виготовляють серійні поперечні зрізи товщиною 5 мкм, зрізи фарбують.

Новим є те, що гістологічні препарати фотографують за допомогою цифрової фотокамери, на отриманих зображеннях вимірюють площу трабекулярного шару міокарда в досліджуваних гістологічних препаратах, вимірюють площу порожнини шлуночка в досліджуваних гістологічних препаратах, після чого визначають індекс вільної порожнини (ІВП) за формулою:

$ІВП = ПТМ / ПП$, де:

ПТМ - площа трабекулярного шару міокарда;

ПП - площа порожнини шлуночка.

В окремих варіантах реалізації способу перед фотографуванням отримані зрізи фарбують гематоксилін-еозином.

Завдяки застосуванню нових дій способу, умов виконання дій та нових показників забезпечується повне уявлення про вільний об'єм порожнини шлуночка, від якого залежить показник кінцевого діастолічного об'єму крові, одного з важливих критеріїв діяльності шлуночків серця.

Застосування фарбування підвищує контрастність границь досліджуваних структур що підвищує точність визначення площ досліджуваних ділянок, та забезпечує можливість застосування комп'ютерних засобів оцінки досліджуваних показників.

Перелік фігур графічних зображень:

Фіг. 1 Цілісне зображення поперечного зрізу міокарда плода. Вид знизу. Обведена площа порожнини лівого шлуночка 1.

Фіг. 2. Цілісне зображення поперечного зрізу міокарда плода у середній частині із синдромом гіпоплазії лівого шлуночка. Вид знизу. Спостерігається

гіпертрофія компактного шару міокарда. Трабекули не мають вільних кінців, проходять від стінки до стінки. Площа вільної порожнини значно зменшена. Обведена площа порожнини лівого шлуночка 1.

Фіг. 3. Цілісне зображення поперечного зрізу міокарда плода у середній частині із синдромом гіпоплазії лівого шлуночка. Вид знизу. Спостерігається гіпертрофія компактного шару міокарда. Трабекули не мають вільних кінців, проходять від стінки до стінки. Обведена площа трабекулярного шару 2 (вільної стінки лівого шлуночка та міжшлуночкової перегородки).

Спосіб здійснюється наступним чином:

Приклад 1. Ціле серце плода фіксують у 10 % нейтральному формаліні. Проводять по спиртах наростаючої концентрації та заливають у парафін за загально прийнятою методикою. З парафінових блоків на мікротомі Leica SM 2000 R виготовляють серійні поперечні зрізи товщиною 5 мкм. Зрізи фарбують гематоксилін-еозином.

Мікроскопію проводимо за допомогою мікроскопа Olympus BX41 (об'єтив x 2, окуляр x 10). Гістологічні препарати фотографували за допомогою цифрової фотокамери Olympus SP-500 UZ та мікроскопа, зображення вводили в комп'ютер з використанням програми Quick Photo.

За допомогою програми Quick Photo проводили вимірювання площі порожнини шлуночка (ПП) Фіг. 1 (1), таблиці 1, 2 (випадок 14-31³, середня частина), яка склала 5235911 мкм та вимірювали площу трабекулярного міокарда (ПТМ), яка склала 1948448 мкм², далі обчислювали співвідношення за формулою:

$ІВП = ПТМ / ПП$

$ІВП = 1948448 / 5235911 = 0,372131612$

Таблиця 1

Абсолютні значення площі трабекулярного міокарда та площі порожнини лівого шлуночка у різні терміни вагітності

		14-31	15-410	17-389	18-343	20-317	21-316	21-23	21-264	23-145	30-144	30-342
Верхівка серця	ПТМ	1160700	1331587	1147542	1910447	2168376	3089737	3767488	2021200	3024290	2295064	11859560
	ПП	2262495	3041306	2671503	4190558	5237960	13821074	6670093	6639989	11415393	5683575	28357208
Середня частина	ПТМ	1948448	2487001	2486669	3070818	4617904	5730850	5364309	3940304	5956131	22422173	17183986
	ПП	5235911	6061961	7371990	8112820	64820167	27517813	16794076	17131005	16387859	49132659	35028109
Основа серця	ПТМ	2511862	1316347	2829347	921732	5890463	7059920	9427337	1099385	3292322	5741661	5371799
	ПП	5951036	5099643	7923862	5110103	12531656	28246743	17856237	21067931	28384404	20564484	56505683

ПТМ - Площа трабекулярного шару міокарда (мкм).

ПП - Площа порожнини шлуночка (мкм).

5 14-31, де 14 - тижні вагітності, 31 - номер протоколу секційного випадку.

У таблиці 1 представлені абсолютні значення площі трабекулярного міокарда та площі порожнини лівого шлуночка в різні терміни вагітності. Абсолютні значення площі трабекулярного міокарда та площі порожнини лівого шлуночка збільшуються пропорційно із збільшенням терміну вагітності.

10

Таблиця 2

Індекси вільної порожнини лівого шлуночка у різних відділах сердець плодів у різні терміни гестації у нормі

		14-31	15-410	17-389	18-343	20-317	21-316	21-23	21-264	23-145	30-144	30-342	Сер. знач.
Верхівка серця	ІВП	0,513017708	0,437833944	0,429549209	0,455893"	0,413973379	0,223552598	0,564832904	0,264930807	0,403806407	0,418220308	0,513017708	0,402728±0,01
Середня частина	ІВП	0,372131612	0,410263444	0,337313127	0,378514253	0,071241779	0,208259646	0,319416704	0,363447782	0,456359852	0,490577004	0,372131612	0,330685±0,01
Основа серця	ІВП	0,422088188	0,258125324	0,357066668	0,180374406	0,470046656	0,249937488	0,527957654	0,115990528	0,279202775	0,095066503	0,422088188	0,273458±0,02

ІВП - Індекс вільної порожнини (одиниця).

14-31, де 14 - тижні вагітності, 31 - номер протоколу секційного випадку.

15 У таблиці 2 представлено індекс вільної порожнини лівого шлуночка у різних відділах сердець плодів у різні терміни гестації у нормі, що обчислювалася за формулою: $ІВП = ПТМ / ПП$. У зв'язку з тим, що із збільшенням терміну гестації пропорційно збільшуються товщини як компактного, так і трабекулярного шару міокарда трабекулярність міокарда лишається більш менш сталим значенням і на верхівці серця середнє значення дорівнює $0,402728 \pm 0,01$, у середній частині $0,330685 \pm 0,01$, у ділянці основи $0,273458 \pm 0,02$.

20 Приклад 2. Для порівняння проведемо обчислення індексу вільної порожнини лівого шлуночка плода з синдромом гіпоплазії лівих відділів серця (Фіг. 2, 3).

25 Ціле серце плода фіксують у 10 % нейтральному формаліні. Проводять по спиртах наростаючої концентрації та заливають у парафін за загально прийнятою методикою. З парафінових блоків на мікромомі Leica SM 2000 R виготовляють серійні поперечні зрізи товщиною 5мкм. Зрізи фарбують гематоксилін-еозинном.

Мікроскопію проводять за допомогою мікроскопа Olympus BX41 (об'єктив x 2, окуляр x 10). Гістологічні препарати фотографували за допомогою цифрової фотокамери Olympus SP-500 UZ та мікроскопа, зображення вводили в комп'ютер з використанням програми Quick Photo.

30 За допомогою програми Quick Photo проводили вимірювання площі трабекулярного міокарда (ПТМ) показано на Фіг. 3 (2) та вимірювання площі порожнини (ПП) лівого шлуночка показано на Фіг.2 (1).

ПТМ-11575620 мкм²

ПП-15059502 мкм²

ІВП=ПТМ/ПП

35 ІВП= 11575620/15059502=0,76

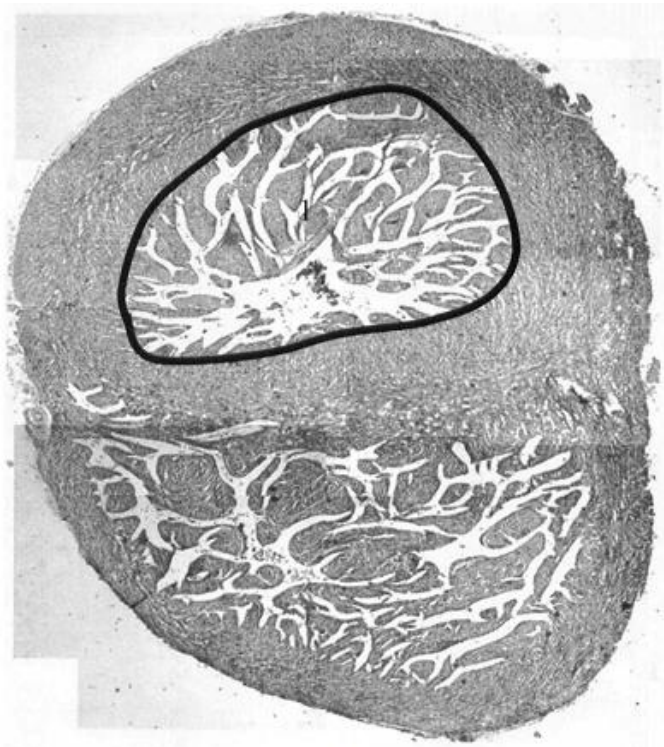
Порівнюючи значення індексу вільної порожнини лівого шлуночка з синдромом гіпоплазії лівих відділів серця із нормою маємо уявлення про вільну порожнину лівого шлуночка.

Збільшення індексу свідчить про зменшення площі порожнини (ПП), а у даному випадку ПП зменшується і за рахунок значного зменшення порожнини лівого шлуночка так і за рахунок агенезії трабекул, як один із варіантів будови міокарда лівого шлуночка при даному синдромі.

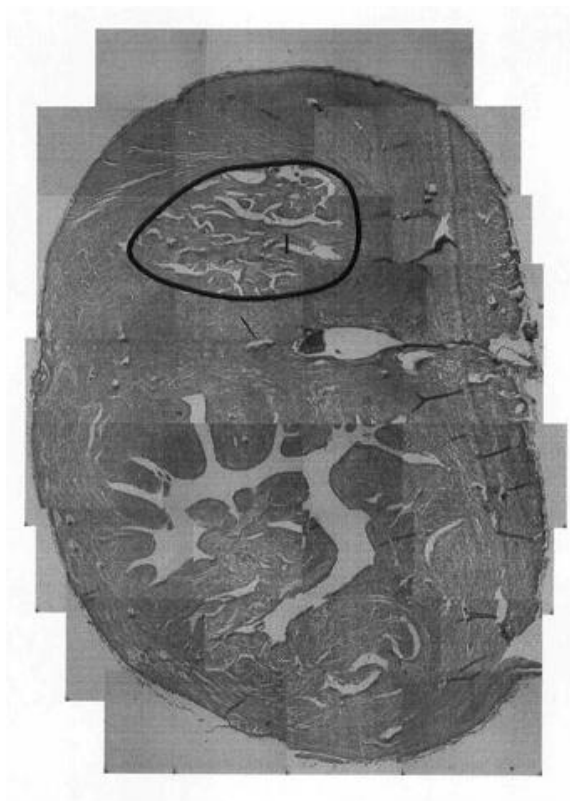
5

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

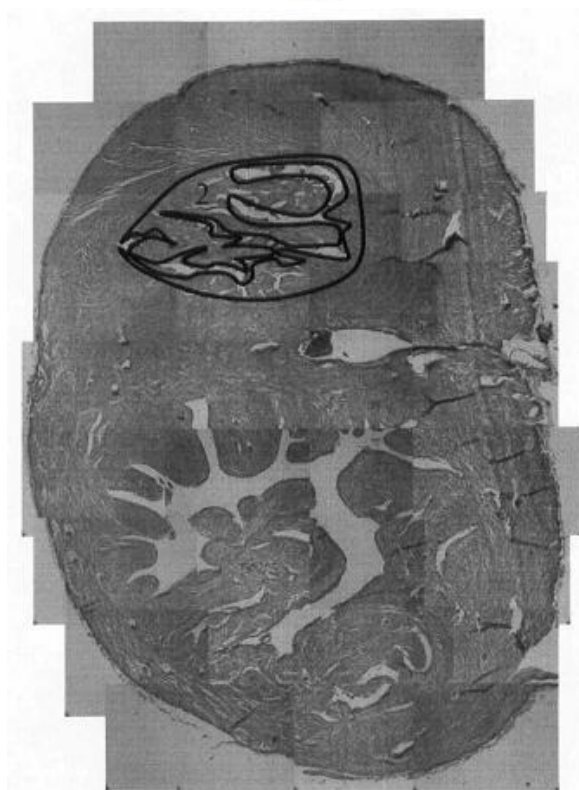
1. Спосіб визначення індексу вільної порожнини серця, що включає фіксування у 10 % нейтральному формаліні цілого серця або шматочків сегментів міокарда, проводять по спиртах наростаючої концентрації, виготовляють парафінові блоки, з парафінових блоків на мікротомі виготовляють серійні поперечні зрізи товщиною 5 мкм, зрізи фарбують, який **відрізняється** тим, що гістологічні препарати фотографують за допомогою цифрової фотокамери через мікроскоп, на отриманих зображеннях вимірюють площу трабекулярного шару міокарда в досліджуваних гістологічних препаратах, вимірюють площу порожнини шлуночка в досліджуваних гістологічних препаратах, після чого визначають індекс вільної порожнини (ІВП) за формулою:
- ІВП=ПТМ/ПП, де:
ПТМ - площа трабекулярного шару міокарда;
ПП - площа порожнини шлуночка.
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед фотографуванням отримані зрізи фарбують гематоксилін-еозином.



Фіг. 1



Фіг. 2



Фіг. 3

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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

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