



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **107050** (13) **C2**
(51) МПК (2014.01)
G01N 21/00
G01N 33/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

- | | |
|---|--|
| <p>(21) Номер заявки: а 2013 09663</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:
D.Sedmera. Remodeling of Chick Embryonic Ventricular Myoarchitecture Under Experimentally Changed Loading Conditions/ D.Sedmera, T. Pexieder, V. Richterova, N. Hu, E. Clark//THE ANATOMICAL RECORD. – 1999. - №254. – P. 238–252
E. M. McNally. Cardiac Magnetic Resonance of Left Ventricular Trabeculation The New Normal /Elizabeth M. McNally, Amit R. Patel// Circ Cardiovasc Imaging. - 2011.- №4. – p. 84-86</p> | <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
А.А. Горбунов. Количественная онтогенетическая динамика соединительнотканых клеток в желудочковом миокарде крыс/А.А. Горбунов, И.В. Твердохлеб//Морфология. - 2008.- Том 2.-№1.- С. 45-50
А.А. Якимов. Трабекулы левожелудочковой поверхности межжелудочковой перегородки в сердце плода человека/ А. А. Якимов// Морфология. - 2012.- №5.- С. 44-48
Hanying Chen. Analysis of ventricular hypertrabeculation and noncompaction using genetically engineered mouse models/ Hanying Chen, Wenjun Zhang, Deqiang Li, Tim M. Cordes, R. Mark Payne, Weinian Shou// Pediatr Cardiol. – 2009.- №30(5). P. 626–634
D.Sedmera. Developmental Patterning of the Myocardium/ D.Sedmera, T. Pexieder// THE ANATOMICAL RECORD. - 2000. - № 258. – p. 319–337
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 (6 стор.)
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 ЩІЛЬНОСТІ ТРАБЕКУЛЯРНОГО ШАРУ МІОКАРДА

(57) Реферат:

UA 107050 C2

Винахід належить до медицини. Спосіб визначення індексу щільності трабекулярного шару міокарда полягає в тому, що гістологічні препарати фотографують за допомогою цифрової фотокамери через мікроскоп, вимірюють площу трабекулярного шару в досліджуваних гістологічних препаратах, вимірюють площу компактного шару міокарда в досліджуваних гістологічних препаратах, після чого визначають індекс щільності трабекулярного шару (ІЩТШ) за формулою:

$$\text{ІЩТШ} = \text{ТМп} / \text{КМп},$$

де:

ТМп - площа трабекулярного шару міокарда;

КМп - площа компактного шару міокарда.

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 апарату, 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 сердца и сосудов, 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
10 систему численних трабекул, що утворюють складну тривимірну комірчасту структуру на місці порожнин майбутніх шлуночків. У подальшому відбувається процес ущільнення зовнішніх шарів трабекулярного апарату з утворенням компактного шару. Порушення процесів ущільнення міокарда призводить до розвитку деяких уроджених вад та патологічних набутих станів (некомпактний міокард, синдром гіпоплазії 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'ятикамерній 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
20 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 з 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
30 недоліками методики Chine K. виявилось: обмежена кількість сегментів (6 сегментів), які можуть бути оцінені з 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
40 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, 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
50 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, зрізи фарбують. По отриманих зрізах візуально оцінюють архітекtonіку міокарда.

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

В основу винаходу поставлено задачу створення способу визначення індексу щільності трабекулярного шару міокарда, 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 щільності трабекулярного шару міокарда, що надає можливість кількісно оцінити стан трабекулярного шару міокарда та відповідно оцінити різноманітні патології сердець плодів, дітей та дорослих при розтинах та мікроскопії операційного матеріалу.

Для вирішення поставленої задачі спосіб визначення індексу щільності трабекулярного шару міокарда 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 через мікроскоп, вимірюють площу трабекулярного шару в досліджуваних гістологічних препаратах, вимірюють площу компактного шару міокарда в досліджуваних гістологічних препаратах, після чого визначають індекс щільності трабекулярного шару (ІЩТШ) за формулою:

$$\text{ІЩТШ} = \text{ТМп} / \text{КМп},$$

де:

ТМп - площа трабекулярного шару міокарда;

КМп - площа компактного шару міокарда.

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 щільність трабекулярного шару міокарда.

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 у терміні вагітності 14 тижнів. Вид знизу. В даному терміні вагітності відмічається явне превалювання трабекулярного шару міокарда особливо у правому шлуночку. Трабекули більше виражені з боку вільних стінок шлуночків. Обведена площа компактного міокарда вільної стінки лівого шлуночка (1).

Фіг. 2. Цілісне зображення поперечного зрізу міокарда плода у терміні вагітності 14 тижнів. Вид знизу. В даному терміні вагітності відмічається явне превалювання трабекулярного міокарда особливо у правому шлуночку. Трабекули більше виражені з боку вільних стінок шлуночків. Вимірювання площі трабекулярного міокарда вільної стінки лівого шлуночка. Обведена площа трабекулярного міокарда лівого шлуночка (2).

Фіг. 3. Цілісне зображення поперечного зрізу міокарда плода у середній частині із синдромом гіпоплазії лівого у терміні гестації 22 тижні. Вид знизу. Спостерігається гіпертрофія компактного шару міокарда. Трабекули не мають вільних кінців, проходять від стінки до стінки. Площа вільної порожнини значно зменшена. Позиція 3 - обведена площа компактного міокарда вільної стінки лівого шлуночка.

Фіг. 4. Цілісне зображення поперечного зрізу міокарда плода у середній частині із синдромом гіпоплазії лівого шлуночка у терміні гестації 22 тижні. Вид знизу. Спостерігається гіпертрофія компактного шару міокарда. Трабекули не мають вільних кінців, проходять від стінки до стінки. Вимірювання площі трабекулярного міокарда вільної стінки лівого шлуночка. Обведена площа трабекулярного міокарда вільної стінки лівого шлуночка (4).

Спосіб здійснюється наступним чином:

Приклад 1

Ціле серце плода фіксують у 10 % нейтральному формаліні. Проводять по спиртам 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 трабекулярного шару в досліджуваних гістологічних препаратах, вимірювали площу компактного шару міокарда в досліджуваних гістологічних препаратах, після чого визначали індекс щільності трабекулярного шару Фіг. 1 (1), 2 (2), таблиці 1, 2 (випадок 14-31³, середня частина).

5 Розрахуємо ІЩТШ у середній частині у вільній стінці лівого шлуночка поперечного зрізу серця плода:

ІЩТШ = ТМп/КМп

ТМп - 1655436 мкм²

КМп - 4641937 мкм²

10 ІЩТШ = 1655436/4641937-0,35.

Таблиця 1

Абсолютні значення площ компактного та трабекулярного шарів міокарда лівого шлуночка у різні терміни вагітності

		14-31	15-410	17-389	18-343	20-317	21-316
Верхівка серця	Т	923532	841266	704936	1270662	1560890	2743440
	К	3555269	2035346	2425178	4197186	5082660	61116672
Середня частина	Т	1655436	1788534	1480304	2268352	3731334	5323938
	К	4641937	3526204	3991596	5860146	6805096	8106012
Основа серця	Т	2187109	803598	2233986	527298	4334268	6043630
	К	3679498	2726666	4747434	5135086	6730708	8296850

Продовження таблиці 1

Абсолютні значення площ компактного та трабекулярного шарів міокарда лівого шлуночка у різні терміни вагітності

		21-23	21-264	23-145	30-144	30-342	38-267
Верхівка серця	Т	2168432	1172474	2190116	1558244	8851200	6616180
	К	5091814	5931022	10543980	10910186	21097084	36315092
Середня частина	Т	3956152	2827974	4193134	12287850	10601866	16642370
	К	7384104	8957184	12282072	28858024	29723688	41977366
Основа серця	Т	1176406	711556	2627472	4141118	4405738	2062636
	К	7614072	3956880	6058822	7993030	12049000	7387232

Т - трабекулярний шар (площа, мкм²).

К - компактный шар (площа, мкм²).

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

У таблиці 1 представлені абсолютні значення вимірюваних площ компактного та трабекулярного міокарда у різні терміни вагітності. Із збільшенням терміну гестації пропорційно збільшуються площі як компактного, так і трабекулярного шару міокарда.

Таблиця 2

Індекс щільності трабекулярного шару міокарда лівого шлуночка у різних відділах сердець плодів у різні терміни гестації

		14-31	15-410	17-389	18-343	20-317	21-316	21-23	21-264	23-145	30-144	30-342	38-267	Сер. знач.
Верхівка серця	ІЩТШ	0,25	0,41	0,34	0,30	0,30	0,44	0,42	0,19	0,20	0,14	0,41	0,18	0,29±0,01
Середня частина	ІЩТШ	0,35	0,50	0,37	0,38	0,54	0,65	0,53	0,30	0,34	0,42	0,35	0,39	0,42±0,01
Основа серця	ІЩТШ	0,59	0,29	0,47	0,10	0,64	0,72	0,29	0,17	0,43	0,51	0,36	0,27	0,4±0,03

ІЩТШ - індекс щільності трабекулярного шару (одиниця)

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

У таблиці 2 представлена Індекс щільності трабекулярного шару міокарда лівого шлуночка у різних відділах сердець плодів у різні терміни гестації у нормі, що обчислювалася за формулою

ІЩТШ = ТМп/КМп. У зв'язку з тим, що із збільшенням терміну гестації пропорційно збільшуються площі як компактного, так і трабекулярного шару міокарда ІЩТШ міокарда лишається сталим значенням для нормальних сердець і на верхівці серця середнє значення дорівнює $0,29 \pm 0,01$, у середній частині $0,42 \pm 0,01$, у ділянці основи $0,4 \pm 0,03$.

5 Приклад 2

Для порівняння проведемо обчислення індексу щільності трабекулярного шару міокарда плода з синдромом гіпоплазії лівих відділів серця (Фіг. 3, 4).

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

Мікроскопію проводять 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.

15 За допомогою програми Quick Photo проводили вимірювання площі трабекулярного шару в досліджуваних гістологічних препаратах, вимірюють площу компактного шару міокарда в досліджуваних гістологічних препаратах. Після чого визначають індекс щільності трабекулярного шару (ІЩТШ) за формулою:

$$\text{ІЩТШ} = \text{ТМп} / \text{КМп},$$

20 де:

ТМп-1433257.

КМп-29219967.

$$\text{ІЩТШ} = 1433257 / 29219967 = 0,04.$$

25 Порівнюючи значення індексу щільності трабекулярного шару міокарда при синдромі гіпоплазії лівих відділів серця із нормою, можна мати уявлення про площу шарів міокарда. Показник значно зменшений за рахунок збільшення площі компактного шару та зменшення площі трабекулярного шару.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

30

1. Спосіб визначення індексу щільності трабекулярного шару 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, вимірюють площу трабекулярного шару в досліджуваних гістологічних препаратах, вимірюють площу компактного шару міокарда в досліджуваних гістологічних препаратах, після чого визначають індекс щільності трабекулярного шару (ІЩТШ) за формулою:

40 $\text{ІЩТШ} = \text{ТМп} / \text{КМп},$

де:

ТМп - площа трабекулярного шару міокарда;

КМп - площа компактного шару міокарда.

45 2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед фотографуванням отримані зрізи фарбують гематоксилін-еозином.

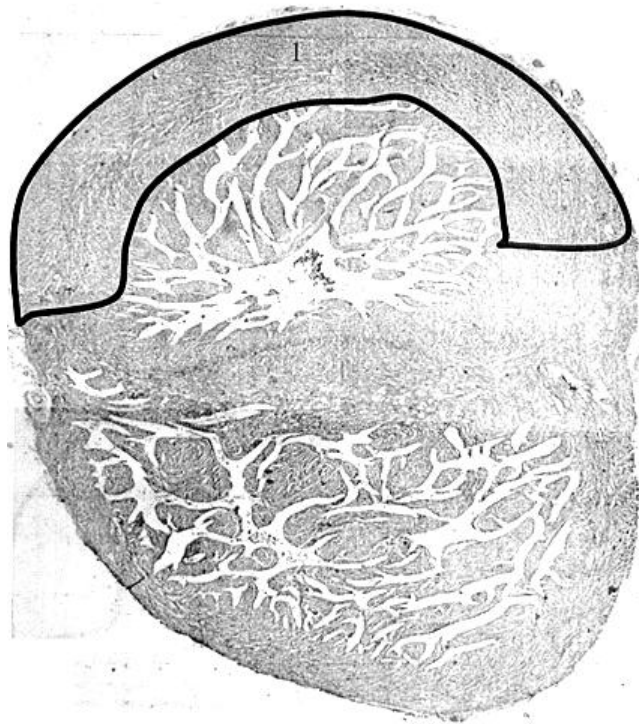


Fig. 1

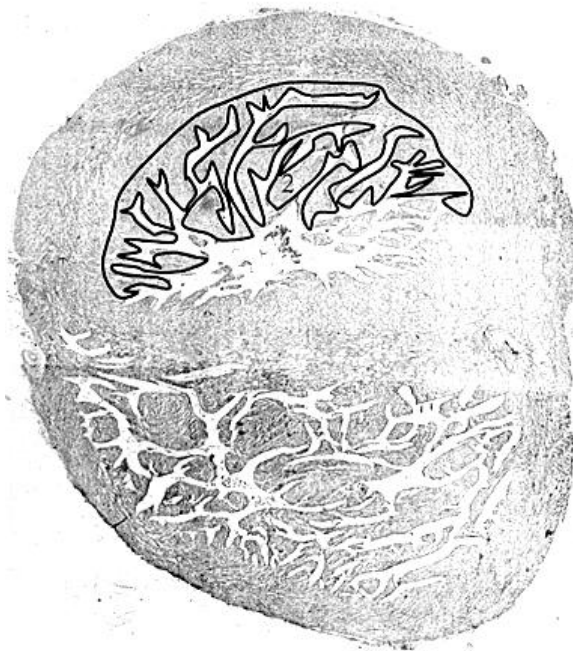
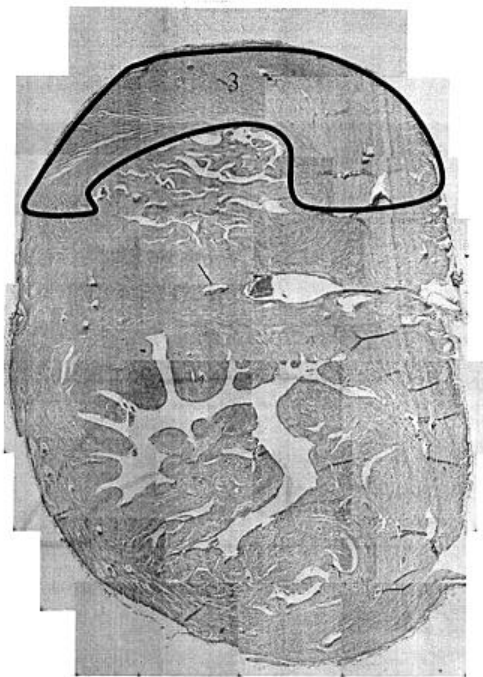


Fig. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

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