



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **110141** (13) **C2**
(51) МПК (2015.01)
G01N 33/483 (2006.01)
A61B 5/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2014 02735	(72) Винахідник(и): Савчук Тетяна Василівна (UA), Захарова Валентина Петрівна (UA), Лещенко Іван В'ячеславович (UA), Приходько Тетяна Олександрівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 18.03.2014	(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)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.11.2015	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: Гнатюк М.С. Морфометрична характеристика серця з різними типами кровопостачання дослідних тварин / М.С.Гнатюк, Л.В. Татарчук, О.Б. Слабій // Вісник проблем біології і медицини. - 2011. - Вип. 3, т. 2 (88) Кошарний В.В. Закономірності зміни серця щурів при дії НВЧ-випромінювання в нормі і при коарктації аорти : автореф... канд. мед. наук: 14.03.01 / В.В. Кошарний; Харк. держ. медуніверситет. - Х., 2005 Мисула І.Р. Морфометрична оцінка вікових змін серця у експериментальних тварин / І.Р. Мисула, М.С. Гнатюк, О.Б. Сусли // Вісник наукових досліджень. - 2000. - № 3 Пальцев М.А. Руководство по биопсийно- секционному курсу: учебное пособие / М.А. Пальцев, В.Л. Коваленко, Н.М. Аничков . - М.: Медицина. - 2002
(41) Публікація відомостей про заявку: 10.11.2014, Бюл.№ 21	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.11.2015, Бюл.№ 22	

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ШЛУНОЧКОВО-ПЕРЕГОРОДКОВОГО ІНДЕКСУ СЕРЦЯ

(57) Реферат:

Винахід стосується способу визначення шлуночково-перегородкового індексу серця, при якому фіксують у 10 % нейтральному формаліні ціле серце або шматочки сегментів міокарда, проводять по спиртах наростаючої концентрації, виготовляють парафінові блоки, з парафінових блоків на мікротомі виготовляють серійні поперечні зрізи товщиною 5 мкм, зрізи фарбують, причому гістологічні препарати фотографують за допомогою цифрової фотокамери через мікроскоп, здійснюють вимірювання площі лівого, правого шлуночків та перегородки в досліджуваних гістологічних препаратах на поперечному зрізі, після чого визначають шлуночково-перегородковий індекс (ШПІ) серця за формулою:

ШПІ=ПЛШ(ППШ)/ПП, де:

ПЛШ - площа лівого шлуночка,

ППШ - площа правого шлуночка,

UA 110141 C2

ПП - площа перегородки.

Винахід належить до сфери медицини, зокрема до нормальної та патологічної анатомії, кардіології та кардіохірургії, і може бути використаний для більш ретельного дослідження особливостей будови серця в нормі та при різноманітній патології серця плодів (а саме при синдромі гіпоплазії лівих відділів серця (СГЛС)), дітей та дорослих за допомогою оптичних пристосувань. Під СГЛС розуміють групу аномалій розвитку серця, що характеризуються недорозвиненням лівих його камер, атрезією або стенозом аортального та/або мітрального отвору і гіпоплазією висхідної частини аорти.

Хірургічне лікування вади вважаються найбільш складними як з технічних причин, так і у зв'язку з тим, що в післяопераційному періоді кровообіг дитини по малому і великому колу забезпечується скороченням тільки одного правого шлуночка, який, як відомо, генетично є більш слабким, ніж лівий шлуночок (ЛШ). І проблема зводиться до того, як довго цей шлуночок зможе забезпечувати обидва кола кровообігу в умовах змішаної крові.

Функціональна спроможність правого шлуночка також залежить від варіанта СГЛС (тобто від наявності поєднання атрезії або стенозу мітрального та аортального клапанів (атрезія клапана аорти/атрезія мітрального клапана), або (стеноз клапана аорти/стеноз мітрального клапана)). Це пов'язано з тим що, рудиментарний лівий шлуночок погіршує скоротливість у сегменті перегородки, при цьому порушується функція єдиного правого шлуночка. Це має прогностичне значення для довготривалого результату хворих із СГЛС. [The Impact of Anatomical Subgroups for Regional and Global Function of the Right Ventricle in Hypoplastic Left Heart Syndrome (HLHS) Carsten Rickers, Michael Jerosch-Herold, Chris Hart, Eileen Pardun, Inga Voges, Jens Scheewe, and Hans Heiner Kramer Circulation. 2010;122:A19537]. Тобто чим менше гіпоплазований лівий шлуночок, тим менше він порушує функцію правого шлуночка після хірургічного втручання. Та відповідно менш гіпоплазований лівий шлуночок більше впливає на функціонування правого шлуночка. При останніх варіантах вирішення проблеми лікування могло б лежати в площині поступового тренування міокарда ЛШ з метою подальшого його включення хірургічним шляхом до системи кровообігу. Для кількісного розмежування варіантів СГЛС ми пропонуємо наш спосіб.

Відомий спосіб кількісної оцінки вад розвитку за допомогою УЗД [Гасанова Р.М., Беспалова Е.Д. Особенности и сложности пренатальной диагностики кардиомиопатий.// Детские болезни сердца и сосудов. - 2007. - № 3. - С. 12-14.] дозволяє виміряти лінійні розміри камер серця, діаметри клапанів, розміри порожнин, товщину міокарда шлуночків, вирахувати їх співвідношення. Недоліком способу є те, що неможливо визначити площу стінок серця та перегородки, що є важливим для діагностики.

Найбільш близьким способом оцінки стану серцевих стінок та перегородки є оглядовий спосіб, 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 серця. 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 спиртам наростаючої концентрації та заливку у парафін. Виготовляють парафінові блоки. З парафінових блоків на мікромомі виготовляють зрізи товщиною 5 мкм, зрізи фарбують. По отриманих зрізах візуально оцінюють серцеву анатомію.

Однак, візуальна оцінка камер серця не може дати адекватної уяви співвідношень вільних стінок та перегородки серця та визначити патогенетичну значимість цих змін.

В основу винаходу поставлено задачу створення способу визначення шлуночково-перегородкового індексу серця, в якому шляхом застосування нових дій, порядку виконання дій та умов їх виконання забезпечується більш точна та кількісна оцінка структур серця за рахунок кількісного визначення шлуночково-перегородкового індексу серця, що надає можливість кількісно оцінити площі лівого та правого шлуночків та площі перегородки та відповідно оцінити різноманітні патології серця плодів, дітей та дорослих при розтинах та мікроскопії операційного матеріалу.

Для вирішення поставленої задачі застосовують спосіб визначення шлуночково-перегородкового індексу серця, при якому фіксують у 10 % нейтральному формаліні ціле серце або шматочки сегментів міокарда, проводять по спиртах наростаючої концентрації, виготовляють парафінові блоки, з парафінових блоків на мікромомі виготовляють серійні поперечні зрізи товщиною 5 мкм, зрізи фарбують. Новим є те, що гістологічні препарати фотографують за допомогою цифрової фотокамери через мікроскоп, здійснюють вимірювання площі лівого, правого шлуночків та перегородки в досліджуваних гістологічних препаратах на поперечному зрізі, після чого визначають шлуночково-перегородковий індекс (ШПІ) серця за формулою:

ШПІ=ПЛШ (ППШ)/ПП, де:

ПЛШ - площа лівого шлуночка,

ППШ - площа правого шлуночка;

ПП - площа перегородки.

5 Перед фотографуванням отримані зрізи фарбують гематоксилін-еозином.

Завдяки застосуванню нових дій способу, умов виконання дій та нових показників забезпечується повне уявлення про шлуночково-перегородковий індекс серця.

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

Перелік фігур графічних зображень:

Фіг. 1. Цілісне зображення поперечного зрізу серця плода у терміні гестації 14 тижнів у середній частині. Вид знизу. Вимірювання площі вільної стінки лівого шлуночка. Позиція 1 - виміряна площа лівого шлуночка серця.

15 Фіг. 2. Цілісне зображення поперечного зрізу серця плода у середній частині у терміні гестації 14 тижнів. Вид знизу. Позиція 2 - виміряна площа перегородки серця.

Фіг. 3. Цілісне зображення поперечного зрізу серця плода у терміні гестації 22 тижні із синдромом гіпоплазії лівого шлуночка. Вид знизу. Вимірювання площі вільної стінки лівого шлуночка. Позиція 3 - виміряна площа лівого шлуночка серця.

20 Фіг. 4. Цілісне зображення поперечного зрізу серця плода у середній частині із синдромом гіпоплазії лівого шлуночка у терміні гестації 22 тижні. Вид знизу. Позиція 4 - виміряна площа перегородки серця.

Спосіб здійснюється наступним чином:

25 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 мікромомі Leica SM 2000 R виготовляють серійні поперечні зрізи товщиною 5 мкм. Зрізи фарбують гематоксилін-еозином.

30 Мікроскопію проводили 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.

35 За допомогою програми Quick Photo проводили вимірювання площі вільної стінки лівого (правого) шлуночка в досліджуваних гістологічних препаратах, вимірювали площу перегородки в досліджуваних гістологічних препаратах, після чого визначали шлуночково-перегородковий індекс серця та міжшлуночковий індекс. Фіг. 1, 2 позиції 1-2, таблиці 1, 2 (випадок 17-389' середня частина).

ШПІ=ПЛШ/ПП,

ПЛШ-5471900 мкм²,

ПП-5644127 мкм²,

ШПІ=0,969486 (одиниць).

40

Таблиця 1

Площі вільних стінок лівого та правого шлуночків та площі
перегородки в термінах вагітності 18-23 тижні у середній частині серця у нормі

		17-389	18-343	20-317	21-316	21-23	21-264	23-145
Середня частина	П Л Ш	5471900	8128498	10536430	13429950	11340256	11785158	16475206
	П П Ш	3895446	5442412	4303971	7317244	6402188	5246738	6785258
	П П	5644127	6290162	7941386	9660760	12291339	7710123	14368723

ПЛШ - площа лівого шлуночка, мкм²,

ППШ - площа правого шлуночка, мкм²,

ПП - площа перегородки, мкм².

45 17-389, де 17 - тижні вагітності, 389 - номер протоколу секційного випадку.

У таблиці 1 представлені абсолютні значення вимірюваних площ у різні терміни вагітності. Із збільшенням терміну гестації пропорційно збільшуються площі.

Таблиця 2

Шлуночкові-перегородкові індекси серця у
середній частині сердець плодів у різні терміни гестації

		17-389	18-343	20-3 17	21-316	21-23	21-264	23-145	Сер. знач.
	ШПІ-л	0,969486	1,292256	1,326775	1,390155	0,922622	1,52853	1,146602	1,22+0,02
	ШПІ-п	0,690177	0,865226	0,541967	0,757419	0,52087	0,6805	0,472224	0,64+0,01

- 5 ШПІ-л - шлуночкові-перегородковий індекс лівого шлуночка (одиниця),
ШПІ-п -шлуночково-перегородковий індекс правого шлуночка (одиниця),
17-389, де 17 - тижні вагітності, 389 - номер протоколу секційного випадку.

У таблиці 2 представлені шлуночкові-перегородкові індекси лівого та правого шлуночків, що обчислювалися за формулою:

- 10 ШПІ = ПЛШ (ППШ)/ПП.

У зв'язку з тим, що із збільшенням терміну гестації пропорційно збільшуються товщини стінок та перегородки шлуночкові-перегородкові індекси лишаються постійними значеннями у різні терміни вагітності і у середній частині середнє значення дорівнює 1,22+0,02 для ЛШ, та 0,64+0,01 для правого.

- 15 Приклад 2. Для порівняння проведемо обчислення шлуночково-перегородковий індекс серця плода з синдромом гіпоплазії лівих відділів серця (Фіг. 3, 4, позиції 3, 4).

Ціле серце плода фіксують у 10 % нейтральну 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 5мкм. Зрізи фарбують гематоксилін-еозином.

- 20 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.

- 25 За допомогою програми Quick Photo проводили вимірювання площі вільної стінки лівого (правого) шлуночка в досліджуваних гістологічних препаратах, вимірювали площу перегородки в досліджуваних гістологічних препаратах, після чого визначали шлуночково-перегородковий індекс серця:

- 30 ШПІ-л=ПЛШ/ПП,
ПЛШ - 5633450 мкм²,
ПП - 10965958 мкм²,
ШПІ-л=0,51372 (од),
ШПІ-п=ППШ/ПП,
ППШ - 37380032мкм²,
ПП - 10965958 мкм²,
35 ШПІ-п =1,96856 (од).

У даному випадку СГЛС спостерігається зменшення у порівнянні із нормою майже удвічі ШПІ-л за рахунок зменшення площі вільної стінки ЛШ, відповідно збільшення майже у 4 рази ШПІ-п за рахунок збільшення площі ПШ, що свідчить про компенсаторну гіпертрофію стінки правого шлуночка.

- 40 У цьому випадку СГЛС показники свідчать про зменшення частки перегородки у правому шлуночку, що у післяопераційному періоді прогностично є більш сприятливо.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 45 1. Спосіб визначення шлуночково-перегородкового індексу серця, при якому фіксують у 10 % нейтральному формаліні ціле серце або шматочки 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,
50 здійснюють вимірювання площі лівого, правого шлуночків та перегородки в досліджуваних

гістологічних препаратах на поперечному зрізі, після чого визначають шлуночково-перегородковий індекс (ШПІ) серця за формулою:

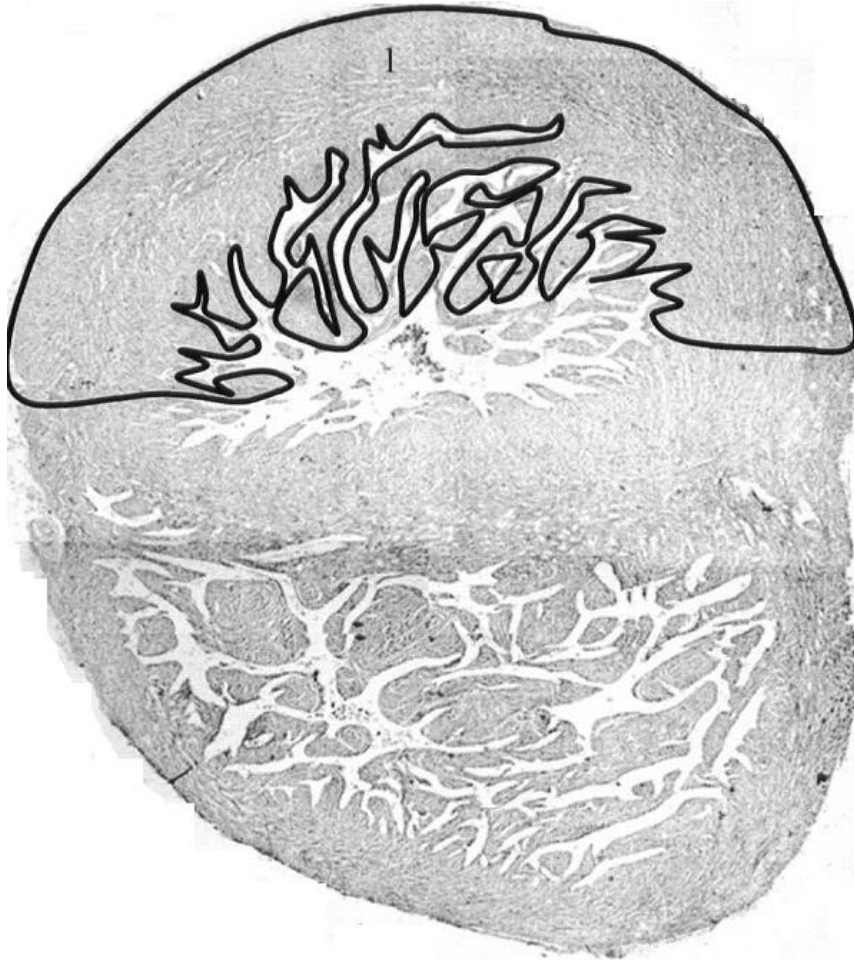
$ШПІ = \frac{ПЛШ(ППШ)}{ПП}$, де:

ПЛШ - площа лівого шлуночка,

5 ППШ - площа правого шлуночка,

ПП - площа перегородки.

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



Фіг. 1

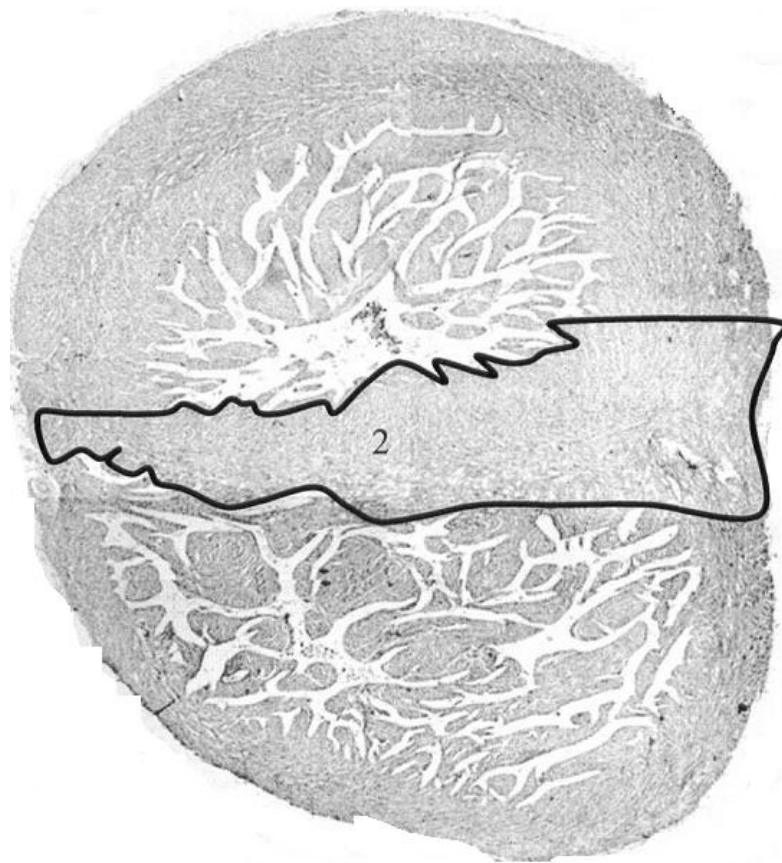


Fig. 2

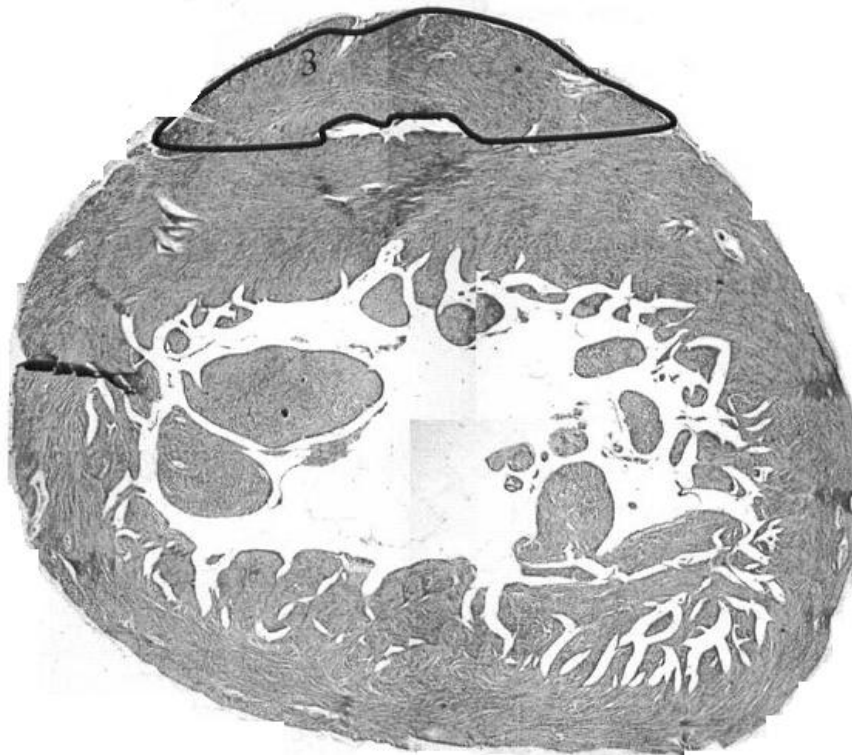


Fig. 3

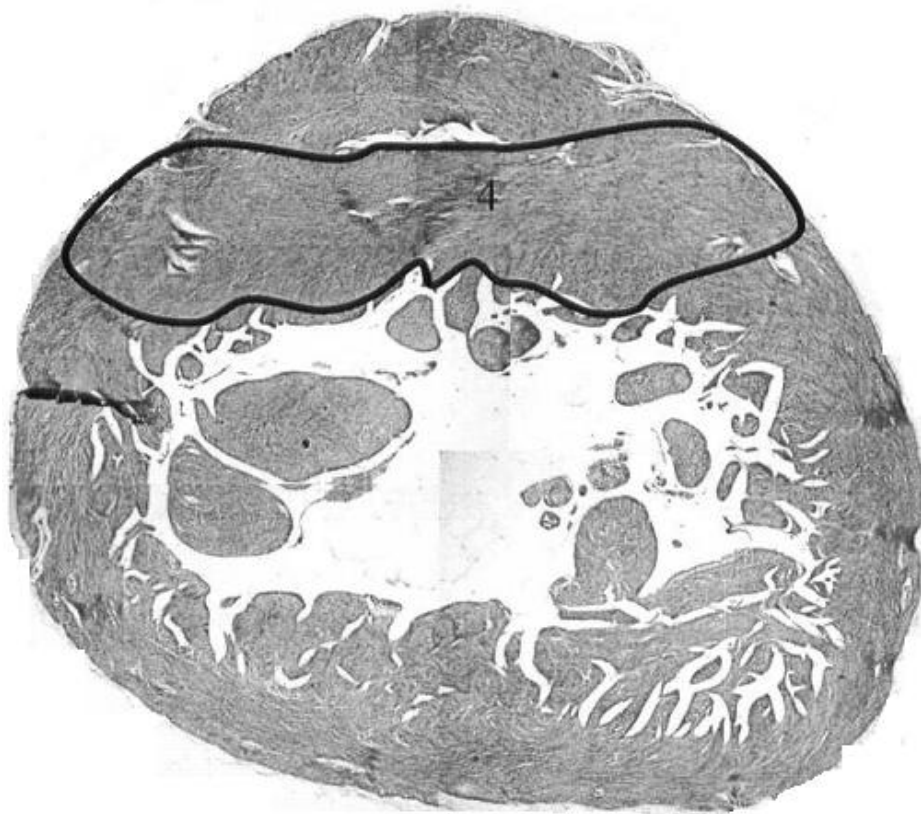


Fig. 4

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

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