



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **109787** (13) **U**

(51) МПК (2016.01)

A61B 5/00

G01N 33/483 (2006.01)

A61B 1/04 (2006.01)

A61B 8/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 01471**

(22) Дата подання заявки: **18.02.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **12.09.2016**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **12.09.2016, Бюл.№ 17**

(72) Винахідник(и):

**Савчук Тетяна Василівна (UA),
Гльоза Марія Юріївна (UA)**

(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, 03800 (UA)**

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ТРАБЕКУЛЯРНО-ПОРОЖНИННОГО ІНДЕКСУ (ТПІ) СЕРЦЯ

(57) Реферат:

Спосіб визначення трабекулярно-порожнинного індексу (ТПІ) серця включає фіксування у нейтральному формаліні цілого серця, проводять по спиртах наростаючої концентрації, виготовляють парафінові блоки, з парафінових блоків на мікротомі виготовляють серійні поперечні зрізи у горизонтальній площині, зрізи фарбують. Гістологічні препарати фотографують за допомогою цифрової фотокамери через мікроскоп. Здійснюють вимірювання товщини ТМ ЛШ та довжини порожнини з обчисленням їх співвідношення.

UA 109787 U

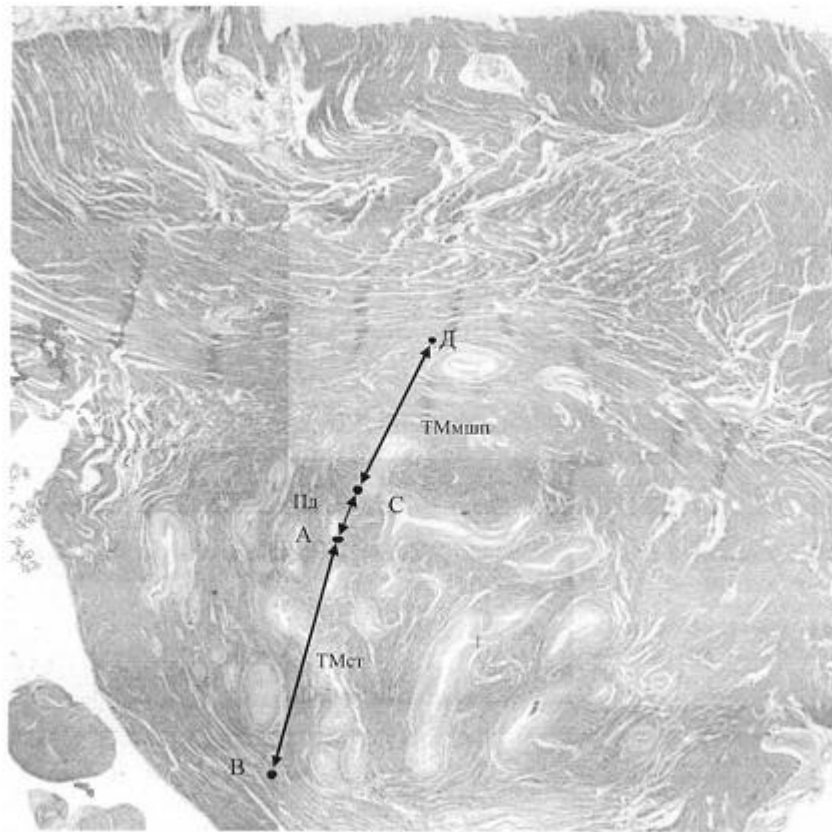


Fig. 1

Корисна модель належить до медицини, зокрема до нормальної та патологічної анатомії, кардіології та кардіохірургії, УЗД-діагностики, і може бути використана для більш ретельного дослідження особливостей будови стінки та порожнини серця у нормі та при патології, а саме при синдромі лівобічної гіпоплазії серця (СЛГС) у плодів та новонароджених за допомогою оптичних пристосувань.

Під синдромом лівобічної гіпоплазії серця (СЛГС) за МКХ-10 розуміють групу аномалій розвитку серця, що включає атрезію або виражену гіпоплазію гирла або клапана аорти з гіпоплазією висхідної частини аорти та дефектом розвитку лівого шлуночка (ЛШ) (із стенозом або атрезією мітрального клапана) [Бураковский В.И., Бухарин В.А., Подзолков В.П. и др. Врожденные пороки сердца. Сердечно-сосудистая хирургия. Под ред. В.И. Бураковского, Л.А. Бокерия. - М.: Медицина, 1989. - С. 345-382.]. Частота зустрічальності СЛГС 1-8 % від усіх вроджених вад серця [D.Fyler et al. 1980; В.Г.Карпенко, 2010], СЛГС може бути діагностований ще на етапах внутрішньоутробного розвитку. Виявлюваність при УЗД складає 18-50 % [Allan L.D.,1998, Munn M.B.;1999, ReisPM, 1999]. Не вивчена етіологія вади (у виникненні відводиться роль генетичним факторам [Shokeir M.N., 1971], інфекційним [Christopher T Lam, 2009], аутоімунним. [Charles R., 2014]. При природному перебігу смертність складає 100 %. Хірургічне лікування складне, багатоетапне (належить до ВВС з неможливістю радикальної корекції у грудному віці. Суть такого втручання у виключенні з кровотоку ЛШ, а обидва кола кровообігу забезпечуються одним правим шлуночком (ПШ) за умов змішаної крові). [Turley K. et al., 1980]. У останній час набувають поширення спроби внутрішньоутробної аортальної вальвулопластики [Pedra Carlos, 2014], однак результат не завжди є позитивний. Фатальною помилкою клініцистів є неврахування будови ЛШ. За останніми даними, по якісних показниках (товщина компактного та трабекулярного шарів міокарда, форма та особливості порожнини, наявність фіброеластозу) та кількісних показниках (індекс трабекулярності міокарда (ІТМ), індекс вільної порожнини (ІВП), індекс щільності трабекулярного міокарда (ІЩТМ)) виявлені наступні типи будови ЛШ: "циліндричний", "трабекулярний", "губчастий", "щілина гіпопластична", "щілина гіпертрофічна" [Zakharova V. Hypoplastic left heart syndrome: Structural changes of the left ventricular myocardium. / V. Zakharova, T. Savchuk, O. Rudenko. // Virchows Arch.-463. - № 2013. - С. 198.]; [Савчук Т. В. Синдром гіпоплазії лівих відділів серця: особливості будови лівого шлуночка. / Т. В. Савчук, В. П. Захарова. // Вісник серцево-судинної хірургії. - 2014. - С. 307-310]. При хірургічному втручанні, пов'язаному з виключенням з кровотоку ЛШ необхідно враховувати стан ПШ, який відрізняється анатомічно і функціонально при різних типах СЛГС. Має значення наскільки ЛШ погіршує скоротливість у сегменті перегородки [Three-dimensional systolic kinematics of the right ventricle. / Haber I., Metaxas D.N., Geva T., Axel L. // Am J Physiol Heart Circ Physiol.-2005;289:H1826-1833]. Визначені кількісні показники, такі як міжшлуночковий індекс (МШІ) та робоча площа (РП) ПНІ, дають змогу побічно оцінити стан ПШ [Савчук Т.В., Захарова В.П., Лещенко І.В., Приходько Т.О. Спосіб визначення міжшлуночкового індексу серця. Патент 91803 Україна, МПК А61В 1/002. Київ. Державна установа "Національний інститут серцево-судинної хірургії ім. М.М. Амосова" АМН України, заявл. 18.03.2014, опубл. 10.07.2014; Савчук Т.В., Захарова В.П., Лещенко І.В., Приходько Т.О. Спосіб визначення "робочої" площі правого шлуночка серця при синдромі гіпоплазії лівих відділів серця. Патент 109840 Україна, МПК G01N 33/48 G01N 21/00 Київ. Державна установа "Національний інститут серцево-судинної хірургії ім. М.М. Амосова" АМН України, заявл. 29.05.2014, опубл. 12.10.2015]. Тип ЛШ, що займає найменшу частку у сегменті перегородки, а саме тому буде найменше впливати на функціональну спроможність. ПШ - це "щілина гіпопластична" з МШІ-0,13±0,1 та РП-81,3 %±7 (норма МШІ - 1,94±0,25; РП-40±2). Типи ЛШ "циліндричний", "трабекулярний" та "губчастий" мають МШІ від 1,05 до 1,59, що є менше за норму, але не настільки, щоб не впливати негативно на ПШ. Це підтверджується показником РП, який складає від 39,8 % до 69,7 %. Чим більше відрізняється від норми показник МШІ у бік зменшення, а РП у бік його збільшення, тим сприятливіше прогноз для хірургічного лікування з виключенням ЛШ. Окрему цікавість складає тип ЛШ "щілина гіпертрофічна" (МШІ-1,89±0,2; 49±3,1). Незначне зменшення МШІ у порівнянні з нормою, та показник РП, що не відрізняється від норми, робить цей тип найбільш сприятливим для внутрішньоутробної аортальної вальвулопластики, яка доцільна у даному випадку за умови 100 % відсутності фіброеластозу при цьому типі. Таким чином, при СЛГС кожний ЛШ має свою індивідуальність і приймати рішення щодо хірургічної тактики можливо тільки після визначеного при УЗД типу ЛШ. Тому, що різна будова ЛШ потребує різної корекції.

Усі типи ЛШ при СЛГС розрізняються формою порожнини, наявністю фіброеластозу ендокарда ЛШ, стану трабекулярного (ТМ) та компактного шарів міокарда (КМ) та поєднанням клапанної патології серця. Необхідно знайти спосіб, за яким можливо б було відрізнити типи з

приблизно рівною товщиною стінки, та довжиною порожнини, але з якісними та кількісними відмінностями КМ та ТМ.

Близьким способом оцінки міокарда та форми порожнини 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 включає макроскопічне та мікроскопічне дослідження будови серця. Однак, недоліком способу є те, що при розтині камери серця руйнується просторове розташування структур і важко оцінити форму шлуночка після розтину стінки шлуночка. А також різко гіпоплазований шлуночок настільки малий, що класичним способом за течією крові провести розтин неможливо.

За способом ціле серце плода або новонародженого 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 серцеву анатомію. Однак, візуальна оцінка камер серця не може дати адекватної уяви про стан міокарда та порожнини, тому неможливо визначити патогенетичну значимість цих змін.

Найближчим аналогом є спосіб оцінки ТМ та порожнини є визначення індексу вільної порожнини (ІВП). За цим способом 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:

$$ІВП = ПТМ / ПП, \text{ де:}$$

ПТМ - площа трабекулярного шару міокарда;

ПП - площа порожнини шлуночка. [Савчук Т.В., Трембовецька О.М., Захарова В.П., Лещенко І.В., Руденко О.В., Приходько Т.О. Спосіб визначення індексу вільної порожнини міокарда. Патент 107049 Україна, МПК G01N33/483 Київ. Державна установа "Національний інститут серцево-судинної хірургії ім. М.М. Амосова" АМН України, заявл. 02.08.2013, опубл. 10.11.2014, Бюл. 21]. При способі вимірюються площі ТМ та порожнини. Однак, найбільш доцільне його застосування при дослідженні трупних сердець, а недоліком способу є складність його застосування при УЗД живих плодів або новонароджених для визначення типу ЛШ, у зв'язку з тим, що для визначення площі ТМ не завжди чітко по усьому периметру (на верхівці серця, середній частині та основі) можна провести межу між КМ та ТМ.

В основу корисної моделі поставлена задача створити спосіб кількісної оцінки стану трабекулярного міокарда (ТМ) та порожнини (визначення ТПІ) трупних сердець зі СЛГС та можливість застосування при дослідженні сердець живих плодів або новонароджених при УЗД для визначення типу ЛШ, 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 товщини ТМ та довжини порожнини серця при СЛГС, що надає можливість кількісно визначити товщину ТМ ЛШ та довжину порожнини, обчислити ТПІ (визначити тип будови ЛШ при СЛГС) у порівнянні з нормою та іншими типами ЛШ при СЛГС та відповідно оцінити стан порожнини і ТМ ЛШ у плодів та новонароджених при розтинах та втілення способу при УЗД. Це і є основною метою способу, бо саме від виявленого типу ЛШ при УЗД залежить подальша доля хворого на СЛГС.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб визначення трабекулярно-порожнинного індексу (ТПІ) серця, що включає фіксування у 10 % нейтральному формаліні цілого серця, проведення по спиртах наростаючої концентрації, виготовлення парафінових блоків, потім з них на мікротомі виготовляють серійні поперечні зрізи у горизонтальній площині, товщиною 5 мкм, зрізи фарбують, гістологічні препарати фотографують за допомогою цифрової фотокамери через мікроскоп, згідно з корисною моделлю, здійснюють вимірювання товщини трабекулярного міокарда лівого шлуночка ТМ ЛШ та довжини порожнини з обчисленням їх співвідношення.

У способі визначення трабекулярно-порожнинного індексу ТПІ, що включає фіксування у 10 % нейтральному формаліні цілого серця, серце проводять по спиртах наростаючої концентрації, виготовляють парафінові блоки, з парафінових блоків на мікротомі виготовляють серійні поперечні зрізи у горизонтальній площині, товщиною 5 мкм, або повздовжні зрізи у фронтальній площині, зрізи фарбують. Гістологічні препарати фотографують за допомогою цифрової фотокамери через мікроскоп, здійснюють вимірювання товщини ТМ ЛШ та довжини порожнини з обчисленням їх співвідношення:

проводимо вимірювання товщини ТМ (ТМт). ТМт ЛШ складається з товщини ТМ вільної стінки ЛШ та товщини ТМ МШП (ТМт=ТМст+ТМмшп). На поперечних зрізах (найбільш інформативно проводити вимірювання у середній частині серця) проводимо вимірювання

товщини ТМ вільної стінки ЛШ (ТМст): від точки (А) на внутрішній оболонці серця (ендокарда) (середина вільної стінки ЛШ) до точки (В) на межі між ТМ та КМ. Ця точка відповідає міжтрабекулярним заглибинам. Проводимо вимірювання товщини ТМмшп: від точки (С) на внутрішній оболонці серця (ендокарда) МШП (середина вільної стінки ЛШ) до точки (Д) на межі між ТМ та КМ МШП. Обидва значення складаються. Таким чином, отримуємо товщину ТМт ЛШ на поперечних зрізах. Якщо вимірювання ТМт проводиться на повздовжніх зрізах: від точки (А) ендокарда вільної стінки у середній частині серця ЛШ проводимо перпендикуляр до міжтрабекулярних заглиблень вільної стінки - точки (В) у середній частині серця (ТМст). Від точки (С) ендокарда МШП у середній частині серця ЛШ проводимо перпендикуляр до міжтрабекулярних заглиблень - точки (Д) у середній частині серця. Обидва значення складаються. Таким чином, отримуємо товщину ТМт ЛШ на повздовжніх зрізах. Проводимо вимірювання довжини порожнини (Пд) на поперечних зрізах. Від точки ендокарда (А) найвіддаленішої від міжшлуночкової перегородки (МШП) (на поперечних зрізах це бічна стінка серця) проводимо перпендикуляр до точки ендокарда МШП (С) (як правило, це середина МШП). На повздовжніх зрізах Пд: від точки ендокарда (А) найвіддаленішої від міжшлуночкової перегородки (МШП) проводимо перпендикуляр до точки ендокарда МШП (як правило, це середина МШП) - точка(С). Обчислюємо співвідношення ТМт/Пд. Отримуємо ТПІ.

Вимірюються лінійні розміри ТМ та довжини порожнини, обчислюють співвідношення, можна застосовувати при УЗД, дозволяє визначити тип будови ЛШ при синдромі лівобічної гіпоплазії серця (СЛГС) у живого плода та новонародженого та скорегувати лікувальну тактику.

ТПІ будуть відрізнятися при різних типах будови ЛШ. Тому, обчисливши ТПІ, можна визначити тип будови ЛШ плода або новонародженого. Знаючи, який з вище зазначених типів ЛШ у плода або у новонародженого, можливо визначити подальшу тактику лікування.

У нормі ТПІ у плодів та новонароджених склав $0,60 \pm 0,04$ на аутопсійних серцях. При типі ЛШ "циліндричний" ТПІ дорівнює $0,55 \pm 0,02$, при типах "щілина гіпертрофічна" - $0,88 \pm 0,01$; або "щілина гіпопластична" - $0,7 \pm 0,03$; "трабекулярний" - (верхівка та середня частина - $0,14 \pm 0,01$; основа - $0,41 \pm 0,02$), "губчастий" - $0,12 \pm 0,01$.

Менш за усі типи ЛШ відрізняється від норми ТПІ при типі "циліндричний" - $0,55 \pm 0,02$. Однак, необхідно враховувати, що зменшуються пропорційно обидва лінійні виміри ТМт та Пд у порівнянні з нормою. Але зміни у міокарді (хаотичне розташування міокардіальних волокон) та ендокарді (фіброелатоз) ЛШ не забезпечують його функціональну спроможність. А при багатоетапному хірургічному втручанні він шкідливо впливатиме на скорочення ПШ у ділянці перегородки, яка є половиною ПШ при даних типах ЛШ, тому, що для виключення ЛШ із кровотоку він має "занадто великі" для СЛГС розміри. При виявленому типі ЛШ "щілина гіпопластична" найбільш оптимальним лікуванням може бути багатоетапне хірургічне втручання. Так як ЛШ при цьому типі є найбільш гіпоплазованим і найменше впливає на функціональну спроможність ПШ, який забезпечуватиме обидва кола кровообігу.

Тип ЛШ "губчастий" - $0,12 \pm 0,01$ та тип "трабекулярний" (верхівка з середньою частиною) - $0,14 \pm 0,01$ мають приблизно однаковий показник ТПІ. Це пов'язано з трабекулярним шаром міокарда, який має найбільшу товщину при цих типах, а при "губчастому" типі він переважає над КМ більше ніж удвічі. Порожнина при цих типах різко зменшена, у просторі має вигляд численних звивистих каналів. У основі тип "трабекулярний" - $0,41 \pm 0,02$ - нагадує тип "циліндричний". Якщо ТПІ збільшений, то вірогідніше за все, це типи ЛШ "щілина гіпертрофічна" - $0,88 \pm 0,01$; або "щілина гіпопластична" - $0,7 \pm 0,03$. Зменшення індексу відбувається за рахунок зменшення порожнини (розміру від ПШП до вільної стінки). При типі ЛШ "щілина з гіпертрофічна" ЛШ гіпоплазований найменше з найбільшою збереженістю шарів міокарда (компактного та трабекулярного). Відсутність фіброелатозу також є позитивним моментом. Тому, цей тип ЛШ найбільш сприятливий для внутрішньоутробного корегування вади: усунення атрезії або стенозу АК. Тип "щілина гіпопластична" має оптимістичний прогноз для багатоетапної хірургічної корекції, у зв'язку з малими розмірами ЛШ. Спосіб визначення ТПІ може бути застосований у пре- та постнатальній УЗ-діагностиці при СЛГС. За допомогою способу можливо при УЗД виявити не тільки гіпоплазію ЛШ, а і виявити тип ЛШ при СЛГС Та при фатальних випадках СЛГС, якими на сьогодні є типи ЛШ "трабекулярний", "губчастий" та "циліндричний", змінити пре- та постнатальне лікування на переривання вагітності.

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 мікромомі Leica SM 2000 R виготовляють серійні поздовжні та поперечні зрізи товщиною 5 мкм. Зрізи фарбують гематоксилін-еозин.

Мікроскопію проводимо за допомогою мікроскопа Olympus BX41 (об'єктив x2, окуляр x10). Гістологічні препарати фотографували за допомогою цифрової фотокамери Olympus SP-500 UZ та мікроскопа, зображення вводили у комп'ютер з використанням програми Quick Photo.

За допомогою програми Quick Photo проводили всі вимірювання в досліджуваних гістологічних препаратах. Фіг. 2,3.

Розрахуємо ТПІ у середній частині серця плода 21 тижня вагітності (Фіг. 2).

$ТПІ = Пд (ТМст + ТМмшп)$

$Пд = 1309 \text{ (мкм)}$

$ТМст + ТМмшп = 1694 \text{ (мкм)} + 564 \text{ (мкм)} = 2258 \text{ (мкм)}$

$ТПІ = 0,56 \text{ (од.)}$

Приклад 2. Макропрепарат цілого серця не фіксований, або після фіксації у 10 % нейтральному формаліні розрізають у горизонтальній площині, щоб утворилися поперечні зрізи. Зрізи фотографують. За допомогою комп'ютерних програм проводять вище зазначені вимірювання тим самим підтверджуючи кількісно уяву ТМ та порожнини вже під час розтину.

Перелік фігур графічних зображень:

Фіг. 1. Поперечний зріз ЛШ серця новонародженого з СЛГС - тип ЛШ "губчастий". Показано вимірювання ТМст, ТМмшп, та Пд. ТПІ дорівнює 0,12.

Фіг. 2. Поперечний зріз цілого серця плода у терміні вагітності 21 тиждень зі СЛГС, типом ЛШ "циліндричний". Зображення отримано за допомогою комп'ютерної реконструкції шляхом зіставлення фото окремих ділянок поля зору. Показано вимірювання ТМст, ТМмшп, та Пд. ТПІ дорівнює 0,56.

Фіг. 3. Повздовжній зріз цілого серця плода у терміні вагітності 21 тиждень зі СЛГС, типом ЛШ "циліндричний". Зображення отримано за допомогою комп'ютерної реконструкції шляхом зіставлення фото окремих ділянок поля зору. Показано вимірювання ТМст, ТМмшп, та Пд. ТПІ дорівнює 0,58.

Фіг. 4. Поперечний зріз серця 2 місячної дитини зі СЛГС, отриманий за допомогою УЗД. Показано вимірювання ТМст, ТМмшп, та Пд. ТПІ дорівнює 0,57.

Фіг. 5. Повздовжній зріз серця 2 місячної дитини зі СЛГС, отриманий за допомогою УЗД. Показано вимірювання ТМст, ТМмшп, та Пд. ТПІ дорівнює 0,56.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення трабекулярно-порожнинного індексу (ТПІ) серця, що включає фіксування у 10 % нейтральному формаліні цілого серця, проведення по спиртах наростаючої концентрації, виготовлення парафінових блоків, потім з них на мікротомі виготовляють серійні поперечні зрізи у горизонтальній площині, товщиною 5 мкм, зрізи фарбують, гістологічні препарати фотографують за допомогою цифрової фотокамери через мікроскоп, який **відрізняється** тим, що здійснюють вимірювання товщини трабекулярного міокарда лівого шлуночка ТМ ЛШ та довжини порожнини з обчисленням їх співвідношення.

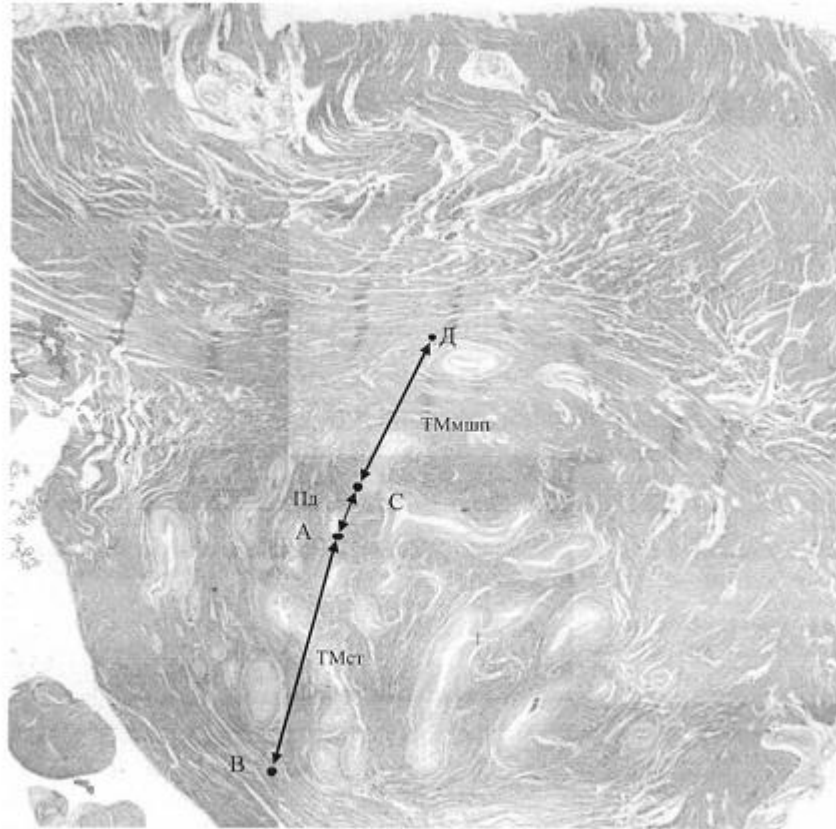


Fig. 1

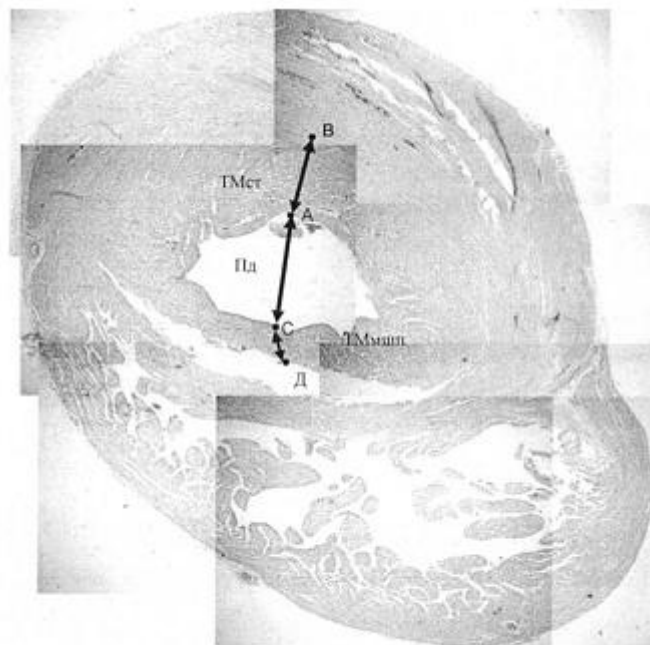


Fig. 2



Fig. 3

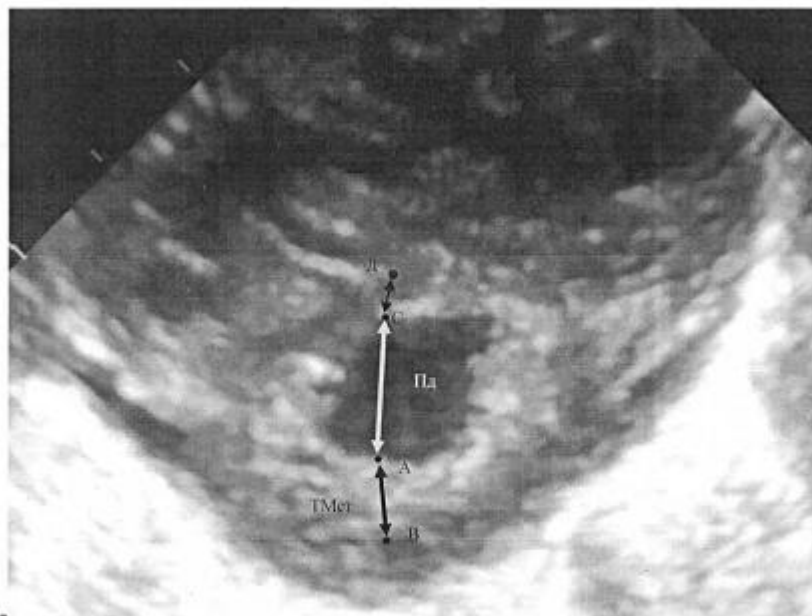
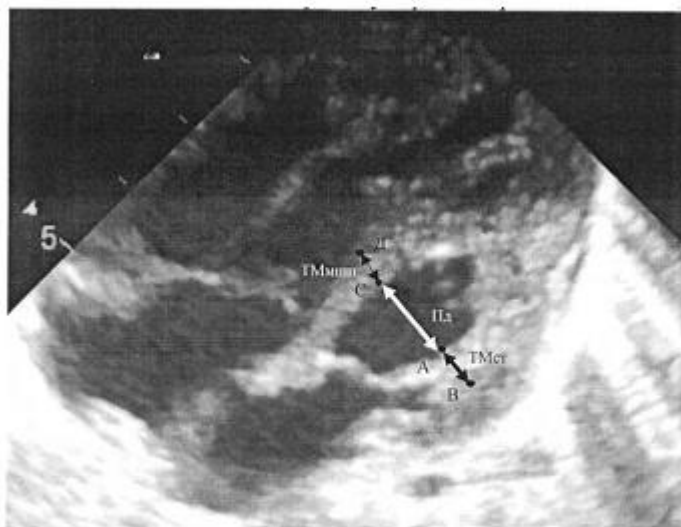


Fig. 4



Фиг. 5

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