

УДК: 616.12-005.4-073.55

**В.Д. Мішалов<sup>1</sup>,****Б.В. Михайличенко<sup>2</sup>,****О.В. Филипчук<sup>3</sup>,****О.М. Гуров<sup>4</sup>,****В.Т. Бачинський<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Національна медична академія  
післядипломної освіти імені П.Л.  
Шупика;

<sup>2</sup>Національний медичний університет  
імені О.О.Богомольця;

<sup>3</sup>Головне бюро судово-медичної  
експертизи Міністерства охорони  
здоров'я України;

<sup>4</sup>Харківська медична академія  
післядипломної освіти;

<sup>5</sup>Вищий державний навчальний заклад  
України "Буковинський державний  
медичний університет"

## ПРОГРЕСИВНІ ТЕХНОЛОГІЇ ВІЗУАЛІЗАЦІЇ ГОСТРОЇ ІШЕМІЇ МІОКАРДА

**Ключові слова:** фазово-контрастна мікроскопія, гостра ішемія міокарда, поляризаційне сканування,

**Резюме.** В даний час актуальною є розробка та впровадження методів діагностики гострого ішемічного пошкодження міокарда, адже його визначення, особливо на ранніх термінах виникнення, є надзвичайно складним завданням для судово-медичних експертів практиків. Це спонукало нас до опрацювання тематичних наукових джерел з метою пошуку новітніх методів діагностики гострої ішемії міокарда.

### Вступ

Згідно з даними Всесвітньої Організації Охорони здоров'я, від захворювань системи кровообігу щорічно вмирає близько 20 млн. людей, серед яких більше половини - від різних форм ішемічної хвороби серця (ІХС). Якщо різні форми хронічної ІХС не викликають труднощів при морфологічній діагностиці, то стикаючись на розтині з гострими формами ІХС, особливо з гострою коронарною недостатністю, у судово-медичного експерта нерідко виникають проблеми з постановкою діагнозу.

У зв'язку з цим ми провели аналіз прогресивних методів діагностики гострої ішемії міокарда (ГІМ) та зацентували свою увагу на актуальності розробки нових методів і критеріїв діагностики, застосування яких може поліпшити виявлення патологічних змін міокарда.

За допомогою звичайної світлової мікроскопії, ідентифікація некротичної тканини на ранній стадії (менш ніж через 6 годин після оклюзії коронарної артерії) ГІМ обмежена відсутністю контрасту між некротизованими та не некротизованими міоцитами. Використання фазово-контрастної мікроскопії (ФКМ) для аналізу гематоксилін-еозин забарвлених зрізів міокарда дозволяє виявити контраст між некротизованими та істотно не

зміненими волокнами. У деяких дослідженнях можливості ФКМ ідентифікувати необоротно пошкоджений міокард перевірялися за допомогою електронної мікроскопії [3].

Міокард, який був ішемізований протягом декількох днів або тижнів чітко визначається як некротичний за допомогою стандартного гістологічного аналізу. Критерії некрозу включають розчинення ядер міоцитів (каріолізіс) і клітин у цілому, інфільтрація лейкоцитів, а також зростання фіброblastів і колагенових волокон [6]. На відміну від повністю розвиненого інфаркту міокарда, гістологічна діагностика ГІМ залишається складною. Класичні критерії раннього некрозу, тобто гіпереозинофілія, стоншення та хвилястість волокон, а також збільшення міжклітинного простору, можуть бути настільки незначними, що навіть великі вогнища ураження важко виявити. Таким чином, різні методики, засновані на флуоресцентній мікроскопії, імунофлуоресцентній мікроскопії або електронній мікроскопії, були створені для виявлення ранніх стадій ГІМ міокарда. Ці методи можуть ідентифікувати некротичні волокна на ранній стадії ГІМ, але забирають багато часу і вимагають багаторічного досвіду та технічних ресурсів, які не легко доступні.

Для реалізації методу фазового контрасту

(МФК) необхідний спеціальний фазовий конденсор (з кільцевою вставкою) і об'єктив (з кільцевою вставкою). МФК є одним із різновидів методу подвійного симетричного діафрагмування. У ньому використовуються кільцеві вставки в об'єктиві, які є додатковими для кільцевих вставок у конденсорі. Метод пов'язаний зі зміною умов освітлення при спостереженні слабкоконтрастних біологічних об'єктів у незабарвленому стані з метою їх візуалізації (контрастування) [3,5]. На відміну від методу темного поля, що виявляє лише контури об'єкта, МФК дозволяє побачити елементи внутрішньої структури розглянутого прозорого об'єкта. Пристрій дає можливість перетворювати фазові зміни світлових хвиль, що проходять через об'єкт, в амплітудні, у результаті чого прозорі об'єкти стають видимими. Залежно від розміру фазових кілець і способу їх отримання розрізняють позитивний та негативний фазовий контраст.

Метод може бути реалізований двома способами:

- внутрішнім - розташування фазових кілець всередині оптичних систем об'єктива і конденсора;
- зовнішнім - розташування фазових кілець поза об'єктивом і конденсором.

Внутрішній спосіб реалізується за допомогою фазово-контрастних пристроїв, що містять фазові об'єктиви і спеціальний конденсор з набором світлових кілець (вбудованих в конденсор або виконаних у вигляді вкладишів). Купуються окремо від мікроскопа.

Зовнішній спосіб реалізується за допомогою відповідних кілець, які встановлюються в площині апертурної діафрагми конденсора й унесену за допомогою додаткових лінзових елементів площину вихідної зіниці об'єктива. При цьому і конденсор, і об'єктив - звичайні. Найчастіше цей спосіб реалізується в сучасних інвертованих мікроскопах.

Для виявлення ознак гострої ішемії міокарда також застосовують метод кольорового фазового контрасту. Для реалізації даного методу на одну з лінз, як зазвичай, наноситься кільцева фазова пластинка. Поверхня, не зайнята кільцем, покривається тонким шаром іншої речовини. Ці дві речовини повинні мати однаковий показник заломлення в оптичній частині спектра, але дисперсії цих речовин повинні бути різні. Показник заломлення фазового кільця набагато менший показника заломлення навколишнього шару у фіолетовій ділянці спектра, і набагато більший у червоній. Для одного і того ж об'єкта виходить позитивний або негативний фазовий контраст, в залежності від довжини хвилі світла. Наприклад, об'єкт з по-

казником заломлення, більшим ніж показник заломлення навколишнього середовища. У червоному світлі він буде більш яскравим, ніж навколишнє поле, а в синьому світлі - темнішим. У білому світлі об'єкт буде пофарбований у жовто-оранжевий колір з синьо-фіолетовою каймою [3].

Фірмою Nikon розроблений удосконалений МФК - ADLA podized Phase Contrast. Суть методу полягає в тому, що замість одного фазового кільця в конденсорі використовуються три додаткових кільця у вигляді нейтральних фільтрів. При звичайній ФКМ при спостереженні фазових об'єктів виникає ефект свічення у вигляді ореолу по контуру зображення об'єкта. Уведення двох додаткових кілець з поглинанням 50% з боків звичайного фазового кільця дозволяє зменшити ефект свічення і підвищити контраст навіть для дрібних об'єктів.

Ще одним сучасним методом, який використовується для виявлення ознак ГІМ є диференційно-інтерференційно-контрастна (ДІК) мікроскопія. Це світлова оптична мікроскопія, яка призначена для створення контрасту в нефарбованих прозорих зразках [4]. ДІК мікроскоп дозволяє визначити оптичну щільність досліджуваного об'єкта на основі принципу інтерференції і таким чином побачити недоступні оку деталі. Відносно складна оптична система дозволяє створити чорно-білу картину зразка на сірому тлі. Це зображення подібне до того, яке можна отримати за допомогою фазово-контрастного мікроскопа, але в ньому відсутня дифракційне свічення. У ДІК мікроскопі поляризований промінь з джерела світла розділяється на два промені, які проходять через зразок різними оптичними шляхами. Довжина цих оптичних шляхів різна. Згодом ці промені інтерферують при злитті. Це дозволяє створити об'ємне рельєфне зображення, яке відповідає зміні оптичної щільності зразка, акцентуючи лінії і кордони. Інтерференційний контраст - це подальший розвиток фазового контрасту.

Виявляється, що фазовий контраст можна реалізувати на звичайному мікроскопі без будь-яких вставок за допомогою комп'ютера [5]. Для цього в комп'ютер вводяться два зображення об'єкта. Перше зображення при слабкому розфокуванні об'єкта при малому зміщенні столика мікроскопа вгору. Друге зображення при слабкому розфокуванні об'єкта при малому зміщенні столика мікроскопа вниз. При відніманні одного зображення з іншого в результаті отримуємо фазове зображення об'єкта. Суть методу полягає в тому, що при зміщенні столика в різних напрямках відбувається різна зміна фаз.

Комп'ютеризований підхід до поляризаційно-

го сканування також пропонується у роботах Ванчуляк О.Я. [2, 8]. Автор впровадив систему піксельного аналізу лазерних поляризаційних зображень міокарда з наступним статистичним опрацюванням результатів, що дозволяє перевести отримані дані в цифровому значенні [1]. Це якісно новий підхід у діагностиці ГІМ, що зводить до мінімуму суб'єктивізм людського фактору, та час отримання результату [7].

### Висновки

1. Розглянуті методики суттєво розширюють можливість діагностики гострої ішемії міокарда практичними судово-медичними експертами

2. Враховуючи розвиток технологічних можливостей ми вважаємо доцільною розробку та впровадження в практику судово-медичних експертів сучасних лазерних поляриметричних методів діагностики гострої ішемії міокарда, так як вони є найбільш перспективними серед усієї гами поляризаційних досліджень сьогодення.

### Перспективи подальших досліджень

Буде продовжена робота по вдосконаленню запропонованого методу.

**Література.** 1. Бачинський В.Т. Діагностика гострої коронарної недостатності із застосуванням статистичного фазового аналізу лазерних зображень міокарда / В.Т. Бачинський, О.Г. Ушенко, Ю.В. Любеля // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. - Випуск 20, книга 2. - м. Київ. - 2011. 2. Ванчуляк О.Я. Можливості використання кореляційного фазового лазерного аналізу для діагностики структурних змін міокарда / О.Я. Ванчуляк // Вісник Вінницького національного медичного університету. - 2015. - Т.19, №2. - С.325-330. 3. Перспективы исследования эритроцитов методом фазово-контрастной микроскопии при ишемической болезни сердца / А.В. Буканова, С.В. Юричева, Л.А. Гребенщикова, Л.И. Радькова // Тихоокеанский медицинский журнал. - 2011. - № 3 (45). - С. 53-57. 4. Кларк Э.Р. Микроскопические методы исследования материалов / Э.Р. Кларк, К. Н. Эберхардт // Нью-Йорк: CRC Press. - 2002. - 371с. 5. Barrett N.H. Foundations of Image Science / N.H. Barrett, K.J. Myers // Foundations of Image Science. - 2003. - P. 815-856. 6. Differential phase-contrast microscopy at atomic resolution / N. Shibata, S. Findlay, Y. Kohno [et al.] // Nature Physics. - 2012. - Vol. 8, № 8. - P. 611-615. 7. Liubelia I.V. Myocardial changes under the conditions of acute ischemia using the method of the matrix analysis / I.V. Liubelia, N.O. Maksymchuk, O.J. Wanchulyak //

Abstract book. X International Congress of Medical Sciences. - Sofia, Bulgaria. - 2011. - P 222. 8. Modern optical methods of investigation of acute ischemic myocardial injury / O.Y. Vanchulyak, N.V. Tymoshchuk, Y.V. Sarkisova, P.Y. Kyshkan / XVth Edition of Craiova International Medical Students' Conference. - 6-9 November 2014. - Craiova, Romania.

### ПРОГРЕССИВНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА

*В.Д. Мишалов, Б.В. Михайличенко, О.В. Филипчук, А.Н. Гуров, В.Т. Бачинский*

**Резюме.** В настоящее время актуальной является разработка и внедрение методов диагностики острого ишемического повреждения миокарда, ведь его определение, особенно на ранних сроках возникновения, является чрезвычайно сложной задачей для судебно-медицинских экспертов практиков. Это побудило нас к разработке тематических научных источников с целью поиска новых методов диагностики острой ишемии миокарда.

**Ключевые слова:** фазово-контрастная микроскопия, острая ишемия миокарда, поляризационное сканирование, лазерная поляриметрия.

### PROGRESSIVE TECHNOLOGIES FOR VISUALIZING ACUTE MYOCARDIAL ISCHEMIA

*V.D. Mishalov, B.V. Mihailichenko, O.V. Fylypchuk, O.N. Gurov, V.T. Bachinskiy*

**Abstract.** Currently, the development and implementation of methods for diagnosing acute ischemic myocardial injury are very relevant, because identification, especially in the early stages, is extremely difficult for forensic experts. This prompted us to study scientific sources to find new methods for diagnosing acute myocardial ischemia.

**Keywords:** phase-contrast microscopy, acute myocardial ischemia, polarization scanning, laser polarimetry.

**Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education**

**Bogomolets National Medical University**

**Main Bureau of Forensic Medical Examination Ministry of Health of Ukraine**

**Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education**

**Higher State Educational Institution of Ukraine "Bukovinian State Medical University"**

*Clin. and experim. pathol. - 2016. - Vol.15, №3 (57). - P.80-82.*

*Надійшла до редакції 10.08.2016*

*Рецензент – проф. В.І. Федів*

*© В.Д. Мишалов, Б.В. Михайличенко, О.В. Филипчук, О.М. Гуров, В.Т. Бачинський, 2016*