



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **122707** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
G01N 33/48 (2006.01)
G01N 21/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2017 07238</p> <p>(22) Дата подання заявки: 10.07.2017</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.01.2018</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.01.2018, Бюл.№ 2</p>	<p>(72) Винахідник(и): Ванчуляк Олег Ярославович (UA), Максимчук Наталія Олексіївна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ "БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ" МОЗ УКРАЇНИ, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)</p>
---	--

(54) СПОСІБ ПОСМЕРТНОЇ ДІАГНОСТИКИ ГОСТРОЇ КОРОНАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

(57) Реферат:

Спосіб посмертної діагностики гострої коронарної недостатності включає використання поляризованого світла для дослідження зрізів міокарда. При цьому проводять статистичний аналіз мап азимута поляризації мікроскопічних зображень тканини міокарда і при отриманні значень статистичних моментів 1-4-го порядків $M_1^\alpha = 0,56$; $M_2^\alpha = 0,16$; $M_3^\alpha = 0,28$; $M_4^\alpha = 1,19$ посмертно діагностують гостру коронарну недостатність.

UA 122707 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до судової медицини, та може бути використана для діагностики гострої коронарної недостатності, а також проведення диференційної діагностики з іншими формами ішемічної хвороби серця в практичній діяльності лікарів судово-медичних експертів та патологоанатомів, які займаються проблемами посмертної верифікації причини смерті.

Однією з найбільш поширених і важко діагностованих форм раптової смерті є раптова серцева смерть (РСС), в основі якої можуть лежати окремі захворювання - ішемічна хвороба серця (ІХС), міокардити, кардіоміопатії, уроджені вади серця та інші [Л.В. Кактурский, 2008]. За визначенням ВООЗ, раптова серцева смерть - це смерть практично здорових людей у перші 6 годин після появи симптомів захворювання. У 95 % випадків вона настає протягом однієї години, з них - у 73 % випадків упродовж перших 10 хвилин. Не менш важливим є діагностика (чи диференційна діагностика) гострого інфаркту міокарда. Секційне дослідження таких випадків вимагає від експерта знання чітких критеріїв диференційної діагностики гострої ішемії міокарда, наслідком якої можуть бути випадки РСС чи гострий інфаркт міокарда. Однак, на думку Г.Г. Автандилова (2000), судово-медичні експерти володіють цими критеріями не в достатньому обсязі при секційному дослідженні трупа.

Найбільш частою причиною РКС є коронарний спазм, тривалість якого складає до 6 годин. Раптова оклюзія коронарних судин, що є пусковим фактором гострої коронарної недостатності (ГКН), запускає цілий ряд патологічних процесів, які в кінцевому рахунку призводять до летального наслідку [Л.В. Кактурский, 2008; Э.А. Порсуков, 2009; И.Л. Телкова, 2007]. Швидка зміна патофізіологічних процесів та, відповідно, їх морфологічного відображення, значно ускладнює посмертну верифікацію ГКН у ранні терміни.

Можливим вирішенням згаданого кола питань потенційно є лазерні поляриметричні та автофлуоресцентні методи, які поєднують аналіз поляризаційно-неоднорідних структур біотканин (БТ) з наступним опрацюванням отриманих даних потужним математичним апаратом.

Справді, більшість БТ характеризуються оптичною анізотропією, як на мікроскопічному, так і на макроскопічному рівнях [В.Т. Бачинський, 2008]. Оптична анізотропія на макроскопічному рівні викликана просторово впорядкованою фібрилярною структурою протеїнових молекул, яка обумовлює лінійне двопроменезаломлення. У випадку міокарда такими протеїновими молекулами є молекули міозину. Оскільки під час ГКН відбувається різке падіння концентрації АТФ, то голівки міозинових молекул не можуть від'єднатись від f-актину, формуючи мікроконтрактури. Таким чином існує патофізіологічне підґрунтя до використання лазерних поляриметричних методів для посмертної діагностики ГКН.

Аналогом корисної моделі є спосіб світлової мікроскопії препаратів, забарвлених гематоксилін-еозином [Коржевский Д.Э. Применение гематоксилина в гистологической технике: Морфология. 2007. Т. 132, № 6. С. 77-81], в якому виявляють перші еозинофільні гіалінізовані серцеві волокна при двогодинній прижиттєвості ішемії; при чотирьохгодинній зажиттєвості ішемії та достатній кваліфікації візуалізують поодинокі вогнища жирової дегенерації та перші ознаки геморагічної демаркації і лізис ядер кардіоміоцитів.

Недоліком аналогу є відсутність унікальних критеріїв ГКН, а сам спосіб володіє долею суб'єктивності, оскільки оцінка результатів проводиться людиною.

Найближчим аналогом корисної моделі є спосіб виявлення ГКН в поляризованому світлі [Calvert J.W. Cardiac Muscle / J.W. Calvert, DJ. Lefer // Muscle. - 2012-Vol. 1. - P. 57-66.], в якому в поляризованому світлі досліджують заморожені або парафінові зрізи міокарда після депарафінізації, нефарбовані та забарвлені, залиті у різні середовища, при цьому міофібрили в поляризованому світлі виявляють характерну поперечну смугастість, пов'язану з чергуванням, анізотропних (А) та ізотропних (І) дисків; диски А мають яскраво виражене позитивне двопроменепереломлення і здаються світлими в поляризованому світлі (у звичайному світлі вони темні), тоді як І-диски майже повністю позбавлені здатності до двопроменепереломлення і в поляризованому світлі виглядають темними (у звичайному світлі - світлими). Виявляють контрактури при гострому ішемічному ушкодженні кардіоміоцитів та ідентифікують гіперрелаксацію саркомерів при ішемії міокарда.

Недоліком найближчого аналога є відсутність числової характеристики отриманих результатів.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити спосіб посмертної діагностики гострої коронарної недостатності шляхом проведення статистичного аналізу мап азимута поляризації мікроскопічних зображень тканини міокарда.

Спільною ознакою корисної моделі та найближчого аналогу є використання поляризованого світла для дослідження зрізів міокарда.

Відмінною ознакою корисної моделі є проведення статистичного аналізу мап азимута поляризації мікроскопічних зображень тканини міокарда; при отриманні значень статистичних моментів 1-4-го порядків $M_1^\alpha = 0,56$; $M_2^\alpha = 0,16$; $M_3^\alpha = 0,28$; $M_4^\alpha = 1,19$ посмертно діагностують гостру коронарну недостатність.

5 Визначення термінів, які використовуються при описі корисної моделі: раптова коронарна смерть, гостра коронарна недостатність, поляриметрия.

Теоретичні передумови здійснення способу.

10 Весь комплекс БТ можна представити сукупністю фібрилярних білкових структур, які формують його унікальну структурно-функціональну організацію [Y.A. Ushenko, Y.Y. Tomka, A.V. Dubolazov, 2011]. Важливою особливістю даних фібрилярних протеїнів є їх чітка впорядкованість, що надає їм властивості рідких кристалів - речовин, які одночасно проявляють плинність рідин і властивості кристалів, молекулам яких властива певна симетрія. Як наслідок, існує анізотропія механічних, електричних, магнітних і оптичних властивостей речовин цього класу. Саме анізотропію оптичних властивостей можна виявити методами поляриметрії.

15 Оскільки під час ГКН відбуваються конфірмаційні зміни актино-міозинового комплексу, виявити які можна за допомогою поляризованого світла, використання поляризаційних методів для діагностики ГКН є багатообіцяючим [B.T. Бачинський, O.Y. Ванчуляк, I.G. Савка, M.P. Тимчук, 2009].

20 Авторами було досліджено 150 зразків тканини міокарда із ГКН для виявлення діагностичних можливостей використання статистичного аналізу мап азимута поляризації їхніх лазерних поляризаційних зображень.

Вимірювання поляризаційних мап азимута поляризації зображень тканини міокарда проводилося у стандартному розташуванні лазерного поляриметра [Y.A. Ushenko, A.V. Dubolazov, A.O. Karachevtsev, 2011; Y.A. Ushenko, 2011].

25 За допомогою обертання осі пропускання аналізатора на кут Θ в межах $= 0^\circ - 180^\circ$ визначено масиви мінімальних і максимальних рівнів інтенсивності $I_{\min}(p \times k)$; $I_{\max}(p \times k)$ зображення міокарда для кожного окремого пікселя (mn) CCD-камери і, відповідні їм кути повороту $\Theta(p \times k)(I(p \times k) = \min)$.

30 На фіг. 1 представлено лазерне зображення поляризаційно-візуалізованої фібрилярної сітки зрізу тканини міокарда з ГКН (у перехрещених $\Theta = 90^\circ$ площинах пропускання поляризатора і аналізатора). Видно, що значний внесок у формування розподілів азимутів поляризації дають оптико анізотропні первинні та вторинні структури білків фібрилярних мереж актино-міозинового комплексу. Морфологічні зміни тканини міокарда у наслідок ГКН виявляються у формуванні локальних кластерів анізотропних структур - у відповідних візуалізованих поляризаційних зображеннях фібрилярних мереж його зрізів спостерігається певна координатна локалізація світлих ділянок.

40 Слід було очікувати, що якісно проаналізовані оптичні прояви зміни будови тканини міокарда внаслідок ГКН більш виразно виявляться у значеннях статистичних моментів 1-4-го порядків, які характеризують розподіли азимутів поляризації поляризаційних зображень досліджуваних зразків.

На фіг. 2 представлено лазерне зображення зрізу тканини міокарда при ГКН: а - двомірний $(p \times k)$ розподіл азимутів поляризації α ; б - гістограма випадкових значень азимутів поляризації.

45 Аналіз поляризаційної мапи азимутів (фіг. 2, а) поляризаційного зображення зрізу тканини міокарда з ГКН виявив, що для гістограми випадкових значень α характерний максимальний діапазон зміни $(0^\circ \leq \Delta\alpha \leq 180^\circ)$ значень азимуту поляризації лазерного випромінювання. Проте, співвідношення величини головного екстремуму ($\alpha_0 = 90^\circ$) і локальних екстремумів складає 1 до 50 (фіг. 2, б). Дана обставина об'єктивно обумовлює високий рівень значень статистичного моменту 4-го порядку, що характеризує розподіл азимутів поляризації мікроскопічного зображення тканини міокарда.

50 З іншого боку, гістограма розподілу значень азимутів поляризації зображення тканини міокарда з ГКН дещо асиметрична відносно головного екстремуму. Статистично це виявиться у відповідній величині статистичного моменту 3-го порядку, що характеризує асиметрію розподілу значень азимута поляризаційної мапи $\alpha(p \times k)$ поляризаційного зображення.

Кількісно оптичні прояви анізотропії мереж міозинових фібрил тканини міокарда при ГКН ілюструє сукупність значень статистичних моментів 1-4-го порядків $M_1^\alpha = 0,56$; $M_2^\alpha = 0,16$; $M_3^\alpha = 0,28$; $M_4^\alpha = 1,19$.

5 Таким чином посмертна верифікація ГКН методом статистичного аналізу азимута лазерних поляриметричних зображень можлива за сукупністю референтних значень статистичних моментів 1-4-го порядків $M_1^\alpha = 0,56$; $M_2^\alpha = 0,16$; $M_3^\alpha = 0,28$; $M_4^\alpha = 1,19$.

Спосіб здійснюється наступним чином.

10 При проведенні експертизи вилучають шматочки міокарда з наступних ділянок: верхівка, стінка лівого шлуночка, стінка правого шлуночка, перетинка, стінка лівого передсердя, стінка правого передсердя; при підозрі на ділянку ішемії в якійсь іншій зоні чи на їх переході її вилучають також. З вилучених зразків міокарда за допомогою заморожуючого мікротома виготовляють нативні гістологічні зрізи міокарда 30 ± 5 мкм. Отримані зрізи міокарда розташовують в оптичній схемі лазерного поляриметра між механічно рухомою чвертьхвильовою пластинкою та мікрооб'єктивом. Опромінення проводять паралельним
15 $(\otimes = 2 \times 10^3 \mu\text{m})$ слабкоінтенсивним ($P = 5,0$ мВт) пучком He-Ne лазера ($\lambda = 0,6328 \mu\text{m}$). Зріз міокарда послідовно зондується лазерним пучком із наступними типами поляризації: лінійна з азимутами 0° , 90° , $+45^\circ$ і права циркуляція (\otimes) . Реєстрацію проводять за допомогою CCD-камери.

20 Проводять поляриметрію у межах сукупності пікселів світлочутливої площадки, отримують поляризаційні мапи, тобто координатні розподіли значень азимута $\alpha(p \times k)$ поляризації;
 $\alpha(p \times k) = \Theta(|(p \times k) = \min) - \frac{\pi}{2}$. Для отриманих даних поляриметрії у межах сукупності пікселів світлочутливої площадки проводять статистичний аналіз двомірних розподілів даних шляхом математичної обробки на ЕОМ.

25 При отриманні референтних значень статистичних моментів 1-4-го порядків $M_1^\alpha = 0,56$; $M_2^\alpha = 0,16$; $M_3^\alpha = 0,28$; $M_4^\alpha = 1,19$ посмертно діагностують гостру коронарну недостатність.

Приклади використання корисної моделі.

Було досліджено за допомогою запропонованого способу 200 зразків тканини міокарда. Було діагностовано гостру коронарну недостатність у 124 випадках. Результат було підтверджено за допомогою клінічних досліджень.

30 Технічний результат. Запропонований спосіб дозволяє покращити ефективність проведення посмертної діагностики гострої коронарної недостатності в донекротичній стадії шляхом аналізу мап азимута поляризації мікроскопічних зображень міокарда.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

35 Спосіб посмертної діагностики гострої коронарної недостатності, що включає використання поляризованого світла для дослідження зрізів міокарда, який **відрізняється** тим, що проводять статистичний аналіз мап азимута поляризації мікроскопічних зображень тканини міокарда; при отриманні значень статистичних моментів 1-4-го порядків $M_1^\alpha = 0,56$; $M_2^\alpha = 0,16$; $M_3^\alpha = 0,28$;
40 $M_4^\alpha = 1,19$ посмертно діагностують гостру коронарну недостатність.

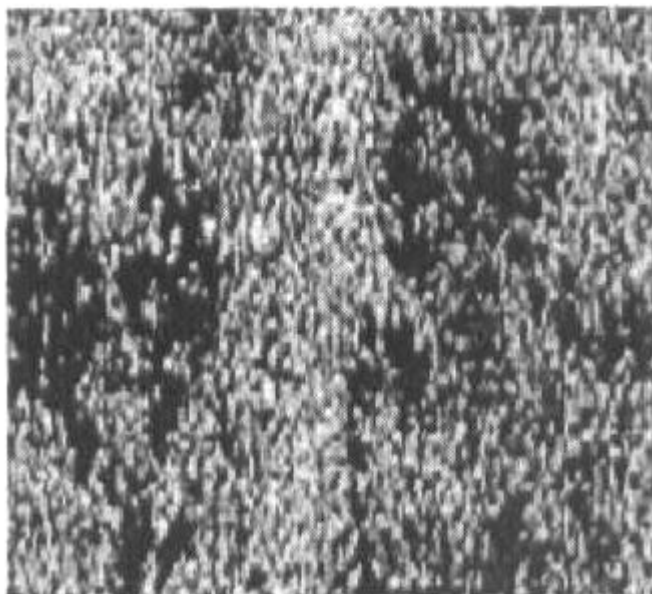


Fig. 1

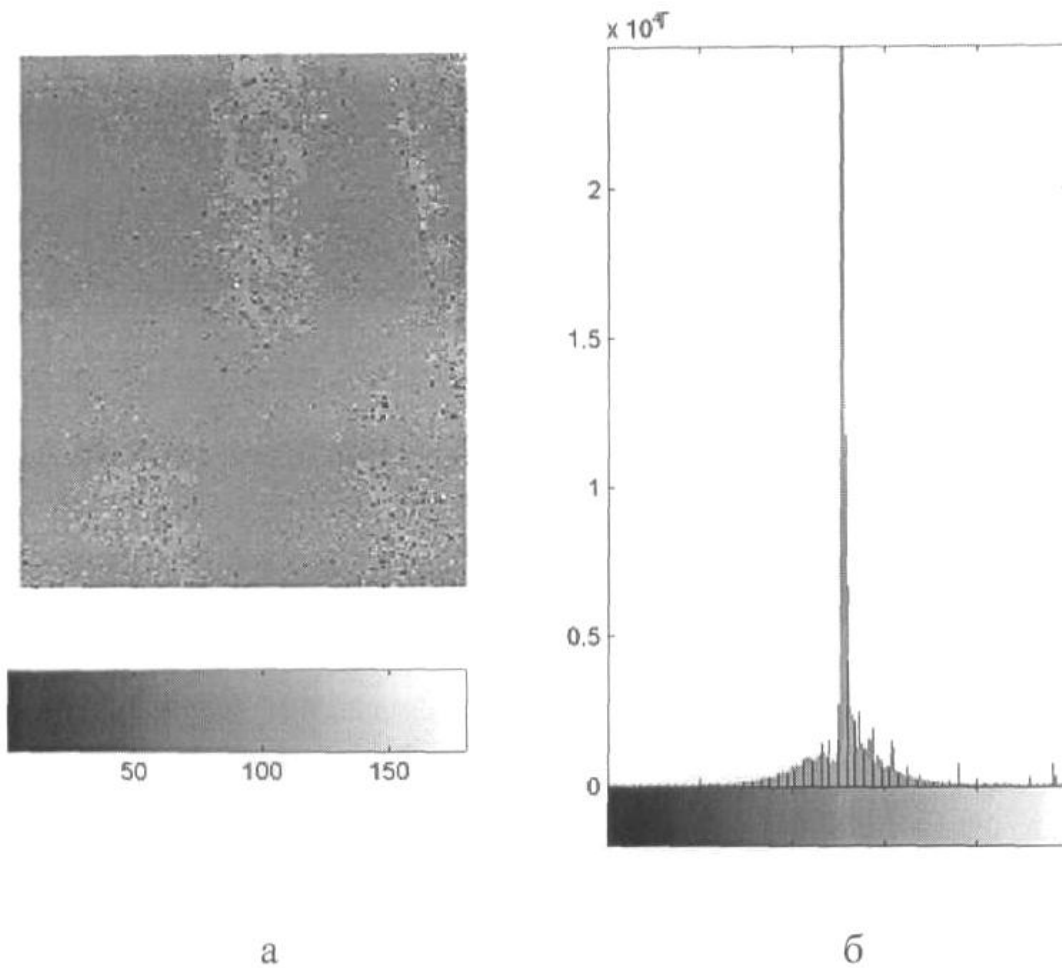


Fig. 2

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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