



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 115635

(13) U

(51) МПК

G01N 33/49 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2016 10613	(72) Винахідник(и):	Хмель Олена Станіславівна (UA), Родіонова Вікторія Всеволодівна (UA)
(22) Дата подання заявки:	21.10.2016	(73) Власник(и):	Хмель Олена Станіславівна, вул. Лешко-Попеля, 22, м. Дніпро, 49010 (UA), Родіонова Вікторія Всеволодівна, вул. Пастера, 2, кв. 25, м. Дніпро, 49038 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	25.04.2017	(74) Представник:	Білозуб Володимир Володимирович, реєстр. №280
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.04.2017, Бюл.№ 8		

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ, СПОЛУЧЕНОЇ ПЕРЕВАЖНО З ОСТЕОАРТРОЗОМ

(57) Реферат:

Спосіб оцінки ефективності лікування артеріальної гіпертензії, сполученої переважно з остеoarтрозом, включає відбір проби венозної крові, дослідження клініко-лабораторних показників до і після лікування та оцінку функції ендотелію як критерію ефективності, за нормалізацією клініко-лабораторних показників або тенденцією до їх нормалізації. Додатково з проби відібраної крові виділяють плазму, збагачують її тромбоцитами, до 0,4 мл плазми, збагаченої тромбоцитами, додають 0,05 мл маточного розчину аденозиндифосфату, як нуклеотид, при концентрації 1:1 мг/мл. Суміш піддають оптичній агрегометрії, визначають ступінь, час, швидкість індукованої агрегації тромбоцитів з аденозиндифосфатом за 30 сек. на агрегатограмі, як клініко-лабораторні показники функції тромбоцитів додають до бестромбоцитної плазми стандартну суспензію тромбоцитів, у співвідношенні 25:250 мкл. В отриману суміш вносять 25 мкл ристоцетину як антибіотик. Вимірюють швидкість, ступінь, час агрегації тромбоцитів, будують калібрувальний графік з урахуванням ступеня агрегації тромбоцитів, виявляють на ньому активність фактора Віллебранда як клініко-лабораторний показник функції ендотелію. Ефективність лікування визначають за клініко-лабораторними показниками функцій тромбоцитів та ендотелію.

UA 115635 U

Корисна модель належить до досліджень або аналізу матеріалів особливими способами, здебільше біологічних, наприклад крові, та може бути використана в медицині, насамперед в кардіології, як засіб моніторингу гіпертонічної хвороби (надалі артеріальної гіпертензії (АГ)) сполученої переважно з остеоартрозом (ОА).

Найближчим аналогом до запропонованої корисної моделі серед об'єктів аналогічного призначення, за найбільшою кількістю істотних ознак, є спосіб оцінки ефективності лікування артеріальної гіпертензії, сполученої переважно з вібраційною хворобою, що включає відбір проби венозної крові, дослідження клініко-лабораторних показників до і після лікування та оцінку функції ендотелію як критерію ефективності, за нормалізацією клініко-лабораторних показників або тенденцією до їх нормалізації, у відповідності до якого, у пробі венозної крові досліджують ейкозаноїди, лейкотриєн В₄, лейкотриєн С₄, простагландин Е₂ і 6-кетопростагландин F_{1α} як клініко-лабораторні показники перебігу артеріальної гіпертензії на фоні вібраційної хвороби. У наданому вигляді спосіб розширює арсенал оцінних засобів артеріальної гіпертензії [1]. Недолік найближчого аналога полягає у недостатній достовірності оцінки ефективності лікування АГ на фоні ОА, через відсутність моніторингу тромбозів, як головних чинників серцево-судинної смертності, та кореляція клініко-лабораторних показників з АГ у сполученні з вібраційною хворобою. Поряд із цим, радіоімунні дослідження, визначення та аналіз концентрацій ейкозаноїдів, лейкотриєнів В₄, G₄, простагландину Е₂ і 6-кетопростагландину F_{1α} істотно ускладнюють спосіб.

В основу корисної моделі поставлена задача, що полягає в розробці способу оцінки ефективності лікування артеріальної гіпертензії, сполученої переважно з остеоартрозом, застосування котрого сприяло б реалізації високої достовірності кінцевого результату та спрощенню процесу шляхом опрацювання критеріїв оцінки функцій ендотелію і тромбоцитів.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі оцінки ефективності лікування артеріальної гіпертензії, сполученої переважно з остеоартрозом, що включає відбір проби венозної крові, дослідження клініко-лабораторних показників до і після лікування та оцінку функції ендотелію за нормалізацією або тенденцією до нормалізації клініко-лабораторних показників, згідно з корисною моделлю, додатково з проби відібраної крові виділяють плазму, збагачують її тромбоцитами, до 0,4 мл плазми, збагаченої тромбоцитами, додають як індуктор 0,05 мл маточного розчину аденозиндифосфату, піддають отриману суміш оптичній агрегометрії, визначають на агрегатограмі ступінь, час, швидкість індукованої агрегації тромбоцитів з аденозиндифосфатом за 30 сек., додатково виділяють бестромбоцитну плазму, змішують її зі стандартною суспензією тромбоцитів, при співвідношенні 25:250 мкл в отриману суміш вносять як індуктор 25 мкл ристоцетину, вимірюють швидкість, ступінь, час агрегації тромбоцитів, будують калібрувальний графік з урахуванням ступеня агрегації тромбоцитів, виявляють на ньому активність фактора Віллебранда, а ефективність лікування визначають за комплексом клініко-лабораторних показників функцій тромбоцитів та ендотелію.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю суттєвих ознак запропонованої корисної моделі з вищезазначеним технічним результатом полягає в наступному.

Виділення плазми зумовлює повноту вилучення тромбоцитів з проби, її збагачення тромбоцитами запобігає світлопропусканню, необхідне для оцінки агрегації тромбоцитів, по реєстрації змін світлопропускання, насамперед після додавання індуктора агрегації, що дозволяє реалізувати високу достовірність кінцевого результату, за допомогою комплексу критеріїв функцій ендотелію і тромбоцитів, та істотно спростити процес.

Оптична агрегометрія суміші плазми, збагаченої тромбоцитами, з маточним розчином аденозиндифосфату (АДФ) заданої концентрації надає можливість автоматичному запису якісної агрегатограми визначати по ній характер, форму відбитих сигналів та оцінювати перебіг АГ на фоні ОА за ступенем, часом і швидкістю індукованої агрегації за 30 сек. як показниками функції досліджуваних тромбоцитів. Це зумовлене тим, що вплив низької дози маточного розчину АДФ індукує агрегацію тромбоцитів, сповільнюючи зниження оптичної щільності проби, відбиває залежність від часу, тривалості формування максимального ступеня агрегації та швидкості збільшення розмірів мікроагрегатів, а оцінка індукованої агрегації тромбоцитів з АДФ саме за 30 сек. включає моніторингу збільшення розмірів мікроагрегатів тромбозів у першу хвилину.

Ступінь індукованої агрегації тромбоцитів, як різниця світлової щільності плазми як до початку, так і після максимального згортання, інформує про агрегаційну спроможність тромбоцитів в умовах пропускання світлових хвиль через збагачену тромбоцитами плазму. Час агрегації характеризує тривалість індукованої агрегації тромбоцитів, а швидкість останньої, як співвідношення ступеня індукованої агрегації до 30 секундного періоду індукованої агрегації, кваліфікує збільшення габаритів мікроагрегатів АГ на фоні ОА.

Антибіотик ристоцетин, що залучений для індукування агрегації тромбоцитів, достатній для ініціювання тромбоутворення і допускає оцінку функціонального стану ендотелію за рівнем фактора Віллебранда. Реакція тромбоцитів на ристоцетин є непрямим показником функції ендотелію. Натомість, визначення рівня фактора Віллебранда в присутності ристоміцину ґрунтується на здатності тромбоцитів до агрегації. Особливість даної аглютинації полягає в лінійній залежності фактора Віллебранда від його концентрації у плазмі і зберігається тромбоцитами [2], навіть після фіксації формальдегідом, коли реакція на інші індуктори агрегації повністю втрачається.

Бестромбоцитна плазма обумовлює 100 % пропускання світла для формування порівняльних характеристик. Додання стандартної суспензії тромбоцитів до бестромбоцитної плазми дозволяє визначити агрегаційні властивості тромбоцитів з можливістю реалізації високодостовірного кінцевого результату.

Калібрувальний графік, отриманий з урахуванням ступеня агрегації тромбоцитів, достовірно виявляє активність фактора Віллебранда з можливістю оцінки нормалізації або тенденції до нормалізації результатів лікування АГ на фоні ОА.

Оскільки у хворих на АГ, сполучену з ОА, встановлене статистично достовірне збільшення максимальних значень ступеня, швидкості індукованої агрегації тромбоцитів і розмірів тромбоцитарних агрегатів, а збільшення здатності тромбоцитів до агрегації, особливо у віддаленому післяопераційному періоді, веде до порушення мікроциркуляції та підвищеної схильності до тромбоутворення, то залучені критерії інформують про підвищення агрегаційної активності.

Кількості збагаченої плазми (0,4 мл), маточного розчину АДФ (0,05 мл), їх задане співвідношення (1:1 мг/мл), а також співвідношення бестромбоцитної плазми та стандартної суспензії тромбоцитів (25:250 мкл) і використовувана доза ристоцетину (25 мкл) є оптимальними для високодостовірного моніторингу АГ на фоні ОА та комплексної оцінки функцій ендотелію і тромбоцитів. Відхилення кількісних доз і співвідношень від заданих значень недоцільне, з причини погіршення достовірності визначення ступеня, часу і швидкості агрегації, а також фактора Віллебранда, в реакціях тромбоцитів з АДФ і ристоміцином.

Тож, комплексна оцінка функцій тромбоцитів та ендотелію за ступенем, часом і швидкістю агрегації тромбоцитів з АДФ, а також ступенем агрегації з ристоміцином на основі фактора Віллебранда надає високодостовірний кінцевий результат та істотно спрощує процес.

Спрощення способу досягається виключенням радіоімунного аналізу, а також досліджень концентрацій ейкозаноїдів, лейкотриєнів В₄, С₄, простагландину Е₂ і 6-кетопроستاгландину F_{1α}.

Додаткові переваги запропонованої корисної моделі над найближчим аналогом полягають у підвищенні оперативності, зниженні собівартості дослідження за рахунок економії видаткових матеріалів, хімічних реактивів тощо.

Таким чином, сукупність ознак запропонованої корисної моделі знаходиться у причинно-наслідковому зв'язку з вищезазначеним технічним результатом.

Відомості, які підтверджують можливість відтворення способу оцінки ефективності лікування артеріальної гіпертензії, сполученої переважно з остеоартрозом, з перевершенням вищенаведеного технічного результату, полягають в наступному.

Для здійснення способу залучають оптичний агрегометр "Solar AP 2110" (Білорусь) з набором речовин для визначення агрегації тромбоцитів індукованої АДФ, що складається з 2-х 2 мг флаконів ліофільно висушеного АДФ, 2-х 2,5 мл флаконів розчинника та з 2-х 0,5 мл флаконів ліофільно висушеного 1,5 % ристоцетину.

Суть способу.

Спосіб оцінки ефективності лікування артеріальної гіпертензії, сполученої переважно з остеоартрозом, включає відбір проби венозної крові, виділення плазми, її збагачення тромбоцитами, додавання до 0,4 мл плазми, збагаченої тромбоцитами, 0,05 мл маточного розчину АДФ, з дотриманням концентрації 1:1 мг/мл, оптичну агрегометрію, запис агрегатограми, визначення ступеня, часу, швидкості індукованої агрегації тромбоцитів з АДФ за 30 сек., додання до бестромбоцитної плазми стандартної суспензії тромбоцитів з дотриманням співвідношення 25:250 мкл, привнесення у суміш 25 мкл ристоцетину, вимірювання швидкості, ступеня, часу агрегації тромбоцитів, будівання калібрувального графіка з урахуванням ступеня агрегації тромбоцитів, виявлення активності фактора Віллебранда та визначення нормалізації або тенденції до нормалізації АГ на фоні ОА за ступенем, часом, швидкістю індукованої агрегації тромбоцитів з АДФ і фактором Віллебранда до і після лікування.

Тож, моніторинг ефективності лікування АГ, сполученої переважно з ОА, на відміну від найближчого аналога, забезпечується контролем функцій ендотелію і тромбоцитів на основі ступеня, часу, швидкості індукованої агрегації тромбоцитів з АДФ і фактора Віллебранда.

За цих умов достовірність (р) оцінки результату лікування АГ, сполученої переважно з ОА, становить $\geq 0,94-97$.

Властивості способу оцінки ефективності лікування АГ, сполученої переважно з ОА, досліджували в умовах ДЗ "ДМА МОЗ України", дотримуючись Наказу МОЗ України № 384, від 24.05.2012.

Спосіб оцінки ефективності лікування АГ, сполученої переважно з ОА, виконували наступним чином.

Для визначення агрегації тромбоцитів, індукованої АДФ, використовували набір, що складався з ліофільно висушеного АДФ та його розчинника. Лікар-лаборант готував маточний розчин АДФ (1 мг/1 мл) і додавав 0,05 мл розчину АДФ до 0,4 мл плазми, збагачену тромбоцитами. Використовуючи оптичний агрегометр "Solar AP 2110", записували агрегатограму. За агрегаційною кривою агрегатограми оцінювали ступінь, час і швидкість агрегації тромбоцитів з АДФ за 30 сек.

Визначали активність фактора Віллебранда. До 25 мкл безтромбоцитної плазми додавали 250 мкл стандартної суспензії тромбоцитів, а до отриманої суміші - 25 мкл ристоцетину. Для приготування стандартної суспензії тромбоцитів у флакон з ліофільно висушеними людськими тромбоцитами вносили 1 мл дистильованої води і 3 мл фізіологічного розчину, які ретельно перемішували, уникаючи спінування. Після 4-и годинного витримання при кімнатній $t^{\circ}\text{C}$ суміш була придатною до роботи. Вимірювали швидкість, ступінь, час агрегації тромбоцитів. Використовуючи ступінь агрегації тромбоцитів, будували калібрувальний графік, де визначали активність фактора Віллебранда та оцінювали функцію ендотелію при АГ, сполученій переважно з ОА.

Оцінку проводили у порівнянні з попередніми даними, отриманими при дослідженні контрольної групи, що складалася з 10 здорових осіб. Нормальними вважали показники, які не виходили за межі результатів контрольної групи.

Констатували, що у хворих з перевищеними значеннями середніх показників ступеня агрегації тромбоцитів з ристоміцином, а також ступеня, часу і швидкості агрегації тромбоцитів з АДФ, ступінь ушкодження ендотелію був більш виразним, а рівень ризику розвитку тромбозів вищим відносно контрольної групи.

Нижченаведені приклади клінічного використання демонструють можливість застосування ступеня, часу, швидкості агрегації тромбоцитів з АДФ, активності фактора Віллебранда як комплексних клініко-лабораторних показників лікування АГ на фоні ОА.

Приклад 1.

Пацієнт Д., 1969 р.н., перебував у ДП "Дніпропетровська міська багатoproфільна клінічна лікарня № 4", з приводу гіпертонічної хвороби II стадії, 2 ступеня (іст/хв. № 15858, від 20.08.2015). Діагноз: АГ II стадії, 2 ступеня, сполучена з ОА колінних суглобів, II стадія за Kellgren-Lawrence, недостатня функція суглобів 1-2 ступеня.

13.07.2016 оцінювали функцію ендотелію за умов запропонованого способу оцінки ефективності лікування АГ, сполученої переважно з ОА.

Перед початком лікування з проби відібраної крові виділяли плазму, збагачували її тромбоцитами. До 0,4 мл плазми, збагаченої тромбоцитами, додавали 0,05 мл маточного розчину АДФ, дотримуючись концентрації 1:1 мг/мл. Під час оптичної агрегометрії отримували агрегатограму, де визначали ступінь, час і швидкість індукованої агрегації тромбоцитів з АДФ за 30 сек. Ступінь агрегації тромбоцитів з АДФ відповідав 73,00 %, час агрегації тромбоцитів з АДФ - 337 сек. і швидкість агрегації тромбоцитів з АДФ - 66,40 %/хв. До безтромбоцитної плазми додавали стандартну суспензію тромбоцитів, у співвідношенні 25:250 мкл, і 25 мкл ристоцетину у суміш. Вимірювали швидкість, ступінь і час агрегації тромбоцитів, будували калібрувальний графік. Активність фактора Віллебранда, визначена за цим графіком, становила 193,30 %. Значення показників індукованої агрегації тромбоцитів з АДФ, фактора Віллебранда інформували про перевищення значень показників контрольної групи, де ступінь агрегації тромбоцитів з АДФ становила 44,20 [37,60-50,35] %, час агрегації тромбоцитів з АДФ - 358 [245-429] сек., швидкість агрегації тромбоцитів з АДФ - 35 [31,4-43] % /хв. і фактор Віллебранда - 162,30 [150,60-170,75] %.

Впродовж 10 днів пацієнт отримувал лізиноприл 10 мг, амлодипін 10 мг. При повторній оцінці функцій ендотелію і тромбоцитів за показниками індукованої агрегації тромбоцитів з АДФ, рівнем фактора Віллебранда отримували наступні дані: ступінь агрегації тромбоцитів з АДФ сягала 53,00 %; час агрегації тромбоцитів з АДФ - 383 сек.; швидкість агрегації тромбоцитів з АДФ - 37,4 % /хв., фактор Віллебранда - 164,00 %, що відповідало нормі. Лікування АГ, сполученої з ОА, оцінювали ефективним.

Приклад 2.

Пацієнт У., 1951 р.н., відвідував КЗ "ДЦПМСД № 6", з приводу гіпертонічної хвороби II стадії, 2 ступеня (амбулаторна картка № 581). Діагноз: АГ II стадії, 2 ступеня, що сполучена з ОА колінних суглобів, II стадія за Kellgren-Lawrence, недостатність функції суглобів 1-2 ступеня.

29.04.2015 оцінювали функцію ендотелію за умов запропонованого способу. До лікування ступінь агрегації тромбоцитів з АДФ становив 83,70 %, час агрегації тромбоцитів з АДФ - 600 сек. швидкість агрегації тромбоцитів з АДФ - 88,8 % /хв., фактор Віллебранда - 207,30 %, що перевищувало межі показників контрольної групи: ступінь агрегації тромбоцитів з АДФ - 44,20 [37,60-50,35] %, час агрегації тромбоцитів з АДФ - 358 [245-429] сек., швидкість агрегації тромбоцитів з АДФ - 35 [31,4-43,0] % /хв., фактор Віллебранда - 162,30 [150,60-170,75] %.

Впродовж 10 днів пацієнт отримувал лізиноприл 10 мг, амлодипін 10 мг. При повторній оцінці функцій ендотелію і тромбоцитів: ступінь агрегації тромбоцитів з АДФ - 44,60 %, час агрегації тромбоцитів з АДФ - 337 сек., швидкість агрегації тромбоцитів з АДФ - 35,80 % /хв., рівень фактора Віллебранда - 150,10 %, що відповідало нормі показників індукованої агрегації тромбоцитів з АДФ, активності фактора Віллебранда і дозволило кваліфікувати лікування АГ, сполученої з ОА, як ефективне.

На думку заявників, запропонована корисна модель при своєму здійсненні розширює арсенал засобів та можливості моніторингу тромбозів, як головних чинників серцево-судинної смертності під час лікування АГ на фоні ОА, що сприятиме підвищенню ефективності надання медичної допомоги, з можливістю попередження ризиків тромботичних серцево-судинних ускладнень.

Таким чином, запропонована корисна модель може бути використана в кардіологічній практиці з можливістю перевершення вищенаведеного технічного результату.

Джерела інформації:

1. Спосіб оцінки ефективності лікування хворих з поєднаним перебігом вібраційної та гіпертонічної хвороб: Пат. 85777 України, МПК G01N 33/00 /Харківський національний мед. університет (Україна); Капустник В.А., Сухонос Н.К. (Україна). - № u201308208; заявл. 01.07.2013; опубл. 25.11.2013.

2. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М., 2001.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб оцінки ефективності лікування артеріальної гіпертензії, сполученої переважно з остеоартрозом, що включає відбір проби венозної крові, дослідження клініко-лабораторних показників до і після лікування та оцінку функції ендотелію, як критерію ефективності, за нормалізацією клініко-лабораторних показників або тенденцією до їх нормалізації, який **відрізняється** тим, що додатково з проби відібраної крові виділяють плазму, збагачують її тромбоцитами, до 0,4 мл плазми, збагаченої тромбоцитами, додають 0,05 мл маточного розчину аденозиндифосфату як нуклеотиду, при концентрації 1:1 мг/мл суміш піддають оптичній агрегометрії, визначають ступінь, час, швидкість індукованої агрегації тромбоцитів з аденозиндифосфатом за 30 сек. на агрегатограмі, як клініко-лабораторні показники функції тромбоцитів додають до бестромбоцитної плазми стандартну суспензію тромбоцитів у співвідношенні 25:250 мкл, в отриману суміш вносять 25 мкл ристоцетину як антибіотик, вимірюють швидкість, ступінь, час агрегації тромбоцитів, будують калібрувальний графік з урахуванням ступеня агрегації тромбоцитів, виявляють на ньому активність фактора Віллебранда як клініко-лабораторний показник функції ендотелію, а ефективність лікування визначають за клініко-лабораторними показниками функцій тромбоцитів та ендотелію.

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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