

Винахід стосується медицини, а саме неврології і може бути застосований для діагностики порушень метаболізму оксиду азоту у хворих з оклюзійно-стенотичними ураженнями екстракраніальних судин.

Оклюзійно-стенотичні ураження екстракраніальних судин супроводжуються гемодинамічними змінами у всьому організмі і при відсутності своєчасного лікування можуть приводити до розвитку інших серцево-судинних захворювань. Необхідність надійного діагностичного критерію для раннього виявлення оклюзійно-стенотичних уражень екстракраніальних судин пригорнула увагу до оксиду азоту, як добре відомого вже маркеру таких серцево-судинних захворювань, як гіпертонічна хвороба і ішемічна хвороба серця. Саме зміни концентрації оксиду азоту в плазмі крові, при відсутності запальних процесів в організмі, відбуваються наслідок модуляції активності ендотеліальної ізоформи синтази оксиду азоту і свідчать про розвиток ендотеліальної дисфункції, яка являє собою одну з найбільш ранніх ланок розвитку оклюзійно-стенотичних уражень екстракраніальних судин. Тому діагностика порушень метаболізму оксиду азоту у хворих з оклюзійно-стенотичними ураженнями екстракраніальних судин є актуальним питанням неврології, і її вирішення дозволить своєчасно встановити діагноз і провести патогенетично обумовлену терапію.

У доступній нам літературі, ми не знайшли опису способу діагностики порушень метаболізму оксиду азоту у хворих з оклюзійно-стенотичними ураженнями екстракраніальних судин, який можна було б взяти за аналог.

Відомий спосіб діагностики порушень метаболізму оксиду азоту у хворих з оклюзійно-стенотичними ураженнями екстракраніальних судин, що полягає у наступному:

1. Отримують плазму крові стандартним способом.
2. Плазму крові фільтрують через ультратонкий фільтр для депротейнізації.
3. Центрифугують плазму крові при 14000g впродовж 30 хвилин.
4. Змішують 50мкл плазми крові послідовно з 25мкл розчину нітрат-редуктази (100U/L) і NADPH у кінцевій концентрації 0,35мМ.
5. Інкубують суміш 30 хвилин при 37°C.
6. Змішують суміш з компонентами реактиву Гриса стандартним способом.
7. Інкубують суміш 10 хвилин при кімнатній температурі, і вимірюють оптичну щільність суміші при 540nm.
8. Визначають у концентрацію кінцевих метаболітів оксиду азоту у плазмі крові за калібровочним графіком стандартним способом.

9. Діагностують порушення метаболізму оксиду азоту у хворих при концентрації кінцевих метаболітів оксиду азоту менше, ніж 57,3мкМоль/л або більше, ніж 82,5мкМоль/л. (Yoon Y., Song J., Hong S.H., Kima J.Q. Plasma nitric oxide concentrations and nitric oxide synthase gene polymorphisms in coronary artery disease // Clinical Chemistry.-2000. -Vol.46.-P.1626-1630.).

Суттєвими ознаками прототипу і винаходу, що збігаються є такі:

1. Проведення процедури депротейнізації плазми крові і конверсії нітрат-іонів у нітрит-іони.
2. Застосування реактиву Гриса.

Діагностика порушень метаболізму оксиду азоту вказаним способом дозволяє виявити наявність значних порушень його у хворих. Не зменшуючи однак значення цього способу для діагностики порушень метаболізму оксиду азоту у хворих, слід зауважити, що двоетапна процедура депротейнізації плазми крові вносить додаткових неточностей в результат визначення вмісту оксиду азоту в плазмі крові. Крім того необхідно вказати на те, що застосування нітрат-редуктази для конверсії нітрат-іонів плазми крові у нітрит-іони, теоретично дозволяє збільшити точність визначення продукції оксиду азоту о плазмі крові. Важливе зауваження при цьому стосується різної ферментативної активності комерційних препаратів нітрат-редуктази. Використання таких ферментативних препаратів з різною ферментативною активністю негативно позначається на відтворюваності і точності діагностики порушень метаболізму оксиду азоту у хворих.

В основу винаходу поставлено задачу розробки способу з оклюзійно-стенотичними ураженнями екстракраніальних судин.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі діагностики порушень метаболізму оксиду азоту у хворих з оклюзійно-стенотичними ураженнями екстракраніальних судин, шляхом депротейнізації плазми крові, конверсії нітрат-іонів у нітрит-іони і застосування реактиву Гриса, новим є те, що застосовують реактив Somogyi для депротейнізації плазми крові і металевий кадмій, для конверсії нітрат-іонів у нітрит-іонів та діагностують порушення метаболізму оксиду азоту при концентрації кінцевих метаболітів оксиду азоту у плазмі крові меншій, ніж 9,4мкМоль/л або більшій, ніж 22,5мкМоль/л.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає в наступному: діагностичні заходи хворих з оклюзійно-стенотичними ураженнями екстракраніальних судин зводяться звичайно до ультразвукового, доплерографічного та ангіографічного дослідження хребцевих артерій і внутрішніх сонних артерій. В деяких випадках при виявленні дефіциту кровотоку по вказаних магістральних судинах можливе успішне проведення медикаментозного лікування цих хворих. Однак зміни функціонального стану магістральних судин голови відбуваються раніше, ніж їх морфологічні зміни і не діагностуються наведеними вище інструментальними методами. Діагностика ранніх змін функціонального стану цих судин дозволить застосувати своєчасне лікування і запобігти розвитку ускладнень. Функціональний стан судин, як відомо визначається функціональною активністю їх ендотелію. Відомою речовиною, що продукується ендотеліоцитами та характеризує їх функціональний стан є оксид азоту. Найбільш точну і достовірну оцінку продукції оксиду азоту ендотелієм можна здійснити завдяки визначенню його стабільних кінцевих метаболітів в плазмі крові. Ендотеліальна ізоформа синтази оксиду азоту швидко реагує на будь-які зміни функціонального стану ендотеліальних клітин. При цьому відбувається збільшення або зменшення активності ферменту, що і супроводжується відповідними змінами у концентрації оксиду азоту та його кінцевих метаболітів. Таким чином своєчасна діагностика порушень метаболізму оксиду азоту дозволить точно і достовірно охарактеризувати функціональний стан судинного ендотелію у хворих з оклюзійно-стенотичними ураженнями екстракраніальних судин.

Для визначення показника норми було обстежено 87 чоловік, із них 45 практично здорових осіб, 42 хворих з оклюзійно-стенотичними ураженнями екстракраніальних судин. Серед обстежених здорових осіб були

представлені різні вікові групи (згідно рекомендацій ВООЗ), середній вік склав $40,2 \pm 11,7$ років, жінок було 20 (44,0%), чоловіків - 25 (55,0%). Після обчислення результатів обстеження групи здорових осіб концентрація кінцевих метаболітів оксиду азоту склала $17,5 \pm 1,4$ мкмоль/л з коливанням в межах 9,4-22,5 мкмоль/л. Зазначені концентрації кінцевих метаболітів оксиду азоту можуть служити межою норми рівня концентрації кінцевих метаболітів оксиду азоту в плазмі крові. У групі хворих з оклюзійно-стенотичними ураженнями екстракраніальних судин концентрація кінцевих метаболітів оксиду азоту склала $11,2 \pm 1,1$ мкмоль/л, тобто у 100% хворих можна було діагностувати порушення метаболізму оксиду азоту.

Спосіб здійснюється таким чином:

1. У хворих з оклюзійно-стенотичними ураженнями екстракраніальних судин здійснюють забор крові для отримання плазми крові стандартним способом.

2. Проводять депротейнізацію плазми крові, застосовуючи реактив Somogyi, стандартним способом.

3. Центрифугують 20 хвилин при 3000 об/хв стандартним способом.

4. Відбирають депротейнізовану плазму крові для подальшого аналізу.

5. Проводять конверсію нітрат-іонів депротейнізованої плазми крові у нітрит-іони, за допомогою металевого кадмію стандартним способом.

6. Підготовлену плазму крові змішують з компонентами реактиву Гриса стандартним способом.

7. Інкують суміш 10 хвилин при кімнатній температурі, і вимірюють оптичну щільність суміші при 540 нм.

8. Визначають у концентрацію кінцевих метаболітів оксиду азоту у плазмі крові за калібровочним графіком стандартним способом.

9. Діагностують порушення метаболізму оксиду азоту у хворих з оклюзійно-стенотичними ураженнями екстракраніальних судин при концентрації кінцевих метаболітів оксиду азоту менше, ніж 9,4 мкмоль/л або більше, ніж 22,5 мкмоль/л.

Приклад

Хворий В. 39 років надійшов в неврологічне відділення Запорізької обласної клінічної лікарні з скаргами на слабкість у лівих кінцівках. Вважає себе хворим протягом 6 місяців, коли вперше, без наявної причини з'явилися зазначені скарги. Анамнез життя - без особливостей, спадкової патології в родині не виявлено. Пацієнт палить впродовж 15 років, інші шкідливі звички заперечує, алергологічний анамнез не обтяжений. Об'єктивно спостерігаються наступні зміни. Артеріальний тиск в момент надходження 160 і 90 мм рт.ст., пульс 84 ударів в хвилину, задовільних властивостей. При пальпації верхівковий поштовх визначається на 2-2,5 см знаружі від середньоключичної лінії з лівої сторони в 6 мікробір'ї, поширений, збільшений по висоті, посилений. Перкуторно - розширення границь відносно серцевої тупості, аускультативно - діяльність серця правильна, посилений I тон на верхівці серця, в легенях дихання везикулярне, жорсткувате, в нижніх відділах з обох сторін поодинокі вологі дрібнобульбасті неконсонуючі хрипи. Частота дихання 22 в 1 хвилину, дихання поверхневе. На електрокардіограмі - ознаки гіпертрофії міокарда лівого шлуночка. За даними доплерографії виявлено дефіцит кровотоку по правій внутрішній сонній артерії на 50%, асиметрія кровотоку по внутрішнім сонним артеріям 28%, значне зниження кровотоку по правій хребцевій артерії, кровоток по лівій хребцевій артерії в межах норми. За даними ангіографічного обстеження, виявлена патологічна завивистість обох внутрішніх сонних артерій, патологічна завивистість лівої хребцевої та гіперплазія правої хребцевої артерій. Дані інших інструментальних та лабораторних досліджень без особливостей. Враховуючи скарги хворого, клінічну картину захворювання, дані об'єктивного дослідження і зважаючи на результати додаткових методів дослідження, хворому був поставлений клінічний діагноз - Оклюзійно-стенотичні ураження екстракраніальних судин у вигляді патологічної завивистості внутрішніх сонних і лівої хребцевої артерій, гіпоплазія правої хребцевої артерії. Судинно-мозкова недостатність III ст. Гіпертонічна хвороба, II стадія. З метою діагностики порушень метаболізму оксиду азоту для призначення патогенетично-обумовленої терапії, хворому було проведено дослідження способом, що пропонується. Концентрація кінцевих метаболітів оксиду азоту в плазмі крові склала 8,6 мкмоль/л, що свідчило про значні порушення метаболізму оксиду азоту. Враховуючи клініко-функціональні дані, та результати проведеного дослідження, хворому була проведена резекція патологічної завивистості лівої внутрішньої сонної артерії і лівої хребцевої артерії з реімплантацією у шийно-шийний стовбур і призначено курс післяопераційної терапії з використанням лікарських засобів, які мають ендотелій-протекторні властивості. Через 3 тижні комплексного лікування, при контрольному обстеженні поряд з поліпшенням клінічної картини захворювання та позитивною динамікою даних інструментальних досліджень, спостерігалось достовірне збільшення концентрації кінцевих метаболітів оксиду азоту у плазмі крові, яка на кінець курсу терапії склала 14,3 мкмоль/л. Вказана динаміка свідчила про ліквідацію порушень метаболізму оксиду азоту у даного хворого з оклюзійно-стенотичними ураженнями екстракраніальних судин внаслідок проведеної патогенетично-обумовленої терапії. Таким чином, використання способу, що пропонується дозволило достовірно і точно встановити порушення метаболізму оксиду азоту, визначити ступінь залученості ендотеліальних клітин в патологічне коло патофізіологічних ланок захворювання, а також провести контроль ефективності проведеної хворому терапії.