



УКРАЇНА

(19) UA (11) 20353 (13) U
(51) МПК (2006)
G01N 33/50МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту(54) ПРОЦЕС РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ КАРДІОМІОПАТІЙ І ПІДБОРУ ІНДИВІДУАЛЬНИХ ЗАСОБІВ
ЛІКУВАННЯ КАРДІОМІОПАТІЙ

1

2

(21) u200608573

(22) 31.07.2006

(24) 15.01.2007

(46) 15.01.2007, Бюл. № 1, 2007 р.

(72) Щеголева Тетяна Юріївна, Алтухов Олександр
Леонідович(73) Щеголева Тетяна Юріївна, Алтухов Олександр
Леонідович(57) 1. Процес ранньої діагностики кардіоміопатій і
підбору індивідуальних засобів лікування кардіомі-
опатій, що включає дослідження змін систем регу-
ляції клітин крові при різних стадіях кардіоміопатій
(КМП), який **відрізняється** тим, що дослідження
змін проводять методом КХЧ-діелектрометрії.2. Процес ранньої діагностики кардіоміопатій за
п. 1, який **відрізняється** тим, що як тести для діа-
гностики КМП виділяють дві порції суспензії еритро-
цитів або плазми збагаченої тромбоцитами рів-
ної концентрації, додають в одну разом адреналін(А) і дексаметазон (Д), в другу (контрольну) - такий
же об'єм фізіологічного розчину, вимірюють діеле-
ктричну проникність і значення порівнюють з конт-
ролем, якщо клітинна відповідь 0, то діагностують
ішемічну хворобу серця, якщо ні, то діагностують
КМП.3. Процес ранньої діагностики кардіоміопатій за
п. 1, який **відрізняється** тим, що як тести для ін-
дивідуального підбору фармацевтичних препара-
тів виділяють три порції суспензії еритроцитів або
плазми збагаченої тромбоцитами рівної концент-
рації, роздільно додають в першу адреналін (А) і
простагландин (ПГ), в другу - А, ПГ і верапаміл (В),
в третю (контрольну) - такий же об'єм фізіологічно-
го розчину, вимірюють діелектричну проникність і
значення в перших двох пробах, порівнюють з кон-
тролем, добавка верапамілу, у межах терапевтич-
ної дози, приводить реакцію клітин хворих пацієн-
тів до типової реакції клітин здорових людей.

Корисна модель відноситься до медицини, а
саме до кардіології і може бути використаний для
тестування в стаціонарних і амбулаторних умовах.

Кардіоміопатії - це назва ряду захворювань
м'яза серця (міокарда), що супроводжуються
різними порушеннями серцевої діяльності. При
кардіоміопатіях найчастіше страждає міокард і
функція шлунків серця. Існує кілька різновидів
кардіоміопатій, що розрізняються між собою особ-
ливостями поразки серцевого м'яза.

Кардіоміопатії (КМП) бувають первинними
(ідіопатичними) і вторинними (специфічними). Це
захворювання, є одним із самих маловивчених
питань сучасної кардіології по причині складності
ранньої діагностики.

Ведучим клінічним проявом КМП є прогресую-
ча серцева недостатність (СН).

Існують засоби створення експериментальних
моделей для вивчення механізму розвитку
кардіоміопатій на тваринах, але вони не завжди
коректні, так як не враховують патогенетичні фак-
тори, які призводять до виникнення захворювання.
У багатьох випадках засоби вимагають викори-

стання великої кількості тварин і проводяться да-
леко не гуманно.

Більш ефективним є аналіз порушень функції
систем керування живих клітин крові пацієнтів.

Відомий спосіб діагностики серцево-судинних
захворювань, [патент RU, №2213970, G01N33/50,
від 17.12.2001] шляхом комплексного біохімічного
дослідження показників крові. Недоліком є те, що
несприятливий перебіг захворювання прогно-
зується на 4 добу від початку захворювання. Цей
спосіб дозволяє прогнозувати тільки перебіг гос-
трого інфаркту міокарда.

Існує спосіб діагностики Кардіоміопатії, [патент
SU, №1686367, G01N33/50, від 01.08.1988]. Не-
доліком є низька точність ранньої діагностики.

Кожна клітина виконує властиву тільки їй
функцію. Для того щоб клітина нормально працю-
вала, створені певні умови. Під впливом зовнішніх
і внутрішніх факторів змінюються проникність
клітинних мембран і стінок судин, біохімічні проце-
си, що призводять до структурних змін (ана-
томічних).

(13) U

(11) 20353

(19) UA

Традиційні біохімічні і біофізичні методи дослідження проводяться з руйнуванням або модифікацією клітин, що обмежує можливості вивчення внутрішньоклітинної сигналізації живої клітини і погіршує адекватність зіставлення даних *in vitro* і *in vivo*.

Існує "Спосіб прогнозування перебігу гострого інфаркту міокарда" [SU, №1783424, кл. G01N33/48, від 24.01.89]. Цей спосіб вузько спрямований.

Відомий "Спосіб прогнозування переходу гіпертонічної хвороби II стадії в гіпертонічну хворобу III стадії" [SU, №1755192, кл. G01N33/48, від 09.01.89]. У цьому способі фіксували зміни діелектричної проникності при дії біостимуляторів шляхом виміру за допомогою СВЧ-діелектрометрії.

Недоліком відомого способу є тривалий процес дослідження, неможливість тестування функції організму при розвитку серцевої недостатності різного походження. Цей спосіб беремо за прототип.

Застосування методу діелектрометрії в міліметровому діапазоні частот (КХЧ діелектрометрії) для аналізу систем регуляції клітин дозволяє ставити експеримент в умовах, що виключають руйнування, і з використанням мікрокількостей клітинного матеріалу. Також цей метод дозволяє проводити роботу в реальному масштабі часу, що зменшує статистичні погрішності, дає можливість проводити весь комплекс тестування на крові одного пацієнта і тим самим робити індивідуальні оцінки для кожного пацієнта.

Існує багато методологічних підходів, що дозволяють вивчати загальні закономірності функціонування тканин, використовуючи як моделі клітини крові хворих пацієнтів.

За даними біохімічних методів відомо, що при різній стадії серцевої недостатності в еритроцитах і тромбоцитах мають відмінності в механізмах трансмембранної передачі сигналу за участю бета-рецепторних комплексів. За основу пропонованого методологічного підходу узяті універсальна для всіх клітин організму система внутрішньоклітинної сигналізації - аденілатциклазна система (АЦС), яка ідеально підходить для тестування функції організму при розвитку СН різного походження. Дефекти молекулярних механізмів АЦС є критеріями розвитку патологічного стану. Методом КХЧ діелектрометрії вивчені різні варіанти передачі сигналу за участю АЦС. Тестування функції АЦС в умовах не руйнуючого контролю, дає можливість помітити самі ранні прояви патології.

В основу корисної моделі поставлене завдання розробити процес ранньої діагностики кардіоміопатій шляхом дослідження змін систем регуляції клітин крові при різних стадіях кардіоміопатій методом КХЧ діелектрометрії по зміні діелектричної проникності суспензії еритроцитів або плазми збагаченої тромбоцитами в результаті дії біостимуляторів, швидко і точно діагностувати кардіоміопатії, а також здійснювати індивідуальний підбір фармакологічних препаратів для терапевтичної корекції виявлених порушень.

Поставлена задача вирішується наступним чином.

За допомогою КХЧ діелектрометрії в області дисперсії вільної води досліджували зміни гідратного оточення нативних клітин при дії біостимуляторів.

Відповідь клітини фіксується методом КХЧ діелектрометрії по зміні діелектричної проникності суспензії еритроцитів або плазми з тромбоцитами в результаті дії біостимулятора. Біостимулятор, при взаємодії з рецептором, викликає зміни його конформації і конформацій ланцюга макромолекул, що беруть участь у трансмембранній передачі сигналу. Весь процес супроводжується значними змінами гідратного оточення цих структур, що виявляються в зменшенні або збільшенні кількості вільної і зв'язаної води в клітинній суспензії в результаті біостимуляції. Як модель для тестування функції організму при розвитку СН різного походження обраний комплекс АЦС із цитоскелетом у тромбоцитах або еритроцитах, це обумовлено наявністю в мембрані цих клітин адренорецепторів, функціонально і структурно подібних з адренорецепторами судин і міокарда.

Згідно корисної моделі, вимір змін діелектричної проникності проводили методом КХЧ-діелектрометрії в діапазоні дисперсії вільної води.

Тестування систем внутрішньоклітинної регуляції проводилося добавками гормональних стимуляторів аденілатциклазної системи і цитоскелету в еритроцитах або тромбоцитах і дозволило здійснювати тонку диференціацію порушень у роботі АЦС. Дефекти, виявлені у функціонуванні рецепторних комплексів, дозволяють контролювати стан організму до клінічних проявів захворювання.

Для характеристики змін діелектричної проникності використовувався показник параметр $\Delta\epsilon$ - зміщення дійсної частини діелектричної проникності при внесенні в клітинну суспензію біостимулятора стосовно контролю.

Для аналізу молекулярних механізмів керування клітинами були підібрані гормональні стимулятори різного механізму дії.

Для стимуляції катехоламінових рецепторів був використаний адреналін (А), у дозах у 100 разів перевищуючий зміст у крові. Використано модулятор адренергічного механізму простагландин (ПГ) і стероїдний гормон - дексаметазон (Д), а також блокатор Са - каналів верапаміл (В).

Вимір діелектричної проникності здійснювали за допомогою КХЧ-діелектрометра, розробленого в ІРЕ НАН України. [UA, патент N9844 від 11.03.2005р. "Пристрій для дослідження водної компоненти біологічних об'єктів", кл. G01N 33/48, Щеголева Т.Ю.].

Процес виконується таким чином.

При дослідженні крові виділяють 2 порції суспензії еритроцитів або плазми збагаченої тромбоцитами рівної концентрації. Додають у першу разом А і Д, у другу (контрольну) пробу додають фізіологічний розчин, так, щоб концентрації не змінилися. Визначають діелектричну проникність для кожної з проб методом КХЧ-діелектрометрії при частоті 39,5 ГГц. Обсяг проби, необхідний для

аналізу складає від 0,005мл до 0,1мл, таким чином, необхідну кількість крові можна взяти при звичайному клінічному обстеженні пацієнтів.

Значення першої проби порівнюють з контролем, якщо клітинна відповідь О, то діагностують ішемічну хворобу серця (ІХС), якщо ні, то діагностують КМП.

Як тести для індивідуального підбору фармацевтичних препаратів виділяють три порції суспензії еритроцитів або плазми збагаченої тромбоцитами рівної концентрації, роздільно додають у кожному разі: адреналін (А) і простагландин (ПГ), адреналін (А), простагландин і верапаміл (В), та контроль вимірюють діелектричну проникність і її значення в перших двох пробах порівнюють з контролем, додавка верапамілу, у межах терапевтичної дози, приводить реакцію кліток хворих пацієнтів до типової реакції кліток здорових людей.

У таблиці приведені результати, отримані на клінічному матеріалі хворих кардіоміопатією (1-5 проби крові різних хворих на КМП) при стимуляції адренорецепторів А і ПГ і під впливом А, ПГ і верапамілу (В). Показано зсув показника $\Delta\epsilon'$ під впливом блокаторів Са каналів до показника $\Delta\epsilon'$ контрольної суспензії клітин здорової людини при додаванні біостимуляторів.

Відомо, що ПГ захищає АЦС від дії А у здорових людей (патент SU, №1755192, кл. G01N33/48, від 09.01.89). При КМП нашим способом можна

індивідуально вибрати концентрації В так, щоб реакція клітин пацієнта з КМП була приведена до реакції клітин здорової людини на А+ПГ, тобто до повного захисту ПГ від дії А. На 5-тому прикладі в таблиці показана реакція клітин пацієнтів, яка потребує корекції.

Метод КХЧ діелектрометрії для діагностики, вивчення причин і молекулярних механізмів виникнення і розвитку кардіоміопатій за рахунок аналізу клітинних відповідей є економічно вигідним, високоспецифічним, безпечним, значно скорочує час обстеження хворих, дозволяє підвищити точність первинної і диференціальної діагностики і здійснити індивідуальний підбір фармакологічних препаратів для корекції виявлених порушень.

Таблиця

$\Delta\epsilon' \pm 0,1$					
біостимулятори	1	2	3	4	5
Суспензії тромбоцитів					
А+ПГ	0,4	0,2	0,2	-0,2	-0,2
А+ПГ+В	0	0	0	0	-0,2
Суспензії еритроцитів					
А+ПГ	0,4	0,2	0,2	-0,4	-0,4
А+ПГ+В	0	0	0	0	-0,2