

Винахід відноситься до медицини, а саме, - до кардіології, і може бути використаний при діагностиці Q-інфаркту міокарда.

Найбільш близьким до запропонованого способу є спосіб діагностики інфаркта міокарда, який полягає у визначенні кількості Специфічних біохімічних маркерів в сироватці крові хворого на гострий інфаркт міокарда - серцевого тропоніна Т (СтТ), маси МВ-ізоферменту креатинфосфокінази (КФК-МВ) та активності КФК-МВ [1]. На 4-у годину від початку інфаркту міокарда маса КФК-МВ перевищує верхню межу норми більше ніж у 80% випадків, а через 8г - у всіх досліджених пацієнтів. Підвищення активності КФК-МВ реєструвалась через 4г від початку ангінозного нападу менш ніж у 35% пацієнтів, а у 100% хворих цей показник перевищував норму тільки через 12г від початку інфаркту міокарда. Вміст СтТ перевищував верхню межу норми вже через 2-4г від початку інфаркту міокарда, а після 8-ої години від початку больового нападу відзначалось підвищенням у всіх пацієнтів. На 7-ому добу у половини хворих, а на 14-у добу - у 44% хворих вміст СтТ ще значно перевищував норму.

Зазначений спосіб має ряд недоліків: ретроспективність результатів аналізу, зумовлена технологічними аспектами способу, що ускладнює їх використання для корекції терапії в гострій фазі інфаркту міокарда; відносно специфічність визначених маркерів некрозу міокарда; технологічна складність методу, яка зумовлює необхідність цілодобового функціонування біохімічної лабораторії із кваліфікованим лаборантом; дороговізню методологічного забезпечення пропонованих методик.

Запропонований спосіб визначення субфракційного складу сироватки крові методом лазерної кореляційної спектроскопії при діагностиці Q-інфаркту міокарда раніше не використовувався.

В основу винаходу поставлена задача вдосконалення способу ранньої діагностики Q-інфаркту міокарда шляхом визначення розподілу за розмірами (від 5нм до 10^4 нм) усіх часток, які знаходяться у сироватки крові і які беруть участь у світлорозсіюванні, що значно скорочує витрати часу і праці, підвищує якість ранньої діагностики Q-інфаркту міокарда.

Поставлена задача вирішується тим, що згідно винаходу, визначають субфракційний склад сироватки крові за співвідношенням інгредієнтів від низькомолекулярних мономерних форм білків до надмолекулярних, гліко-ліпопротеїнових структур й високополімерних (багатомірних) циркулюючих комплексів і, дорівнюючи одержані гістограми в багатомірному просторі, визначають ступінь їх схожості або різниці, що при підвищенні в сироватці крові фракції середньомолекулярних часток радіусом від 37 до 95нм більше 148% та при пониженні зверхисокомолекулярної фракції розміром >264 нм до 3-х годин від початку ангінозного нападу більше 35%, характеризують Q-інфаркт міокарда.

Спосіб здійснюється таким чином.

Для одержання достатньої для досліджень кількості сироватки необхідно не менш 5мл крові. При приготуванні сироватки зразки у пробірках експонуються при кімнатній температурі мінімум 40 хвилин (максимум 2 години) для утворення згустку. Через 40 хвилин з моменту взяття крові згусток у пробірці одводять повздовж стінок стерильною скляною паличкою і центрифугують на протязі 15 хвилин при 3000об./хвил. Після центрифугування сироватку відбирають за допомогою дозатора у стерильну пробірку в об'ємі 1мл. Весь отриманий об'єм сироватки відокремлюють на кілька порцій по 500мкл та розливають у чисті сухі еппендорфи. Одержані описаним вище способом зразки біологічного матеріалу готові для зберігання та транспортування.

Умови зберігання: після одержання зразків сироватки крові її необхідно відразу заморозити. Допускається зберігання замороженого матеріалу строком до 3-х місяців. В період зберігання або транспортування біологічного матеріалу розморожування неприпустиме.

Розморожені зразки необхідно відцентрифугувати при 6000об./хвил. на протязі 30 хвилин для осадження пилових та інших часток. Після цієї процедури неприпустиме встряхування пробірок зі зразками. Сироватку розводять 0,85% розчином хлористого натру. Розведення припустиме не більш, ніж у 50 разів. Потім набирають дозатором 0,4-0,5мл надосаду зразка і помішують у кювету. Кришку кювети закривають, щоб уникнути попадання пилу та побічного паразитного світла. В пам'ять персональної ЕОМ завантажують програму корелятора. Вимірювання виконують на лазерному колориметрі, розробленому у відділі молекулярної та радіаційної біофізики Санкт-Петербурзького інституту ядерної фізики РАН і виготовленому НПО "Прогрес" АН України (потужність лазера 8МВт, довжина хвилі $6,37 \pm 0,6333$ мкм). Термін накопичення кореляційної функції залежить від зв'язаних з метою дослідження параметрів. У даному випадку це складає біля 5 хвилин на 1 взірець. Накопичена кореляційна функція записується і зберігається в ЕОМ у вигляді файла. Після вимірювання вміст кювети добувається за допомогою насоса, кювета промивається дистильованою водою не менш 3-х разів, після чого прилад готовий до вимірювання наступного зразка. Вся процедура вимірювання одного зразка і обробка даних займає всього 7-10 хвилин, що значно швидше інших методів діагностики.

Вирішуючи за допомогою методу регуляризації зворотну спектральну задачу, ЕОМ представляє результати у вигляді гістограми, котра графічно в логарифмічному масштабі відображає вміст в світлорозсіювання часток с 32 різними гідродинамічними радіусами в діапазоні від 5нм до 10^4 нм.

Співставляючи групи гістограм, які об'єднані загальними ознаками, ЕОМ будує усереднену гістограму, котра характеризує референтну групу на основі енного числа варіантів.

Запропонований спосіб ранньої діагностики Q-інфаркту міокарда був застосований у 24 хворих на Q-інфаркт міокарда. В контрольну групу увійшли 16 здорових донори. Результати дослідження наведени на представлених гістограмах (фіг.1).

На фіг.1 представлені усереднені гістограми сироватки крові контрольної групи;

на фіг.2 – усереднена гістограма сироватки крові хворих на Q-інфаркт міокарда при давності ІМ від 0 до 3-х годин;

на фіг.3 - усереднена гістограма сироватки крові хворих на Q-інфаркт міокарда при давності ІМ від 3-х до 6-ти годин;

на фіг.4 - усереднена гістограма сироватки крові хворих на Q-інфаркт міокарда при давності ІМ від 6-ти до 12-ти годин.

Аналіз дисперсії вкладів у світлорозсіювання частками окремих субфракцій ЛК-спектру сироватки хворих на Q-інфаркт міокарда (табл.1). Реєструється підвищення в сироватці крові хворих на Q-інфаркт міокарда при давності

ІМ від 0 до 3-х годин на 48%, від 3-х до 6-ти годин - на 157%, від 3 до 6-ти годин - на 102%. Динаміка вмісту високомолекулярних часток була наступною: через 3 години їх вміст збільшився незначно (на 7%), через 3-6 години їх вміст зменшився на 35% та через 6-12 годин він зменшився на 59%. Вміст зверхвисокомолекулярних часток зменшився на 65%, 63% та 16% відповідно.

В порівнянні з прототипом заявлений спосіб дозволяє значно підвищити точність та скоротити вартість проведення діагностики.

Література:

1. Филипенко М. Б., Староверов И. И., Амелюшкина В. А., Титов В. Н. Определение сердечного тропонина Т и массы креатинкиназы - МВ в диагностике острого инфаркта миокарда // Кардиология. -2001. - №3. - С.17-20.

Таблица

Діапазони розмірів, нм	Статистичні показники	Внесок в світлорозсіювання інгредієнтів сироватки в межах діапазонів гідродінамічних радіусів часток, %			
		Донори, n=16	Хворих на Q- інфаркт міокарда, n=24		
			0-3 год.	3-6 год.	> 6 год.
2-11 зверхнизокомолекулярний	M	17,49	16,11	10,20	12,97
	±m	2,5	1,5	2,4	1,52
	%	100	92,11	58,31	74,16
12-37 низькомолекулярний	M	43,30	46,42	45,84	47,18
	±m	3,8	3,9	3,8	3,6
	%	100	107,21	105,87	108,96
38-95 середьомолекулярний	M	11,40	16,89	29,53*	23,03*
	±m	1,2	1,97	7,45	3,97
	%	100	148,16*	257,46	202,02
96-264 високомолекулярний	M	15,00	16,08	9,81	6,12**
	±m	2,1	2,2	1,8	1,5
	%	100	107,2	65,4	40,8
>265 зверхвисокомолекулярний	M	12,81	4,51**	4,78**	10,70
	±m	1,92	1,39	0,88	1,53
	%	100	35,21	37,32	83,53

Примітка: * - достовірність різниці з контролем (P<0,05);* - достовірність різниці з контролем (P<0,01);



