



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40828 (13) A

(51) 7 A61K31/04, G01N33/49

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ КОНТРОЛЮ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ПРОЛОНГОВАНИМИ НІТРАТАМИ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ

(21) 2000063774

(22) 27.06.2000

(24) 15.08.2001

(46) 15.08.2001, Бюл. № 7, 2001 р.

(72) Волков Володимир Іванович, Яковлева Лариса Миколаївна, Бондарь Тетяна Миколаївна, Ченчик Тетяна Олександрівна, Шапошнікова Юлія Миколаївна

(73) ВОЛКОВ ВОЛОДИМИР ІВАНОВИЧ, ЯКОВЛЕВА ЛАРИСА МИКОЛАЇВНА, БОНДАРЬ ТЕТЯНА МИКОЛАЇВНА, ЧЕНЧИК ТЕТЯНА ОЛЕКСАНДРІВНА, ШАПОШНІКОВА ЮЛІЯ МИКОЛАЇВНА

(57) Спосіб контролю ефективності лікування пролонгованими нітропрепаратами у хворих на

ішемічну хворобу серця, який полягає у тому, що здійснюють біохімічне дослідження збагаченої тромбоцитами плазми, який відрізняється тим, що біохімічне дослідження здійснюють in vitro через 10-12 годин після прийому останньої дози нітропрепарату кожні 2 тижні, проводять інкубацію збагаченої тромбоцитами плазми, визначають сумарний індекс агрегації тромбоцитів без і при інкубації збагаченої тромбоцитами плазми з нітропрепаратом, розраховують зниження індексу агрегації, при зниженні індексу агрегації більш ніж на 60 % констатують достатню чутливість до пролонгованих нітратів, а при зниженні індексу агрегації менш ніж на 60 % констатують розвиток толерантності до пролонгованих нітратів.

Винахід відноситься до галузі медицини, зокрема до кардіології, та може бути використаний в амбулаторних і стаціонарних умовах при тривалій терапії хворих на ішемічну хворобу серця.

Відомий спосіб визначення індивідуальної чутливості до антиангінальних препаратів, наприклад, нітратів (див. Кокурина Е.В., Бочкарева Е.В., Марцевич С.Ю. и др. // Методические подходы к оценке эффективности антиангинальных препаратов у больных стенокардией с помощью парных велоэргометрических нагрузок. – Кардиология. – 1985. – № 4. – С. 35–40.), який включає проведення парної ВЕМ (ПВЕМ) до і через 1 годину після прийому нітропрепарату та визначення приросту тривалості фізичного навантаження. Спосіб використовується для визначення доцільності призначення антиангінального препарату.

Недоліком відомого способу є те, що він не передбачає виявлення групи хворих, у яких може розвинутихся тахіфілаксія (приватний випадок швидкого розвитку толерантності). Наявність групи хворих з протипоказаннями до проведення ПВЕМ обмежує застосування методу.

Відомий спосіб визначення чутливості до нітросорбіда у хворих на ІХС (Патент № 2026634, МПК А61В 5/00, "Способ определения чувствительности к нитросорбиду у больных ИБС"), який включає реєстрацію показників гемодинаміки у

стані покою – AT_1 і $ЧСС_1$ та на висоті дії нітросорбіда – AT_2 і $ЧСС_2$ та розрахунок коефіцієнта ефекта (КЕ) нітросорбіда: $КЕ = (AD_1 - AD_2) \times (ЧСС_1 - ЧСС_2)$. При КЕ більш, ніж 70 констатують достатню чутливість до нітросорбіду, а при КЕ менш, ніж 70 – її відсутність. Спосіб використовується для визначення доцільності призначення нітросорбіду.

Недоліком цього способу є те, що він дозволяє оцінити лише чутливість до гемодинамічних ефектів нітросорбіду на початку лікування. Відомо, що чутливість до гемодинамічних ефектів нітратів не відбиває чутливості до їх антиангінального ефекту (див. Метелица В.Й., Давыдов А.Б. Препараты нитратов в кардиологии. – М.: Медицина, 1989. – 192 с.). Більш того, розвиток толерантності до цих ефектів нітратів не співпадає за часом. Таким чином, використання наведеного способу обмежене при тривалій терапії пролонгованими нітратами.

Відомий спосіб оцінки антиагрегаційної та кальцій-мобілізуючої активності нітрогліцерину та стабілізованих форм оксиду азоту in vitro (Amano M. et al/Differential inhibition of platelet aggregation and calcium mobilization by niyroglicerine and stabilized nitric oxide. – J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1994. – V. 24. – № 6. – P. 860–866.), який включає інкубацію тромбоцитів з досліджуваним препаратом, визначення дозозалежного ефекту на

показники АДФ – індуційованої агрегації та розрахунок IC50. Спосіб використовується для порівняльної оцінки *in vitro* антиагрегаційної потужності нітропрепаратів та стабілізованих форм оксиду азоту.

Недоліками цього способу є великі кратність досліджень і об'єм збагаченої тромбоцитами плазми, які необхідні для визначення дозозалежного ефекту нітропрепаратів, що дозволяє його використовувати лише у модельній системі.

Відомий також спосіб визначення індивідуальної чутливості до пролонгованих нітропрепаратів (Заявка № 97073660, позитивне рішення від 02.07.98 р. "Способ определения индивидуальной чувствительности к пролонгированным нитропрепаратам") – прототип, який включає проведення парної велоергометрії і забір венозної крові до та через 1 годину після прийому разової дози пролонгованого нітропрепарата та визначення циклічного 3'5'-гуанозинмонофосфата (цГМФ) у збагаченій тромбоцитами плазмі.

Недоліком відомого способу є те, що він складний та трудомісткий, обмежений для використання за амбулаторних умов. Це обумовлено тим, що проведення парної велоергометрії є не досить безпечною процедурою, потребує певного часу та недоцільне для ряду хворих (з порушеннями ритму, захворюваннями опорно-рухового апарату, облітеруючим ендартерітом та атеросклерозом судин нижніх кінцівок, а також при важкій серцевій недостатності). Висока вартість стандартних наборів для аналізу цГМФ зумовлює неможливість проведення дослідження у день обстеження, що не дозволяє своєчасно провести корекцію терапії при розвитку толерантності до нітропрепарата.

В основу винаходу поставлена задача визначити біохімічні критерії оцінки індивідуальної чутливості до нітратів при тривалій терапії.

Ця задача вирішується у способі контролю ефективності лікування пролонгованими нітропрепаратами у хворих на ішемічну хворобу серця, у якому здійснюють біохімічне дослідження збагаченої тромбоцитами плазми.

Відрізняючими ознаками способу є те, що:

- біохімічне дослідження здійснюють *in vitro* через 10–12 годин після прийому останньої дози нітропрепарата кожні два тижні;

- проводять інкубацію збагаченої тромбоцитами плазми на протязі 10 хвилин при температурі 37°C з ізосорбіда-5-мононітратом (ІМН) у концентрації 10^{-4} М;

- визначають сумарний індекс агрегації тромбоцитів без і при інкубації збагаченої тромбоцитами плазми з нітропрепаратом;

- розраховують зниження індексу агрегації тромбоцитів;

- при зниженні індексу агрегації більш, ніж 60% констатують чутливість до органічних нітратів і продовжують монотерапію нітропрепаратами;

- при зниженні індексу агрегації менш, ніж на 60% констатують розвиток толерантності до органічних нітратів.

Проведення біохімічних досліджень *in vitro* через 10–12 годин після прийому останньої дози нітропрепарата кожні два тижні забезпечує:

- можливість використання способу за амбулаторних умов;

- можливість поширення групи хворих;
- можливість контролю за лікуванням при тривалій терапії.

Вибір біохімічного критерію – сумарного індексу агрегації тромбоцитів – і оцінка ефективності лікування пролонгованими нітропрепаратами за зниженням цього критерію обумовлений тим, що відповідно сучасним уявленням:

- тромбоцити є одними з клітин-мішенів нітратів (Shilo V. Yu., Storozhakov G.I., Sergeev P.V. et al. Effects of nitroglycerin on intracellular concentration of calcium in human blood platelets// *Bull. eksperim. Biol. Med.* – 1992. – Vol. 113. – P. 292–293.);

- ефекти ендогенного NO та екзогенних нітратів щодо вазодилатації та функціональної активності тромбоцитів (агрегаційні та адгезивні властивості) реалізуються однаково, через активацію рівня цГМФ (Северина І.С. Растворимая форма гуанилатциклазы в молекулярном механизме физиологических эффектов окиси азота и в регуляции процесса агрегации тромбоцитов. // *Бюл. эксп.биол.мед.* – 1995. – № 3. – С. 230–235.);

- тромбоцити та ендотеліальні клітини містять одну ізоформу NO-синтази, яка кодується одним геном та є конститутивною та Ca-залежною (Farrel A.J., Blake D.R. Nitric oxidr// *Annals of the Rheum. Diseases.* – 1996. – Vol. 55. – P. 7–20.);

- тромбоцитарна продукція NO співставима з ендотеліальною для судин малого діаметру і може відігравати важливу роль у регуляції тонуусу цих судин (Zhou Q., Helleman G.R., Solomonson L.P. Nitric oxide release from resting Human platelets// *Trombosis research* – 1995. – Vol. 77. – № 1. – P. 87–96.).

Дослідження запропонованого способу проведені в клініці Інститута терапії АМН України, м. Харків на 42 хворих.

Достовірність дослідження складає 95,8%.

Запропонований спосіб здійснюють наступним чином.

1. Проводять забір крові з кубітальної вени через 10–12 годин після прийому останньої дози нітропрепарата кожні два тижні, використовуючи в якості антикоагулянта 3,8% тричі заміщений цитрат натрію у співвідношенні з кров'ю 1:9 за об'ємом.

2. Отримують за загальною відомою методикою збагачену тромбоцитами плазму та реєструють АДФ-індуційовану агрегацію тромбоцитів і розраховують сумарний індекс агрегації (CIAT) (Самаль А.Б., Черенкевич С.Н., Хмара Н.Ф. Агрегация тромбоцитов: методы изучения и механизмы. – Мн.: Университетское, 1990. – 104 с.).

3. Проводять інкубацію збагаченої тромбоцитами плазми на протязі 10 хв. при температурі 37°C з ІМН у концентрації 10^{-4} М, потім реєструють АДФ-індуційовану агрегацію тромбоцитів і розраховують сумарний індекс агрегації (CIAT–ІМН).

4. Розраховують зниження індексу агрегації (ЗЦИАТ) за формулою:

$$\text{ЗЦИАТ} = \frac{(\text{CIAT}) - (\text{CIAT} - \text{ІМН})}{\text{CIAT}} \times 100\%.$$

5. При зниженні індекса агрегації тромбоцитів не менш, ніж 60% констатують чутливість до

органічних нітратів і продовжують монотерапію нітропрепаратами.

6. При зниженні індекса агрегації менш ніж на 60% констатують розвиток толерантності до органічних нітратів і переходять на інші схеми лікування.

Можливість здійснення способу, що пропонується підтверджено наступними клінічними прикладами:

Приклад 1. Хворий П., 48 р. Історія хвороби № 1956. Поступив до клініки Інститута терапії АМН України з метою корекції антиангінальної терапії.

Діагноз: ІХС. Стабільна стенокардія напруження III функціональний клас. Нк I ст.

На час госпіталізації хворий скаржився на біль за грудиною, пекучого характеру, що іррадіював у ліву руку і виникав при фізичному навантаженні (ходьба за прискореним темпом до 500 м), що тривав до 5 хв. Біль припинявся після прийому нітрогліцерину (добова потреба препарату складала 5 таблеток).

Із анамнезу: ангінозний біль турбує хворого на протязі 2-х років. Регулярно антиангінальну терапію не отримував, тільки нітрогліцерин під час нападу ангінозного болю.

Об'єктивні дані: стан відносно задовільний. Шкіряні покрови звичайного кольору. Над легеньми везикулярне дихання. Межі відносної серцевої глухості розширені на 1,0 см ліворуч. Серцева діяльність ритмічна, систолічний шум на верхівці серця. ЧСС 68 уд. за хв. АТ 130/70 мм рт. ст. Живіт м'який, безболісний. Периферичних набряків немає.

Клінічний аналіз крові, сечі, глюкоза крові, показники ліпідного обміну у межах норми.

ЕКГ: ритм синусовий. Порушення процесів реполяризації задньої стінки лівого шлуночку.

За способом, що заявляється, на початку лікування було зареєстровано АДФ-індуційовану агрегацію тромбоцитів, розраховано сумарний індекс агрегації, який склав 76%. Сумарний індекс агрегації тромбоцитів, інкубованих з ІНМ, склав 25%. Зниження індексу агрегації склало 73%.

За результатами обстеження хворому П. призначено ізосорбід в дозі 20 мг 4 рази на добу.

Через 2 та 4 тижні антиагрегаційний ефект ІМН *in vitro* відтворювався, зниження індексу агрегації склало 80 та 72% відповідно.

Наприкінці 6 тижня антиагрегаційний ефект ІМН *in vitro* значно зменшився, зниження індексу агрегації склало 48%.

Заключення: у хворого П. наприкінці 6 тижня визначають розвиток толерантності до нітросорбиду та переводять його на перервану схему лікування з додатковим призначенням еналапрілу.

Приклад 2. Хворий Д., 64 р. Історія хвороби № 1235. Поступив до клініки Інститута терапії АМН України з метою корекції антиангінальної терапії.

Діагноз: ІХС. Стабільна стенокардія покою I напруження III функціональний клас. Постінфарктний (1997 р.) кардіосклероз Нк I ст. Тромбофлебіт глибоких вен обох ніг.

На час госпіталізації хворий скаржився на біль стискуючого характеру, який виникає при фізичній нарузі, триває до 10 хв. Біль проходить після прийому нітрогліцерину (добова потреба 6 таблеток).

Із анамнезу: скарги, які описані вище турбують хворого на протязі 3-х років. Регулярно отримував коринфар-ретард. Останні 2 тижні ефективність препарату перестала бути достатньою: знизилася толерантність до навантажень.

Об'єктивні дані: стан відносно задовільний. Шкіряні покрови звичайного кольору. Над легеньми везикулярне дихання. Межі відносної серцевої глухості не змінені. Серцева діяльність ритмічна, тони приглушені. ЧСС 72 уд. за хв. АТ 120/80 мм рт. ст. Живіт м'який, безболісний. Периферичних набряків немає.

Клінічний аналіз крові, сечі, глюкоза крові, показники ліпідного обміну у межах норми.

ЕКГ: ритм синусовий. Неповна блокада передньої гілки лівої ніжки п. Гиса. Рубцеві зміни задньої стінки лівого шлуночку.

На початку лікування було зареєстровано АДФ-індуційовану агрегацію тромбоцитів, розраховано сумарний індекс агрегації, який склав 85%. Сумарний індекс агрегації тромбоцитів, інкубованих з ІНМ, склав 32%. Зниження індексу агрегації склало 80%.

За результатами обстеження хворому Д. призначено ізосорбід в дозі 20 мг 3 рази на добу за перерваною схемою, тобто у 7, 12, та 17 годин.

Через 2, 4, 6 та 8 тижнів антиагрегаційний ефект ІМН *in vitro* відтворювався, зниження індексу агрегації склало 73, 85, 69 та 78% відповідно. Під час усього обстеження скарг на напади 69 та 78% відповідно. Під час усього обстеження скарг на напади стенокардії у покою не було, зросла толерантність до навантажень.

Заключення: у хворого Д. визначають чутливість до нітросорбиду на протязі усього періоду спостереження і продовжують лікування за призначеною схемою.

Використання способу дозволяє: при тривалій терапії виявляти чутливість або розвиток толерантності до нітропрепаратів, що, в свою чергу, дозволяє проводити своєчасну корекцію медикаментозного лікування.

Крім того, розроблений спосіб скорочує час обстеження, є більш ефективним, технічно простим та може бути виконаним у клініко-біохімічних лабораторіях закладів практичної охорони здоров'я. Спосіб безпечний для пацієнтів, не вимагає спеціального обладнання, дефіцитних матеріалів та реактивів і, відповідно, є економічним.

Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»

Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101

(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03

