



УКРАЇНА

(19) UA (11) 56240 (13) U
(51) МПК (2011.01)
G01N 33/48
G01N 33/49

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ГЕМОВАСКУЛЯРНИХ ПОРУШЕНЬ ТА ВІДБОРУ ОСІБ З ВИСОКИМ РИЗИКОМ АТЕРОТРОМБОЗУ

1

(21) u201006737

(22) 01.06.2010

(24) 10.01.2011

(46) 10.01.2011, Бюл.№ 1, 2011 р.

(72) ВОЛКОВ ВОЛОДИМИР ІВАНОВИЧ, ЗАПРОВАЛЬНА ОЛЬГА ЄВГЕНІВНА, БОНДАР ТЕТЯНА МИКОЛАЇВНА, РЯБУХА ВЛАДИСЛАВ ВАЛЕРІЙОВИЧ

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ТЕРАПІЇ ІМ. Л.Т. МАЛОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"

(57) Спосіб оцінки гемоваскулярних порушень та відбору осіб з високим ризиком атеротромбозу, у якому проводять біохімічні дослідження крові та

2

визначають оціночний критерій гемоваскулярних порушень, який **відрізняється** тим, що як критерій, що характеризує морфофункціональний стан тромбоцитів, у цільній крові визначають на автоматичному гематологічному аналізаторі середній об'єм тромбоцитів (СОТ), при цьому встановлюють його нормативне значення і, якщо, у порівнянні зі встановленою нормою, значення СОТ підвищене не менш ніж на 15 %, свідчать про наявність гемоваскулярних порушень та високий ризик атеротромбозу у хворих на серцево-судинні захворювання, що обумовлені атеросклерозом, зокрема ішемічною хворобою серця.

Корисна модель відноситься до галузі медицини, а саме до лабораторної діагностики і може бути використана для оцінки гемоваскулярних порушень з одночасним відбором осіб з високим ризиком атеротромбозу та для контролю ефективності терапії при серцево-судинних захворюваннях, що обумовлені атеросклерозом, зокрема ішемічною хворобою серця.

Відомий спосіб прогнозування розвитку передтромботичного стану у пацієнтів із серцево-судинною патологією (Патент України 38969 у: МПК А61В5/02 опубл. 26.01.2009, Бюл. № 2/2009). Для оцінки функціонального стану кровеносних судин у спосіб проводять доплерографічне дослідження судинорухових реакцій плечової артерії (ПА), одночасно визначають індекс ендотеліальної вазодилатації (ІЕВ) та індекс механочутливості ендотелію (ІМЕ) за формулами: $ІЕВ = \Delta D/D_0$, де ΔD - різниця діаметрів ПА при реактивній гіперемії і в стані спокою, D_0 - діаметр ПА у спокої, $ІМЕ = (\Delta D/D_0)/(\Delta t/\tau_0)$, де ΔD - різниця діаметрів ПА при реактивній гіперемії і в стані спокою, D_0 - діаметр ПА у спокої, Δt - різниця між напруженням зсуву перед та після проведення проби з реактивною гіперемією, τ_0 - початкове напруження зсуву. І при одночасному зменшенні ІЕВ нижче 0,1, а ІМЕ -

нижче 0,3, прогнозують розвиток гемоваскулярних порушень зі стійким передтромботичним станом.

Недоліком способу є те, що спосіб дорогокоштовний, потребує наявності спеціалізованого обладнання та висококваліфікованого персоналу, що не дозволяє широко використовувати його у клінічній практиці.

Відомий спосіб оцінки гемоваскулярних порушень у хворих на ІХС з атеросклеротичним ураженням мезентеріальних артерій шляхом визначення наступних показників системи коагуляційного гемостазу (рівень фібриногену в плазмі крові), антикоагуляційної (активність антитромбіну, фактора Хагемана, фібринстабілізуючий фактор), фібринолітичної (сумарна фібринолітична активність, ферментативний та неферментативний фібриноліз) та протеолітичної активності (необмежений протеоліз за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу) (див. Коломоєць М.Ю., Ткач Є.П., Ходоровський В.М., Павлюкович Н.Д. Гемостазіологічні зміни та деякі параметри ліпопротеїнового спектра за умов атеросклеротичного ураження мезентеріальних артерій у хворих на ішемічну хворобу серця // УТЖ.-2008.-№ 3. -С. 13-16). За змінами значень цих показників свідчать про гемоваскулярні порушення (гіперкоагуляція та зниження фібринолітичної активності плазми крові) та ризик тромбоутворення при поширенні ате-

(19) UA (11) 56240 (13) U

росклеротичного ураження на мезентеріальний судинний басейн.

Недоліком способу є те, що він багатofакторний, спирається на мануальне виконання досліджень, що робить такий аналіз невіддатним контролю якості, та суттєво обмежує діагностичні можливості. Висока трудомісткість, потреба у наявності висококваліфікованого персоналу не дозволяє широко використовувати його у клінічній практиці.

Відомий спосіб оцінки гемоваскулярних порушень у хворих на ІХС шляхом оцінки змін показників згортувальної (активованого часткового тромбoplastинового часу, протромбінового часу і тромбінового часу - за стандартними коагулологічними методиками на кульковому коагулометрі;

концентрації фібриногену шляхом фотометричного визначення швидкості преципітації фібрину під дією рептилази), антизгортувальної (антитромбін III та протеїн С) та фібринолітичної (фібринолітична активність за часом еуглобулінового індексу - плазіноген і Хагеман-залежний фібриноліз) систем (див. Барна О.М. Стан системи гемостазу в жінок з ішемічною хворобою серця // УТЖ.-2006.- № 1.-С. 48-52).

Спосіб є більш ефективним, що обумовлено використанням, поряд з мануальними, автоматизованих досліджень (коагулологічний аналізатор), але недоліком залишається висока трудомісткість внаслідок визначення багатьох параметрів, що не дозволяє широко використовувати його у клінічній практиці.

Відомий спосіб оцінки гемоваскулярних порушень у пацієнтів із серцево-судинною патологією шляхом визначення індукованої агрегації тромбоцитів фотометричним методом (див. Амосова К.М., Нетяженко Н.В., Мішаєич Г.І. Порівняльна оцінка агрегації тромбоцитів із різними індукторами з метою виявлення біохімічної аспіринорезистентності у хворих з гострим коронарним синдромом без елевачії сегмента ST // Серце і судини.-2010.-№ 1.-С. 46-53), який є найближчим аналогом і обраний у якості прототипу.

Суть прототипу. Для оцінки індукованої агрегації тромбоцитів досліджують збагачену тромбоцитами цитратну плазму крові хворих (1,0 мл 3,8% цитрат натрію на 9 мл цільної крові). У якості індукторів використовують: АДФ, адреналін, колаген, тромбін, арахідонову кислоту. Індуковану агрегаційну активність тромбоцитів оцінюють на агрегометрі за зміною оптичної щільності плазми, багатой тромбоцитами, до та після агрегації цих клітин (E_1 та E_2 відповідно) і порівнюють з різницею оптичної щільності багатой і бідної тромбоцитами плазми (E_1 та $E_{\text{бідн}}$ відповідно). У якості оціночного критерію, що найбільш повно відображає функціональний стан тромбоцитів, розраховують величину сумарного індексу агрегації тромбоцитів (CIAT) за відомою формулою: $CIAT, \% = ((E_1 - E_2) / (E_1 - E_{\text{бідн}})) \times 100 \%$. За підвищенням кількісного значення CIAT $\geq 70 \%$ при використанні у якості індуктора АДФ;

$> 40 \%$ при використанні у якості індуктора адреналіну; $\geq 30 \%$ при використанні ристоцетину та $\geq 20 \%$ при використанні арахідонової кислоти при наявності серцево-судинного захворювання або на

тлі антитромбоцитарної терапії судять про порушення гемостазу у хворих та високий ризик тромбоемболії.

Недоліком прототипу є те, що, незважаючи на високу наукову цінність, він не є стандартизованим. Метод складний, вимагає наявності агрегометра та висококваліфікованого персоналу, що не дозволяє використовувати його широко у клінічній практиці.

Задача корисної моделі - розробити такий спосіб оцінки, у якому вибір мінімально оптимальної кількості біохімічних показників із збереженням інформативності та специфічності досліджень дозволить спростити та оптимізувати процес оцінки гемоваскулярних порушень при серцево-судинних захворюваннях, що обумовлені атеросклерозом, зокрема ішемічною хворобою серця.

Задача вирішується шляхом удосконалення відомого способу оцінки, у якому вводять біохімічні дослідження крові та визначають оціночний критерій гемоваскулярних порушень.

Ознаки, що відрізняють корисну модель від прототипу, є такі:

- у якості критерію, що характеризує морфофункціональний стан тромбоцитів, у цільній крові визначають на автоматичному гематологічному аналізаторі середній об'єм тромбоцитів (COT);

- встановлюють його нормативне значення;

- і якщо, у порівнянні з встановленою нормою, значення COT підвищене не менш, ніж на 15 %, свідчать про наявність гемоваскулярних порушень та високий ризик атеротромбозу у хворих на серцево-судинні захворювання, що обумовлені атеросклерозом, зокрема ішемічною хворобою серця.

Вибір та кількісна оцінка (за власними даними оригінальних досліджень) показника COT дозволить простим, відтворюваним та широко доступним у клінічній практиці методом виявляти осіб, хворих на ІХС, з гемоваскулярними порушеннями та високим ризиком атеротромбозу і розширити сферу застосування для скринінгу великих груп обстежуваних осіб.

Доцільність вибору показника COT у якості оціночного критерію обумовлена відомими даними літератури про можливість використання COT у якості індикатора функціональної активності тромбоцитів (Park Y., Schoene N., Harris W. Mean platelet volume as an indicator of platelet activation: methodological issues // Platelets.- 2002.-V. 13 (5-6).- P. 301-306), незалежного фактору кардіоваскулярного ризику (Vizioli L, Muscari S., Muscari A. The relationship of mean platelet volume with the risk and prognosis of cardiovascular diseases // Int. J. Clin. Pract.- 2009.-V. 63 (10).-P. 1509-1515; De Luca G, Santagostino M, Secco GG, et al. Mean platelet volume and the extent of coronary artery disease: results from a large prospective study // Atherosclerosis.- 2009.-V.206(1).-P.292-297). Встановлений зв'язок цього показника з функціональним станом ендотелію судин у хворих із серцево-судинними захворюваннями (Vizioli L, Muscari S., Muscari A. The relationship of mean platelet volume with the risk and prognosis of cardiovascular diseases // Int. J. Clin. Pract.- 2009.-V. 63 (10).-P. 1509-1515).

Ступінь відтворюваності результатів при використанні корисної моделі - 95 %.

Дослідження за запропонованою корисною моделлю були проведені у відділі атеросклерозу та ішемічної хвороби серця ДУ „Інститут терапії ім. Л.Т.Малої АМН України". Обстежено 277 хворих (66 % чоловіків і 34 % жінок у віці від 45 до 74 років (середній вік $59,5 \pm 0,64$ років) з серцево-судинними захворюваннями, що обумовлені атеросклерозом, зокрема ішемічною хворобою серця. Серед них виявлено 87 хворих на ІХС зі стабільною стенокардією напруження 2-4 класу з наявністю гемоваскулярних порушень та високим ризиком атеротромбозу.

Математичну обробку даних здійснено на персональному комп'ютері з використанням статичної програми „Statistica". Вірогідність різниць оцінювали за критерієм t-Ст'юдента. Взаємозв'язок між показниками встановлювали за коефіцієнтом кореляції Пірсона.

Запропоновану корисну модель здійснюють таким чином:

Для оцінки гемоваскулярних порушень та відбору осіб з високим ризиком атеротромбозу серед хворих з серцево-судинними захворюваннями, що обумовлені атеросклерозом, зокрема ішемічною хворобою серця, проводять біохімічні дослідження крові та визначають оціночний критерій гемоваскулярних порушень.

Згідно корисної моделі у якості критерію, що характеризує морфофункціональний стан тромбоцитів, визначають у цільній крові на автоматичному гематологічному аналізаторі середній об'єм тромбоцитів (СОТ). Забір крові в об'ємі 1,5 мл здійснюють у пластикову пробірку типу „епендорф", у яку попередньо додають 1 краплю насиченого розчину ЕДТА. Стабілізовану кров з ЕДТА перемішують перед відбором у прийомний канал автоматичного гематологічного аналізатора. Вимірювання СОТ здійснюють на аналізаторі гематологічному MS4 (MELET SCHOESENG Laboratories, Франція) кодуктометричним методом. Тривалість одного аналізу 2 хвилини. Результат вимірювання виражають у фемтолітрах (фл) (див. Киселевский Ю., Борец В., Костоусов В. и др.. Аналитические и диагностические аспекты практической коагулологии. Методические рекомендации.-Гродно, 1997.-80 с.).

При цьому попередньо встановлюють нормативне значення СОТ (результати власних досліджень) ($8,0 \pm 0,43$) фл, діапазон коливання величини від 6,5 до 9,5 фл.

І якщо, у порівнянні зі встановленою нормою, значення СОТ підвищене не менш, ніж на 15 %, свідчать про наявність гемоваскулярних порушень та високим ризиком атеротромбозу у хворих на серцево-судинні захворювання, що обумовлені атеросклерозом, зокрема ішемічною хворобою серця.

Приклад 1

Хворий Р., 47 років, був обстежений амбулаторно (амбулаторна карта № 553). На підставі скарг (стискаючі болі за грудиною, що виникають при значному навантаженні (підйом на 3-й поверх, прискорена ходьба 500 метрів), що проходять самостійно при зупиненні навантаження; даних тре-

дміл-тесту («позитивна» проба, II функціональний клас) встановлено діагноз: ІХС, стабільна стенокардія напруження, II функціональний клас. СН I ст, зі збереженою систолічною функцією лівого шлуночка. Гіпертонічна хвороба II ст., II ступеня, ризик 4 (дуже високий). Хворий постійно приймав (β-блокатор (бісопролол), аспірин (кардіомагніл) 75 мг за добу.

Згідно корисної моделі для оцінки гемоваскулярних порушень у хворого визначають у цільній крові морфофункціональний стан тромбоцитів за показником середнього об'єму тромбоцитів (СОТ).

Визначений СОТ становить 8,3 фл. Цей результат знаходиться у межах нормальних значень ($8,0 \pm 0,43$ фл), що свідчить про низький ризик атеротромбозу. Хворому були надані рекомендації про продовження терапії у попередньому режимі.

Приклад 2

Пацієнт Р., 59 років був госпіталізований у стаціонар (історія хвороби № 1455). На підставі скарг (стискаючі болі за грудиною, що виникають при будь-якому навантаженні (ходьба до 5-10 метрів), що проходять самостійно при зупиненні навантаження); даних анамнезу (перенесений інфаркт міокарду) встановлений діагноз: ІХС, стабільна стенокардія напруження, IV функціональний клас. Постінфарктний (2004) кардіосклероз. Блокада лівої ніжки п.Гіса. Гіпертонічна хвороба III ст.. III ступеня, ризик 4 (дуже високий). СН II-A ст., III функціональний клас, зі зниженою систолічною функцією лівого шлуночка. Хворому індивідуально була підібрана терапія: β-блокатор (карведілол), нітрати, сечогінні, інгібітори АПФ, статини. У якості антиагреганту призначений аспірин (кардіомагніл) у дозі 75 мг/добу.

Згідно корисної моделі для оцінки гемоваскулярних порушень у хворого визначають у цільній крові морфофункціональний стан тромбоцитів за показником середнього об'єму тромбоцитів (СОТ). Визначений СОТ становить 10,6 фл, що перевищує встановлену норму ($8,0 \pm 0,43$ фл) на 32,5 % та свідчить про високий ризик атеротромбозу у хворого.

У даному випадку антитромбоцитарна терапія з призначенням тільки аспірину не є ефективною. З огляду на це хворому додатково призначають клопідогрель в дозі 75 мг на добу. Через 10 діб прийому „подвійної" терапії здійснюють контроль за її ефективністю шляхом повторного визначення СОТ, значення якого становить 7,8 фл, що знаходиться у межах нормальних значень Антитромбоцитарну терапію, що проводять, визнають як ефективну та хворому надають рекомендації про продовження „подвійної" терапії.

Загальні висновки: у наведених клінічних прикладах підтверджується, що використання показника морфофункціонального стану тромбоцитів - СОТ у якості оціночного критерію дозволяє швидким та простим способом одержати вірогідні результати оцінки порушень тромбоцитарного гемостазу у хворих та здійснювати контроль ефективності призначеної антитромбоцитарної терапії.

Технічний результат. Використання корисної моделі, у порівнянні з прототипом, дозволить про-

стим, відтворюваним та широко доступним у клінічній практиці методом виявляти осіб з гемоваскулярними порушеннями та високим ризиком атеротромбозу серед хворих з серцево-судинними захворюваннями, що обумовлені атеросклерозом,

зокрема ішемічною хворобою серця. Додатковою перевагою є можливість використання цього способу для скринінгу великих груп обстежуваних осіб.