



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 108233

(13) U

(51) МПК

G01N 33/49 (2006.01)

A61B 5/145 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 00029**

(22) Дата подання заявки: **04.01.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **11.07.2016**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **11.07.2016, Бюл. № 13**

(72) Винахідник(и):

**Архипова Катерина Анатоліївна (UA),
Малахов Володимир Олександрович
(UA),**

**Красов Павло Сергійович (UA),
Фісун Анатолій Іванович (UA),
Личко Володимир Станіславович (UA)**

(73) Власник(и):

**ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ
ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ,**

вул. Корчагінців, 58, м. Харків, 61176 (UA)

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ХРОНІЧНИХ ТА ГОСТРИХ ІШЕМІЧНИХ ПОРУШЕНЬ НА КЛІТИННОМУ РІВНІ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики хронічних та гострих ішемічних порушень на клітинному рівні здійснюють шляхом дослідження показників крові. Проводять оцінку активності симпато-адреналової системи (САС) з використанням міліметрової діелектрометрії шляхом порівняння діелектричної проникності ϵ^* зразків еритроцитів з використанням розчинів адреналіну та бета-блокатора окремо, та їх сумісної дії на тлі попередньої блокади рецепторів бета-блокатором, вимірюють величини діелектричної проникності ϵ^* зразків еритроцитів ϵ_1^* , ϵ_2^* , ϵ_3^* , ϵ_4^* та ϵ_5^* (відповідно до нумерації зразків).

UA 108233 U

Корисна модель належить до медицини, зокрема до неврології, і може бути використана для діагностики гострих та хронічних мозкових порушень на початкових стадіях розвитку шляхом вивчення функціонального стану симпато-адреналової системи (САС) організму людини на клітинному рівні

Цереброваскулярні захворювання (ЦВЗ) залишаються гострою медико-соціальною проблемою світового рівня. Саме їх поширеність серед населення, висока смертність та швидке "омолодження" обумовлюють актуальність пошуку й розробки нових інформативних, і в той же час доступних методів ранньої діагностики і ефективного прогнозу стану здоров'я. Водночас тривають дослідження нових критеріїв (факторів ризику) ЦВЗ і підходів до їх корекції. На сьогоднішній день вже добре відомо, що окрім основних факторів ризику, таких як артеріальна гіпертензія і атеросклероз, слід враховувати ряд додаткових факторів (порушення серцевого ритму, хвороби серця з ознаками хронічної недостатності кровообігу, аномалії судин, цукровий діабет, захворювання крові, хронічний стрес, тощо), наявність яких значно обтяжує перебіг захворювання.

Відомі способи прогнозування ризику розвитку ішемічних порушень мозкового кровотоку. До них належать визначення ліпідного спектру крові, магнітно-резонансна томографія (МРТ), комп'ютерна томографія (КТ), транскраніальна доплерографія і інші [див. Одинак М.М., Михайленко А.А. и др. Сосудистые заболевания головного мозга. СПб., 1997. - С. 121-123]. Зазначені способи не дозволяють виявити функціональний стан адренергічної системи організму, що дозволяє спостерігати за станом організму людини на клітинному рівні в режимі реального часу.

Відомий спосіб діагностики початкових форм судинних захворювань головного мозку [Патент України No 17739А, МПК 6А61В5/00], вибраний за прототип. Спосіб включає дослідження еритроцитів-стоматоцитів крові в динаміці дексаметазонового тесту.

Спосіб дозволяє визначити початкові форми судинних захворювань головного мозку і не дає змогу провести диференційну діагностику хронічних та гострих ішемічних порушень на клітинному рівні.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу діагностики хронічних та гострих ішемічних порушень, в якому за рахунок зміни досліджуваних показників, досягається підвищення точності та швидкості визначення функціонального стану адренергічної системи організму, що дозволяє спостерігати за станом організму людини на клітинному рівні в режимі реального часу, а також зменшення обсягу клінічного матеріалу для діагностики хронічних та гострих мозкових порушень.

Поставлена задача вирішується в способі діагностики хронічних та гострих ішемічних порушень, який здійснюють шляхом дослідження показників крові, згідно з корисною моделлю, проводять оцінку активності симпато-адреналової системи (САС) з використанням міліметрової діелектрометрії шляхом порівняння діелектричної проникності ϵ^* зразків еритроцитів з використанням розчинів адреналіну та бета-блокатора окремо, та їх сумісної дії на тлі попередньої блокади рецепторів бета-блокатором, вимірюють величини діелектричної проникності ϵ^* зразків еритроцитів ϵ_1^* , ϵ_2^* , ϵ_3^* , ϵ_4^* та ϵ_5^* (відповідно до нумерації зразків), при отриманні зменшення ϵ_2^* та ϵ_3^* відносно ϵ_1^* на 5 % та більше, а також при відсутності змін ϵ_5^* відносно ϵ_4^* (зміна величини у межах похибки вимірювання $\pm 1,5$ %) діагностують рівень активності САС, що відповідає фізіологічній нормі, при спостереженні змін ϵ_2^* та ϵ_3^* відносно ϵ_1^* в діапазоні ± 3 % роблять висновок про пригнічення рівня адренореактивності внаслідок гіперактивності САС та діагностують гостру форму мозкових порушень, при отриманні збільшення величин ϵ_2^* та ϵ_3^* відносно ϵ_1^* на 3 % та більше, а також змін будь-якого напрямку (збільшення чи зменшення) ϵ_5^* відносно ϵ_4^* діагностують хронічну форму мозкових порушень.

Пропонується проводити *in vitro* моніторинг адренореактивності еритроцитів (АРЕ) з використанням неруйнівного біофізичного методу - міліметрової діелектрометрії, що дозволяє спостерігати за станом організму людини на клітинному рівні в режимі реального часу. Спосіб діагностики, що пропонується, дозволяє суттєво підвищити точність та швидкість дослідження, зменшити обсяг клінічного матеріалу.

Результати досліджень, спрямованих на виявлення механізмів патогенезу серцево-судинних та ЦВЗ, переконливо свідчать про провідну роль дисбалансу регуляції нейрогуморальної системи та підвищеної активності САС [Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца /Ф.З. Меерсон. - М.: Медицина, 1984. - 269 с.], оскільки реалізація стресорної реакції організму безпосередньо пов'язана із функціональним станом мембранно-рецепторного комплексу клітин (МРК) [Трошин В.Д. Стресс и стрессогенные расстройства. Диагностика, лечение и профилактика. - М.: Медицинское информационное агентство, 2007, 704 с.]. Саме зміни функцій МРК розглядають

як основний дефект, який спричиняє цілий каскад біологічних реакцій у відповідь на вплив різних інформаційних сигналів (біологічно активних речовин, гормонів, алергенів, мікроорганізмів тощо), адже перші події розгортаються на рівні клітинних мембран та їх рецепторів [Постнов Ю.В., Орлов С.Н. Первичная гипертензия как патология клеточных мембран. - М.: Медицина, 1987, Goldberg D.M., Riordan J.R. "Role of membranes in disease", Clin. Physiol. Biochem, vol. 4(5), pp. 305-36, 1986]. Отже, перспективним є дослідження зв'язку цереброваскулярних розладів з індивідуальними особливостями стресової системи, що дозволить персоніфікувати підходи до профілактики розвитку і прогресування порушень мозкового кровообігу.

Спираючись на відомі дані про неінвазивні методи дослідження, до яких належить міліметрова діелектрометрія [Щеголева Т.Ю. Исследование биологических объектов в миллиметровом диапазоне радиоволн. - Киев: Наукова думка, 1996. - 182 с.], перспективним виявляється застосування саме неінвазивного інструментарію. До того ж сучасні уявлення про сигнальні трансмембранні та внутрішньоклітинні системи дадуть змогу розробляти нові стратегії фармакологічної корекції гіпоксичних станів на основі виявлених молекулярних порушень. У цьому сенсі концепція дослідження ЦВЗ як мембрано-рецепторної патології може стати базисом для майбутніх досліджень в ангіоневрології.

Спосіб діагностики, що пропонується, здійснюється наступним чином. Проводять забір венозної крові (2 мл) натщесерце, яку стабілізують антикоагулянт (0,1 мл розчину гепарину з активністю 5000 МО на 2 мл цільної крові). Потім відділяють фракцію еритроцитів від плазми шляхом центрифугування при 1500 об/хв (255 g) у фізіологічному розчині тричі (по 10 хвилин на кожен цикл центрифугування). Отримані еритроцити поділяють на 5 еквіоб'ємних зразків (5×0,2 мл) з гематокритним показником $0,75 \pm 0,01$ та послідовно вимірюють діелектричну проникність ϵ^* кожного із зразків після їх інкубації з адренергічною речовиною (окремо адреналін та бета-блокатор, а також їх сполучення). Зразок №1 є контрольним, до якого замість адренергічної речовини додається 0,01 мл фізіологічного розчину (0,9 % NaCl); у зразок № 2 додається 0,01 мл розчину адреналіну (1,8 мг/мл); у зразок № 3 додається 0,01 мл розчину бета-блокатора пропранололу (7,5 мг/мл); у зразок №4 додається 0,05 мл бета-блокатора та 0,05 мл фізіологічного розчину, та у зразок № 5-0,05 мл бета-блокатора та 0,05 мл адреналіну, причому в останньому випадку, адреналін додають після бета-блокатора для здійснення блокади МРК еритроцитів. Додавання адренергічних речовин у зразок здійснюють за допомогою мікродозатора безпосередньо за 25-30 хвилин до вимірів ϵ^* . Після додавання домішок зразок перемішують без ціноутворення і залишають на 15 хвилин при кімнатній температурі у герметичній пробірці, після чого перемішують повторно і знову залишають на 15 хв. Безпосередньо перед вимірами зразок знову перемішують. Вимірювання величин ϵ_1^* , ϵ_2^* , ϵ_3^* , ϵ_4^* та ϵ_5^* (відповідно до нумерації зразків) проводять з використанням вимірювального комплексу [Патент UA 109779 C2, Пристрій для вимірювання діелектричної проникності біологічних рідин у КВЧ діапазоні електромагнітного випромінювання, Красов П.С., Фісун А.І., Архипова К.А. - Заяви. 20.07.2012, Опубл. 12.10.2015, Бюл. № 19] за схемою контрольна проба-дослідна проба. Час вимірювання одного зразка становить 4 секунди. Для підвищення точності вимірювань кожен зразок вимірюють не менше 5 разів, після чого знаходиться середня величина. Середній час проведення повного тесту складає 15-20 хвилин. Статистичний аналіз отриманих даних проводять у програмному забезпеченні з вільним доступом R/Deducer з використанням мови програмування R [Fellows I., "Deducer: A Data Analysis GUI for R", Journal of Statistical Software, vol. 49(8), pp. 1-15, 2012: <http://www.jstatsoft.org/v49/i08/>].

При отриманні зменшення ϵ_2^* та ϵ_3^* відносно ϵ_1^* на 5 % та більше, а також при відсутності змін ϵ_5^* відносно ϵ_4^* (зміна величини у межах похибки вимірювання $\pm 1,5$ %) діагностують рівень активності САС, що відповідає фізіологічній нормі. При спостереженні змін ϵ_2^* та ϵ_3^* відносно ϵ_1^* в діапазоні ± 3 % роблять висновок про пригнічення рівня адренореактивності внаслідок гіперактивності САС та діагностують гостру форму мозкових порушень. При отриманні збільшення величин ϵ_2^* та ϵ_3^* відносно ϵ_1^* на 3 % та більше, а також змін будь-якого напрямку (збільшення чи зменшення) ϵ_5^* відносно ϵ_4^* діагностують хронічну форму мозкових порушень. Для більш ефективного контролю функції САС рекомендовано проводити моніторинг активності АРЕ принаймні двічі з інтервалом у 10 діб.

Суть корисної моделі пояснюється конкретними прикладами застосування способу.

Приклад 1. Хвора В., 65 років, госпіталізована до неврологічного відділення міської клінічної лікарні м. Харкова зі скаргами на головний біль, запаморочення, хиткість при ході, підвищення АТ, нудоту, періодичні напади з серцебиттям, задишку та біль в шийному відділі хребта. Об'єктивно: легені в нормі, тони серця ритмічні, АТ 120/85 мм рт. ст., печінка, селезінка та лімфатичні вузли не збільшені. У неврологічному статусі: м'язова сила 5 балів, м'язовий тонус

без змін, чутливість не порушена, астенізована, згладжений шийний лордоз, дефанс паравертербральних точок у шийному відділі хребта. Діагноз: дисциркуляторна гіпертонічна енцефалопатія 2 ст. за наявності вестибулоатактичного синдрому, астенічний синдром, вегетосудинні пароксизми, цервікалія, м'язово-тонічний синдром, шийний остеохондроз. Хворіє протягом понад 15 років. Неодноразово лікувалася амбулаторно та у стаціонарі. За останні півроку настало погіршення стану з наростанням та почастішанням вищеписаних скарг. Було здійснено додаткове обстеження діелектричних показників крові, внаслідок чого встановлено збільшення показників діелектричної проникності ϵ_2^* та ϵ_3^* відносно ϵ_1^* (контроль) на 4,5 % ($p < 0,02$), та збільшення величини ϵ_5^* відносно ϵ_4^* на 3,2 % ($p < 0,04$). Паралельно результати діелектричного моніторингу були підтверджені результатами біохімічного методу оцінки САС (Стрюк Р.І., Длусская І.Г., 2003). Об'єктивно характер зв'язку дослідних параметрів було оцінено за коефіцієнтом кореляції Спірмана, який склав $r = +0.42$ ($p < 0,04$). Враховуючи скарги хворої, клінічну картину захворювання, дані об'єктивного дослідження та результати додаткових методів дослідження, хворій був поставлений клінічний діагноз - дисциркуляторна гіпертонічна енцефалопатія 2 ст.

Приклад 2. Хворий К., 68 років, госпіталізований у неврологічне відділення міської клінічної лікарні м. Харкова зі скаргами на заніміння та слабкість у правих кінцівках, утруднення мови, підвищення АТ, задишку та періодичний біль у грудній клітці під час фізичних навантажень. З анамнезу: на артеріальну гіпертензію та ішемічну хворобу серця хворіє близько 10 років, систематично ліків не приймає. Неодноразово лікувався амбулаторно та стаціонарно. Захворів гостро приблизно 3 години тому, коли з'явилися вищевказані скарги. Об'єктивно: шкірні покриви блідо-рожеві, дихання везикулярне, ЧДР 18/хв., тони серця ритмічні, пульс 86 уд./хв., АТ 180/100 мм рт. ст., печінка, селезінка та лімфатичні вузли не збільшені. Фізіологічні відправлення без особливостей. Неврологічний статус: центральний парез 7-ї та 12-ї пар ЧМН, елементи моторної афазії, м'язова сила в правих кінцівках знижена до 3-х балів, м'язова гіпотонія в них, правобічна гемігіпестезія, симптом Бабінського справа, менінгеальні позначки відсутні. Діагноз: інфаркт головного мозку в басейні лівої СМА з правобічним помірним геміпарезом, елементами моторної афазії на фоні церебрального атеросклерозу, артеріальної гіпертензії 2 ст. Здійснено додаткове обстеження діелектричних показників крові, внаслідок чого встановлено відсутність змін діелектричної проникності ϵ_2^* та ϵ_3^* відносно ϵ_1^* (контроль) ($p > 0,05$), та збільшення величини ϵ_5^* відносно ϵ_4^* на 3 % ($p < 0,04$), що відповідає гіперактивному стану САС та діагностують гостру форму мозкових порушень.

Загалом із використанням способу діагностики було досліджено 81 пацієнтів, з них 36 із дисциркуляторною енцефалопатією за гіпертонічним типом та 45 із ішемічним інсультом, а також 26 умовно здорових осіб.

Таким чином, запропонований спосіб діагностики хронічних та гострих ішемічних порушень на клітинному рівні дозволяє диференційовано проводити діагностику.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики хронічних та гострих ішемічних порушень на клітинному рівні, який здійснюють шляхом дослідження показників крові, який **відрізняється** тим, що проводять оцінку активності симпат-адреналової системи (САС) з використанням міліметрової діелектрометрії шляхом порівняння діелектричної проникності ϵ^* зразків еритроцитів з використанням розчинів адреналіну та бета-блокатора окремо, та їх сумісної дії на тлі попередньої блокади рецепторів бета-блокатором, вимірюють величини діелектричної проникності ϵ^* зразків еритроцитів ϵ_1^* , ϵ_2^* , ϵ_3^* , ϵ_4^* та ϵ_5^* (відповідно до нумерації зразків), при отриманні зменшення ϵ_2^* та ϵ_3^* відносно ϵ_1^* на 5 % та більше, а також при відсутності змін ϵ_5^* відносно ϵ_4^* (зміна величини у межах похибки вимірювання $\pm 1,5$ %) діагностують рівень активності САС, що відповідає фізіологічній нормі, при спостереженні змін ϵ_2^* та ϵ_3^* відносно ϵ_1^* в діапазоні ± 3 % роблять висновок про пригнічення рівня адренореактивності внаслідок гіперактивності САС та діагностують гостру форму мозкових порушень, при отриманні збільшення величин ϵ_2^* та ϵ_3^* відносно ϵ_1^* на 3 % та більше, а також змін будь-якого напрямку (збільшення чи зменшення) ϵ_5^* відносно ϵ_4^* діагностують хронічну форму мозкових порушень.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601