



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **115002**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 33/49** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	<b>u 2016 11252</b>	(72) Винахідник(и):	<b>Лопіна Наталія Андріївна (UA), Журавльова Лариса Володимирівна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки:	<b>07.11.2016</b>	(73) Власник(и):	<b>ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, просп. Науки, 4, м. Харків, 61022 (UA)</b>
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	<b>27.03.2017</b>	(74) Представник:	<b>Свтушенко Тамара Григорівна</b>
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>27.03.2017, Бюл.№ 6</b>		

## (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ВИРАЖЕНОСТІ АТЕРОСКЛЕРОТИЧНОГО УРАЖЕННЯ КОРОНАРНИХ СУДИН У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2-ГО ТИПУ

### (57) Реферат:

Спосіб діагностики атеросклеротичного ураження коронарних судин у хворих на цукровий діабет 2-го типу включає визначення рівня фракталкіну в сироватці крові. При реєстрації підвищення рівня фракталкіну у порівнянні до контрольних значень коронарний атеросклероз діагностують при його рівні >466 пг/мл. Гемодинамічно значущий стеноз діагностують при рівні фракталкіну >468 пг/мл. Дифузне ураження коронарної судини діагностують при рівні фракталкіну >596 пг/мл.

**UA 115002 U**



Корисна модель належить до медицини, а саме до внутрішніх хвороб, і може бути використана для діагностики вираженості атеросклеротичного ураження коронарних судин у хворих на цукровий діабет (ЦД) 2-го типу.

Незважаючи на успіхи у лікуванні серцево-судинних захворювань, досягнуті у кардіології за останні півсторіччя, ситуація продовжує залишатися незадовільною - серцево-судинні захворювання продовжують впевнено посідати провідне місце серед причин смертності та інвалідності в усьому світі. Можливо тому, що існуючі способи ранньої діагностики судинного ураження недостатньо ефективні.

Велике значення в патогенезі серцево-судинних захворювань має сімейство хемокинів, так як активує лейкоцити і сприяє їх адгезії до судинної стінки, тобто підсилює запалення в ендотелії, грає важливу роль на всіх етапах прогресування серцево-судинних захворювань від утворення атеросклеротичної бляшки до її розриву. Представником сімейства хемокинів є фракталкін (CX3CL1). Він був описаний як багатодомений білок великого розміру, молекулярною масою 95 кДа. Фракталкін виробляється в численних клітинах, але більш за все в активованих ендотеліальних клітинах, гладко-м'язових клітинах і макрофагах [Fractalkine is a novel human adipochemokine associated with type 2 diabetes /R. Shah, C.C. Hinkle, J.F. Ferguson et al. //Diabetes. - 2011. - Vol. 60. - P. 1512-1518].

Фракталкін підсилює міграцію лейкоцитів з кров'яного русла в тканини за рахунок підвищення селектин-опосередкованого зв'язування, викликаючи адгезію і, в кінцевому підсумку, міграцію лейкоцитів через ендотеліальний шар. Останнім часом в деяких дослідженнях на культурах гладко-м'язових клітин продемонстровано, що CX3CL1 має антиапоптичні властивості і впливає на проліферацію гладко-м'язових клітин і, як наслідок, може мати важливе значення в розвитку і прогресуванні судинної патології, де баланс проліферації гладко-м'язових клітин і процеси апоптозу відіграють найважливішу роль в розвитку стенозування судин. Фракталкін є адіпохемокином, який виробляється адипоцитами і клітинами строми судин у відповідь на системне запалення в організмі. Відомо, що хворі на ЦД 2-го типу мають більші значення рівня CX3CL1 в порівнянні з особами без супутнього ЦД. Відомо, що висока концентрація глюкози, сприяє експресії фракталкіну гладко-м'язовими клітинами і ендотеліальними клітинами в експериментах (in vitro), що сприяє посиленню адгезії моноцитів і потенційно викликає розвиток і прогресування атерогенезу. Показано, що збільшення рівнів фракталкіну у пацієнтів з метаболічним синдромом і ЦД 2-го типу може сприяти уповільненню руйнування моноцитів, і тим самим сприяти розвитку і прогресуванню атерогенезу [Fractalkine is a novel human adipochemokine associated with type 2 diabetes /R. Shah, C.C. Hinkle, J.F. Ferguson et al. //Diabetes. - 2011. - Vol. 60. - P. 1512-1518].

Для діагностики атеросклеротичного ураження коронарних артерій використовують непрямі методи, які свідчать про наявність ішемії міокарда - електрокардіографія, стрес-Ехокардіографія, холтеровське моніторування ЕКГ, навантажувальні проби (ВЕМ, тредміл тест), а також прямі методи - неінвазивну комп'ютерну томографію та інвазивну методику - коронарографію.

Останнього часу для діагностики атеросклеротичного ураження судин використовують визначення маркера ендотеліальної дисфункції фракталкіну сироватки крові. Згідно з відомим способом атеросклеротичні ураження судин діагностують за умови підвищення його рівня у порівнянні до контрольних значень [Роль дисфункции эндотелия в развитии диабетических макроангиопатий /А.С. Северина, Н.А. Галицина, Е.В. Парфенова и др. /Пособие для врачей. - 2007. - С. 10-14].

Даний спосіб діагностики атеросклеротичного ураження коронарних судин у хворих на ЦД 2-го типу є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю і результатом, який може бути досягнутим, тому його вибрано за прототип.

Основним недоліком способу-прототипу є те, що він діагностує атеросклеротичне ураження судин тільки за тенденцією рівня фракталкіну до його підвищення, що не дає можливості діагностувати вираженість ураження коронарної судини.

У зв'язку з вищевикладеним, в основу корисної моделі поставлено задачу підвищення точності діагностики атеросклеротичного ураження коронарних судин у хворих на ЦД 2-го типу шляхом оцінки вираженості цього ураження.

Задачу, яку поставлено в основу корисної моделі, вирішують тим, що у відомому способі діагностики атеросклеротичного ураження коронарних судин у хворих на ЦД 2-го типу, який включає визначення рівня фракталкіну в сироватці крові, згідно з корисною моделлю, при реєстрації підвищення рівня фракталкіну у порівнянні до контрольних значень коронарний атеросклероз діагностують при його рівні >466 пг/мл, гемодинамічно значущий стеноз

діагностують при рівні фракталкіну >468 пг/мл, дифузне ураження коронарної судини діагностують при рівні фракталкіну >596 пг/мл.

Технічний ефект корисної моделі, а саме підвищення точності діагностики атеросклеротичного ураження коронарних судин у хворих на ЦД 2-го типу шляхом оцінки вираженості цього ураження, обумовлений синергізмом вимірів та їх кількісних значень.

Спосіб виконують наступним чином: наявність атеросклеротичного ураження судин діагностують при підвищенні рівня фракталкіну. При цьому коронарний атеросклероз діагностують при рівні фракталкіну >466 пг/мл, гемодинамічно значущий стеноз діагностують при рівні фракталкіну >468 пг/мл, дифузне ураження коронарної судини діагностують при рівні фракталкіну >596 пг/мл.

Ефективність способу доказана клінічними дослідженнями.

В умовах кардіологічного відділення було обстежено 131 пацієнта з ішемічною хворобою серця стабільною стенокардією напруги II-III ф.кл. (89 чоловіків, 42 жінок), середній вік яких склав  $59,6 \pm 9,11$  років. Групу порівняння склали 15 пацієнтів з ЦД 2-го типу з інтактними коронарними судинами. Контрольну групу склали 20 практично здорових добровольців відповідної статі і віку.

Верифікація діагнозу - ІХС, стабільна стенокардія напруги проводилася на підставі клініко-анамнестичного та інструментального досліджень шляхом проведення коронаровентрикулографії, велоергометри і холтерівського моніторування ЕКГ з використанням критеріїв, рекомендованих Українським товариством кардіологів (2007), Асоціацією кардіологів України; діагноз ЦД - відповідно до класифікації порушень глікемії (ВООЗ, 1999). Верифікація діагнозу ЦД 2-го типу ґрунтувалася на визначенні показників вуглеводного обміну (використовувалися показники короткострокового і довгострокового вуглеводного балансів - глікемічний профіль і глікозильований гемоглобін).

Рівень фракталкіну визначався за допомогою набору реактивів RayBio® Human Fractalkine (CX3CL1) ELISA Kit (США) імуноферментним методом.

Всім пацієнтам проводилася коронарографія правої і лівої коронарних артерій в стандартних проекціях за допомогою ангиографа Siemens AXIOM Artis.

Залежно від наявності ЦД 2-го типу хворі ІХС були розділені на 2 групи: 1-а група (n=70) - хворі з супутнім ЦД 2-го типу, 2-а група (n=61) - хворі на ІХС без супутнього ЦД 2-го типу.

При оцінці гемодинамічної значущості ураження коронарного русла орієнтувалися на анатомічну класифікацію уражень коронарних артерій (КА), згідно з якою стенози КА менше 70 % прийнято вважати гемодинамічно незначущими, стенози більше 70 % прийнято вважати гемодинамічно значущими. Анатомічна класифікація уражень КА прийнята в дослідженні за єдино можливу і здійсненну в умовах реальної клінічної практики для оцінки вираженості ураження коронарних артерій.

Всі пацієнти 1-ї і 2-ї групи були розділені на дві підгрупи в залежності від наявності гемодинамічно виражених стенозів КА (стенозуючий атеросклероз коронарних артерій більше 70 %). Пацієнти першої групи розділені на - 1а підгрупу (стенози коронарних артерій менше 70 %), і на 1б підгрупу (стенози КА більше 70 %), пацієнти 2-ї групи розділені на - 2а підгрупу (стенози КА менше 70 %), і на 2б підгрупу (стенози КА більше 70 %). Також в залежності від наявності дифузного ураження коронарних судин пацієнти обох груп були розділені на підгрупи - 1в підгрупа - пацієнти 1-ї групи з дифузним ураженням КА, 1г підгрупа - пацієнти 1-ї групи без дифузного ураження КА; 2в підгрупа - пацієнти 2-ї групи з дифузним ураженням КА, 2г підгрупа - пацієнти 2-ї групи без дифузного ураження КА. Дифузний характер ураження коронарних артерій - багатосудинне ураження, багатосегментне ураження артерій.

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою пакета програм Statistica ver. 10.0 for Windows і Exel 2010. Перевірка нормальності розподілу проводилася за допомогою критерію Вілкоксона, Колмогорова-Смирнова, Шапіро-Вілкса. У разі нормального розподілу використовувалися методи параметричної статистики, при ненормальному розподілі оцінювалися методи непараметричної статистики.

Задача прогнозування наявності атеросклеротичного ураження КА вирішувалася за допомогою проведення ROC-аналізу. ROC-аналіз застосовувався для оцінки специфічності і чутливості діагностичної моделі з розрахунком площі під ROC-кривою. Як інтегральний показник прогностичної цінності маркера в діагностиці розраховувалася площа під ROC-кривою (AUC-Area Under Curve). Модель вважалася адекватною при площі під кривою більше 0,5 при значенні  $p < 0,05$ . Значення AUC 0,5-0,6 оцінювалися як низька прогностична значимість методу діагностики, 0,6-0,7 - середня прогностична значимість методу діагностики, 0,7-0,8 - хороша прогностична значимість методу діагностики, більше 0,8 - як висока прогностична значимість методу діагностики. Оцінку достовірності відмінностей між групами при нормальному розподілі

виробляли за допомогою t-критерію Стьюдента, в разі ненормального розподілу за допомогою U-критерію Манна - Уїтні. Статистично достовірним вважали відмінності при  $p < 0,05$ . Порівняння частот наявності чоловіків і жінок в досліджуваних групах здійснювали за допомогою біномного критерію. Виявлено однорідність груп за статтю.

У пацієнтів з ІХС в порівнянні з групою контролю були достовірно підвищені рівні фракталіну ( $p < 0,05$ ). Крім того, у пацієнтів 1-ї групи в порівнянні з 2-ою групою були достовірно підвищені рівні фракталіну ( $611,84 \pm 123,94$  пг/мл vs  $495,36 \pm 95,56$  пг/мл;  $p_{12} = 0,00001$ ). Рівень фракталіну у групи порівняння ЦД 2-го типу з інтактними коронарні судини був вище невірогідно, ніж в групі контролю  $412,28 \pm 59,86$  пг/мл. У пацієнтів 1-ої і 2-ої груп рівень фракталіну був вірогідно вище, ніж у групи порівняння.

При оцінці показників фракталіну у пацієнтів 1-ї групи виявлено його достовірне підвищення в осіб 16 підгрупи з гемодинамічно значущими стенозами коронарних артерій ( $630,22 \pm 135,46$  пг/мл vs  $562,53 \pm 66,24$  пг/мл;  $P_{1a16} = 0,0413$ ). У осіб 26 підгрупи також було відзначено статистично значуще підвищення рівня фракталіну при більшій вираженості атеросклеротичного процесу ( $514,66 \pm 80,88$  пг/мл vs  $430,57 \pm 114,58$  пг/мл;  $p_{2a26} = 0,0026$ ) (табл. 1).

Таблиця 1

Оцінка рівнів фракталіну у хворих на ІХС в залежності від наявності ЦД 2-го типу у осіб з гемодинамічно значущими і незначущими стенозами коронарних артерій

Групи	1 (n=70)	1a (n=19)	1б (n=51)	2 (n=61)	2a (n=15)	2б (n=46)
Показник						
Рівень фракталіну, пг/мл	$611,84 \pm 123,94^*$	$562,53 \pm 66,24^\#$	$630,22 \pm 135,46$	$495,36 \pm 95,56$	$430,57 \pm 114,5^\#\#$	$514,66 \pm 80,88$

Примітка: Різниця в порівнянні з величиною показника у пацієнтів 2-ї групи статистично значимо: \*  $p = 0,00001$ . Різниця в порівнянні з величиною показника у пацієнтів 1б підгрупи статистично значимо: #  $p = 0,0413$ . Різниця в порівнянні з величиною показника у пацієнтів 2б підгрупи статистично значимо: ##  $p = 0,0026$ .

Також було проаналізовано рівні фракталіну у пацієнтів з ІХС в залежності від наявності дифузного ураження КА. Рівень фракталіну у осіб з наявністю дифузного ураження коронарних артерій в підгрупах обох груп був достовірно вище, ніж у осіб без дифузного ураження коронарних судин - у пацієнтів 1в - підгрупи достовірно вище, ніж в осіб 1г - підгрупи ( $657,57 \pm 131,53$  пг/мл vs  $543,25 \pm 69,65$  пг/мл;  $p_{1в1г} = 0,0001$ ), у пацієнтів 2в - підгрупи достовірно вище, ніж у пацієнтів 2г - підгрупи ( $558,50 \pm 44,12$  пг/мл vs  $485,83 \pm 97,81$  пг / мл;  $p_{2в2г} = 0,044$ ) (табл. 2).

Таблиця 2

Оцінка рівнів фракталіну у ІХС в залежності від наявності дифузного ураження коронарних артерій

Групи	1 (n=70)	Дифузний характер ураження		2 (n=61)	Дифузний характер ураження	
		Так - 1в (n=42)	Ні - 1г (n=28)		Так - 2в (n=8)	Ні - 2г (n=53)
Показник						
Рівень фракталіну, пг/мл	$611,84 \pm 123,94^*$	$657,57 \pm 131,53^\#$	$543,25 \pm 69,65$	$495,36 \pm 95,56$	$558,50 \pm 44,12^\#\#$	$485,83 \pm 97,81$

Примітка: Різниця в порівнянні з величиною показника у пацієнтів 2-ї групи статистично значимо: \*  $p = 0,00001$ . Різниця в порівнянні з величиною показника у пацієнтів 1г підгрупи статистично значимо: #  $p = 0,0001$ . Різниця в порівнянні з величиною показника у пацієнтів 2г підгрупи статистично значимо: ##  $p = 0,044$ .

Крім того, при проведенні оцінки чутливості і специфічності рівня фракталкіну в прогнозуванні атеросклеротичного ураження судин за допомогою ROC-аналізу було продемонстровано, що інформативність щодо коронарного атеросклерозу встановлена для значення фракталкіну більш 466 пг/мл, чутливість і специфічність методу високі і становлять 85,5 % і 95,5 % відповідно, площа під ROC кривою (AUC) -  $0,909 \pm 0,0237$  (95 % довірчий інтервал: 0,852 до 0,950;  $p < 0,0001$ ).

Також оцінювалося діагностичне значення визначення рівня фракталкіну щодо прогнозування вираженості ураження коронарних артерій - наявності гемодинамічно значущих стенозів і дифузного ураження коронарних артерій.

У дослідженні інформативність щодо наявності гемодинамічно значущих стенозів коронарних артерій встановлена для значення фракталкіну понад 468 пг/мл, чутливість і специфічність методу складають 88,8 % і 56,6 % відповідно, площа під ROC кривою (AUC) -  $0,742 \pm 0,0431$  (95 % довірчий інтервал: 0,665-0,810;  $p < 0,0001$ ).

Прогностична цінність визначення рівня фракталкіну у хворих на ішемічну хворобу серця для прогнозування наявності дифузного ураження коронарних артерій вище: інформативність щодо наявності дифузного ураження коронарних артерій у хворих на ішемічну хворобу серця встановлена для значення фракталкіну більш 596 пг/мл, чутливість і специфічність методу складають 56 % і 96,3 % відповідно, площа під ROC кривою (AUC) -  $0,802 \pm 0,0396$  (95 % довірчий інтервал: 0,724-0,867;  $p < 0,0001$ ).

За даними проведеного дослідження визначення рівня фракталкіну має високу прогностичну значимість щодо діагностики коронарного атеросклерозу (площа під ROC кривою (AUC) -  $0,909 \pm 0,0237$  (95 % довірчий інтервал: 0,852 до 0,950;  $p < 0,0001$ )). Прогностична значущість визначення рівня фракталкіну щодо діагностики гемодинамічно значущих стенозів хороша (площа під ROC кривою (AUC) -  $0,742 \pm 0,0431$  (95 % довірчий інтервал: 0,665-0,810;  $p < 0,0001$ )). Прогностична значущість визначення рівня фракталкіну щодо діагностики дифузного ураження коронарних артерій висока (площа під ROC кривою (AUC) -  $0,802 \pm 0,0396$  (95 % довірчий інтервал: 0,724-0,867;  $p < 0,0001$ )).

Таким чином, отримані дані свідчать про підвищення маркеру ендотеліальної дисфункції - фракталкіну, який бере участь в хемотаксисі лейкоцитів, розвитку і прогресуванні атеросклеротичного процесу, у пацієнтів з ІХС, особливо при супутньому цукровому діабеті 2-го типу, і його прогностичну діагностичну цінність в діагностиці вираженості атеросклеротичного процесу коронарних артерій.

Використання і впровадження даного методу є економічно обґрунтованим раціональним в умовах реальної клінічної практики.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики атеросклеротичного ураження коронарних судин у хворих на цукровий діабет 2-го типу, який включає визначення рівня фракталкіну в сироватці крові, який **відрізняється** тим, що при реєстрації підвищення рівня фракталкіну у порівнянні до контрольних значень коронарний атеросклероз діагностують при його рівні  $>466$  пг/мл, гемодинамічно значущий стеноз діагностують при рівні фракталкіну  $>468$  пг/мл, дифузне ураження коронарної судини діагностують при рівні фракталкіну  $>596$  пг/мл.

---

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

---

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

---

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