

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки 06.04.01 Биология

Магистерская программа Биохимия и молекулярная биология

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

на тему:

**«СИСТЕМА БИОХИМИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ТЯЖЕСТИ
СОСТОЯНИЯ БОЛЬНЫХ С ИНФАРКТМ МИОКАРДА: РАННИЕ
И ПОЗДНИЕ КАРДИОМАРКЕРЫ»**

Студент  Бражникова Мария Алексеевна

Научный руководитель  Безручко Н.В.

Нормоконтролер  Кручинина А.Д.

Рецензент  Боряев Г.И.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 03.06.17 № 13)

Заведующий кафедрой  Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой отлично протокол заседания ГЭК от 22.06.17 № 4)

Секретарь ГЭК  Кручинина А.Д.

Пенза, 2017

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	8
1.1 Биохимическая оценка ишемической болезни сердца: критерии и методы.....	8
1.2 Ранние маркеры некроза миокарда.....	14
1.3 Поздние маркеры некроза миокарда.....	17
1.4 Кардиологические экспресс тесты.....	29
1.5 Контроль качества кардиомаркеров в биохимической оценке состояния здоровья человека.....	31
ГЛАВА 2 ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	34
2.1 Материалы исследования.....	34
2.2 Методы исследования.....	35
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	40
ВЫВОДЫ.....	57
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	59

Список сокращений

CRP – С-реактивный белок

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

АЧТВ - активированное частичное тромбопластиновое время

ГГТ – гаммаглутамилтрансфераза

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМ – инфаркт миокарда

ИФА – иммуноферментный анализ

МВ-КК – сердечная форма креатинфосфокиназы

МНО - международное нормализованное соотношение

НУП – натрийуретический пептид

ОИМ – острый инфаркт миокарда

ОКС – острый коронарный синдром

ПТИ - протромбиновый индекс

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии

ТЭО – тромбоэмболические осложнения

ФСВОК – федеральная система внешней оценки качества клинических лабораторных исследований

ХСЛВП - холестеринсодержащие липопротеины высокой плотности

ХСЛНП – холестеринсодержащие липопротеины низкой плотности

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ЦНС – центральная нервная система

ЭКГ – электрокардиограмма

ВВЕДЕНИЕ

Появление ишемической болезни сердца (ИБС) в молодом возрасте всегда прельщало внимание и вызывало острый интерес клиницистов. Так за последние десятилетия данное заболевание сердечнососудистой системы является ведущей причиной смертности и инвалидности во всем мире людей рабочего возраста (до 40 лет). Если дебютом ИБС является острый коронарный синдром (ОКС) с подъемом сегмента ST (ST сегмент - отрезок кривой ЭКГ), это показывает, что степень патологических нарушений уже в достаточной мере выражена. Однако в возрасте от 25 до 45 не всегда наблюдается многофакторность воздействия, которая наблюдается у лиц старшего возраста и формирует цепочку образования атеросклеротической бляшки. Поэтому возникновение Q-инфаркта миокарда (ИМ) в молодом возрасте еще раз заставляет задуматься над вопросом, насколько изучен патогенез ИМ [36, 69].

Биохимические критерии оценки состояния больных ИБС является одной из наиболее важных обсуждаемых тем в настоящее время, так как данный вид исследований позволит лучше изучить инфаркт миокарда, стенокардию и ишемическую болезнь сердца в целом с биохимической точки зрения. Ранняя диагностика и лечение таких патологий, имеет очень весомое клиническое значение в связи с достаточно большой распространенностью этой патологии и омоложением группы пациентов.

Ранняя диагностика и лечение патологий ИБС имеет большую клиническую важность из-за «омоложения» болезни. Если раньше от ИМ по статистике страдало население в возрасте от 50 до 70 лет, то сейчас от 25 до 45 лет. В связи с этим требуется улучшение диагностики ИМ на ранних стадиях развития. Ишемическая болезнь сердца, играет важную роль в области кардиологических исследований. Самое опасное ее проявление, на данный момент считается предынфарктное и инфарктное состояние, приводящие к главным причинам временной и постоянной

нетрудоспособности, инвалидизации и летальности исхода у лиц не достигших пенсионного возраста, в Европе и в развитых странах мира в целом [47].

От сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации в среднем в год умирает более 1 миллиона человек (на 100 000 населения 818,2 смертей), из которых 50% случаев составляет ИБС, данный показатель в РФ намного выше, чем в развитых странах Европы и США, а по сравнению с Японией показатель больше в 2–2,5 раза. Такое стремление течения заболевания возлагает на современную медицину задачу разработки современных методов ранней диагностики, повышение точности и скорости постановки диагноза на раннем этапе заболевания, оценки степени риска, для быстрого начала принятия всех необходимых лечебных мероприятий, что, несомненно, благотворно влияет на прогноз течения заболевания [25, 47, 65].

Термин ишемическая болезнь сердца включает в себя целую группу заболеваний, таких как коронарный кардиосклероз, стенокардия и инфаркт миокарда. В основе ишемической болезни сердца лежит несоответствие потребности сердца в кислороде с возможностью его доставки.

Ишемическая болезнь сердца — заболевание сердечной мышцы (миокарда), связанное с недостатком снабжения ее кислородом из-за нарушения кровоснабжения. Несоответствие в кровоснабжении сердца возникает в результате нарушения в работе артериальных сосудов, питающих сердце, вследствие поражения коронарных артерий (атеросклероз, закупорка кровяным сгустком).

Стенокардия — это раннее проявление ишемической болезни сердца, которое связано с ухудшением коронарного кровообращения, чаще всего вследствие атеросклероза артерий сердца. В начальной стадии хронической коронарной недостаточности, когда атеросклеротические изменения в артериях еще незначительны, приступы стенокардии редки и вызываются наличием только больших физических и психоэмоциональных

нагрузок, при этом возможно увеличение частоты приступов, а так же их продолжительности. При тяжелой форме заболевания стенокардии возможно возникновение приступов даже в состоянии покоя. Вследствие стенокардии не исключен факт, возможного развития инфаркт миокарда.

Инфаркт миокарда (ИМ) – основная нозологическая форма, входящая в группу ишемической болезни сердца (ИБС). ИМ – это ишемический некроз участка мышцы сердца, возникающий вследствие нарушения баланса между потребностью миокарда в кислороде и доставкой его по коронарным сосудам. В области ишемии клетки миокарда проходят две фазы структурных изменений: фазу обратимых и фазу необратимых изменений [39].

На сегодняшний день клинический метод является одним из самых главных в распознавании ишемической болезни сердца. Так как ЭКГ не всегда сразу демонстрирует присутствие или отсутствие угрозы патологии. Данные лабораторных тестов более информативны и несут дополнительный вклад в повышение эффективности диагностики этого заболевания. В то же время при решении вопроса о диагностической значимости изменения клинико-биохимического показателя необходимо учитывать возможность наличия у пациента заболеваний паренхимы печени, эндокардита, миокардита, влияние фармакологических препаратов на результаты исследования [61]. С каждым годом клинико-биохимические методы улучшаются, и разрабатываются новые тесты, которые могут помочь в диагностики заболевания.

Цель работы:

Проанализировать и обосновать биохимические критерии оценки состояния больных ишемической болезни сердца в динамике наблюдений.

Задачи:

1. Изучить показатели тропонина I, натрийуретического пептида и количественного Д-димера: проанализировать уровень тропонина I, натрийуретического пептида и Д-димера у больных с диагнозом инфаркт

миокарда (ИМ), стенокардия и повторный инфаркт миокарда (ПИМ).

2. Изучить показатели качественного и количественного тропонина I, Д-димера и миоглобина, проанализировать уровень тропонина I, Д-димера и миоглобина и сопоставить результаты у больных с диагнозом инфаркт миокарда (ИМ) стенокардия и повторный инфаркт миокарда (ПИМ).

3. Сопоставить динамику биохимических тестов со стандартными лабораторными тестами.

Проведенные исследования позволяют давать практические рекомендации биохимикам и врачам-лаборантам по применению маркерных параметров при ИБС.

Магистерская диссертация выполнена на 66 страницах, содержит 5 таблиц и 7 рисунков, список литературы включает 74 источника на русском и иностранных языках.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Биохимическая оценка ишемической болезни сердца: критерии и методы

В оценке ишемической болезни сердца на данный момент признана актуальность исследования его биохимических составляющих, так как развитие инфаркта миокарда сопровождается метаболическими нарушениями различной степени тяжести. Общепризнанным подходом к анализу биохимических проявлений ишемической болезни сердца является регистрация степени нарушений обменных процессов в организме. Биохимические лабораторные тесты не могут быть строго специфичными, но по результатам анализа можно сделать заключение о тяжести и протекании заболевания [66].

Ишемическая болезнь сердца характеризуется как недостаточное поступление крови к сердечной мышце. Кровь, которая приносит кислород и питательные вещества, не проходит в необходимом количестве через венечные сосуды и коронарные сердца из-за их сужения или закупорки. В зависимости от того, насколько выражено «голодание» сердца и на сколько долго оно происходит, как быстро возникло, выделяют несколько форм ишемической болезни сердца.

Стенокардия – форма ИБС, характеризующаяся болями в области сердца, похожими на приступ, вследствие возникновения острой недостаточности кровоснабжения миокарда. Существует несколько видов заболевания стенокардия. Возникающая при физических нагрузках стенокардия напряжения, и возникающая при эмоциональном напряжении стенокардия покоя, появляющаяся при отсутствии физического усилия, чаще всего, это происходит по ночам. Так же может вызывать развитие сердечной недостаточности и инфаркта миокарда.

Как проявление ишемической болезни стенокардия встречается почти у 50% пациентов, являясь самой частой формой ИБС. Стенокардия, в связи своей особой симптоматики, также известна среди обывателей, как «грудная жаба» или коронарная болезнь сердца.

Процесс появления и развития стенокардии проявляется острой недостаточностью коронарного кровотока, по причине которой, развивается отсутствие равновесия между потребностью кардиомиоцитов в поступлении кислорода и удовлетворением этой потребности. Нарушение перфузии сердечной мышцы приводит к ее ишемии. Вследствие появления ишемии нарушаются окислительные процессы в миокарде, из-за чего происходит чрезмерное накопление недоокисленных метаболитов (молочной, угольной, пировиноградной, фосфорной и других кислот), нарушается ионное равновесие, уменьшается синтез АТФ. В результате все эти процессы вызывают сначала диастолическую, а затем и систолическую дисфункцию миокарда, и в конечном итоге, происходит развитие болевой реакции. Последовательность происходящих в миокарде преобразований имеет название «ишемического каскада», где главным образом в основе лежит нарушение перфузии и изменение метаболизма в сердечной мышце, а конечным этапом является развитие стенокардии [59].

Кислородное голодание ощущается миокардом в острой форме во время эмоционального или физического напряжения: из-за чего приступы стенокардии чаще всего происходит при усиленной работе сердца, например во время физической активности, или стресса. Разница между инфарктом миокарда и стенокардией в том, что при ИМ в сердечной мышце развиваются изменения, которые нельзя обратить, а вот при стенокардии расстройство коронарного кровообращения носит всего лишь преходящий характер. Однако, если кислородное голодание миокарда выше порога его выживаемости, то стенокардия может перейти в инфаркт миокарда. При обнаружении стенокардии учитывают жалобы пациента, характер,

локализацию, иррадиацию, продолжительность болей, и изменения лабораторных, во время всего периода лечения.

Лабораторные методы исследования и диагностики включает наличие исследование в крови общего холестерина, АСТ и АЛТ, липопротеидов высокой и низкой плотности, триглицеридов, лактатдегидрогеназы, креатинкиназы, глюкозы, коагулограммы и электролитов крови. Особую диагностическую значимость имеет определение кардиальных тропонинов I и T, NTproBNP - маркеров, свидетельствующих о повреждении миокарда. Выявление этих миокардиальных белков и пептидов говорит об случившемся микроинфаркте или инфаркте миокарда и позволяет предупредить развитие постинфарктной стенокардии.

Инфаркт миокарда (ИМ) – основная нозологическая форма, входящая в группу ишемической болезни сердца (ИБС). ИМ – это ишемический некроз участка мышцы сердца, возникающий в результате отсутствия равновесия между потребностью миокарда в кислороде и доставкой этого кислорода по коронарным сосудам. В зоне ишемии у клетки миокарда есть две фазы структурных изменений, которые нужно пройти. Это фаза обратимых и фаза необратимых изменений [39].

Обратимую фазу развития некроза можно предупредить восстановлением кровотока, а в необратимую происходит гибель клеток и это может начаться даже после восстановления кровотока. ИМ очень опасная патология сердца, которая может привести к летальному исходу, и даже если удастся спасти человека, то клетки сердечной мышцы не восстановимы и в дальнейшем может произойти ПИМ. Поэтому с помощью кардиомаркеров и других тестов можно проследить динамику ИМ и остановить течение болезни на раннем этапе [45].

Клинический метод является ведущим, но распознавание ИБС, особенно в ранние сроки, в случаях его не свойственного течения, повторный ИМ бывает затруднительным. ЭКГ также не всегда бывает

абсолютно точным показателем. Данные лабораторных исследований превозносят неоценимый вклад в повышение эффективности распознавания этого заболевания. В то же время при решении вопроса о диагностической значимости изменений клинико-биохимического показателя, необходимо учитывать, что существует возможность наличия у пациента заболеваний паренхимы печени, эндокардита, миокардита, так же огромное влияние оказывает прием фармакологических препаратов на результаты исследования [61].

Лабораторные исследования, подтверждающие ишемическую болезнь сердца, обоснованы на проявлении неспецифических показателей тканевого некроза и воспалительной реакции миокарда, в показателях миоглобина и тропонинов.

Неспецифическая реакция организма на появление острого инфаркта миокарда связана с распадом мышечных волокон, всасыванием продуктов расщепления белков в кровь, местным асептическим воспалением сердечной мышцы. Основными клинико-лабораторными признаками, отражающими эти процессы, являются: повышение температуры тела; проявлением не характерной реактивности организма в ответ на повреждение миокарда является лейкоцитоз, который появляется в течение нескольких часов, после появления болей и может сохраняться в течение нескольких суток; сдвиг лейкоцитарной формулы крови влево, за счёт палочкоядерных нейтрофилов, анэозинофилия; при ишемической болезни сердца уровень фермента аспартатаминотрансфераза является показателем обширности повреждения сердечной мышцы; при инфаркте миокарда и стенокардии уровень железа иногда может повышаться, так как железо в сыворотке крови входит в состав цитохромов и участвует в клеточном дыхании; при повторном инфаркте миокарда может изменяться уровень Na, K, Mg, Ca, Cl. Но это происходит не всегда, так как при легкой форме заболевания содержание в крови электролитов может быть не изменено; триглицериды образуются в кишечнике из жиров пищи, хранятся в

жировой ткани и расходуются клетками по мере необходимости для получения энергии. Повышенный уровень триглицеридов может свидетельствовать о высоком риске атеросклероза; миоциты сердечной мышцы генерируют электрические импульсы задающие сердечный ритм, поэтому их определение в общем анализе имеет хоть и не главное, но и не последнее значение; СОЭ увеличивается обычно спустя несколько дней от начала заболевания и может оставаться повышенной на протяжении нескольких недель. Возвращение в норму показателей периферической крови происходит в разное время, это зависит главным образом от объема и степени ишемического поражения, а также от реактивности и состояния компенсаторных резервов организма пациента. Однако количество лейкоцитов снижается быстрее, в то время как СОЭ нормализуется гораздо медленнее, на это уходит почти месяц; эозинофилы составляют 0,5-5% от всех лейкоцитов крови, находятся в циркуляции около получаса, после чего поступают в ткани, где находятся примерно от 10 до 12 суток. Варьирование содержания эозинофилов в периферической крови может служить результатом равновесием между продукцией клеток в костном мозге, их миграции в ткани и разрушение. Повышение числа эозинофилов в крови может свидетельствовать о наличии инфаркта миокарда или дыхательной болезни. Длительное сохранение лейкоцитоза или/и умеренной лихорадки у больных ишемической болезнью сердца свидетельствует о возможном развитии разного вида осложнений, таких как пневмония, плеврит, перикардит, тромбоэмболия лёгочной артерии [39, 60].

Окислительные изменения липидных и аполипопротеиновых компонентов липопротеинов низкой плотности (ЛНП) является одним из главных показателей, отражающих степень риска развития заболевания сердца и коронарных сосудов. Высокий уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в ЛНП и их сниженная устойчивость к окислению часто обнаруживается у лиц с диагнозом ИБС [5, 8, 54].

Повышенный уровень фибриногена является диагностически и прогностически важным маркером, его показатели увеличиваются не только в остром периоде болезни сердца, но и перед началом закупорки сосудов, сигнализируя о возможном появлении тромбоза, как последствия [19, 11].

При ИМ и стенокардии, наряду с повышенными окислительными изменениями липидов, ЛНП и протеинов плазмы, проявляются значительные окислительные изменения фибриногена, не зависящие от его концентрации. Окисленный фибриноген взаимодействует потенциально с протромбогенными изменениями сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза, в частности, способствует ускорению лейкоцитарно-тромбоцитарной агрегации [43].

Основной причиной повышения активности содержания ферментов в сыворотке крови у больных ИБС являются разрушение кардиомицитов и выход освободившихся клеточных ферментов в кровь.

При поступлении больного в стационар больницы в ранние сроки после начала появления клинических признаков ИБС желательно сделать упор на определении активности нескольких ферментов. Идеальный биохимический маркер бесспорно должен обладать наивысшей специфичностью и чувствительностью в отношении некроза миокарда, через некоторое время после начала проявления симптомов ИБС, в частности ИМ достигает в крови диагностически значимого уровня, этот уровень должен сохраняться в течение многих дней. На сегодняшний день маркера, полностью отвечающего всем возложенным на них требованиям, к сожалению, не отвечают, но их становится больше и разнообразнее, к сожалению, все они не совершенны, поэтому для диагностики ИБС рекомендуется параллельно использовать два вида маркеров - "ранние" и "поздние". Содержание "раннего" маркера мгновенно может различить ИМ от других заболеваний, входящих в эту нозологическую группу, а "поздний" - достигает диагностического значимого уровня только через 6-9

ч, но обладает высокой специфичностью в отношении некроза миокарда и предоставляет картину обширности развития ИБС [1, 57, 60].

Все маркеры открыты сравнительно недавно 50-70 лет назад и уже широко применяются, в настоящий момент во всех клиничко-биохимических лабораториях. Главная задача кардио маркеров является определение и выявление кардио патологий. Считается что действия маркеров уже достаточно изучено, но при взаимодействии нескольких кардио тестов выявляются новые показания, которые требуют дальнейшего изучения. На данный момент количественные кардио тесты образно разделяют на ранние и поздние. Так же широко используются экспресс – тесты [35].

1.2 Ранние маркеры некроза миокарда

Миоглобин.

Миоглобин — дыхательный пигмент, открытый в 1957 году, который широко представлен в мышечной ткани человека. Его молекулярная масса составляет 18 кДа. Содержание миоглобина повышается в сыворотке крови в ранний период, обычно при ИМ. Данный маркер в неизменном виде выводится мочой и к окончанию первых суток с момента начала симптомов полностью исчезает из кровотока. В связи с этим, не всегда, получается, проследить повышение данного маркера, ввиду того, что не все пациенты обращаются сразу после появления первых симптомов. Существуют множество методик, позволяющих определить концентрационное значение миоглобина в крови менее чем через 10 мин. Наибольшее содержание миоглобина сконцентрировано в скелетной мускулатуре, зависимость его концентрации от функции почек делают его неспецифичным в отношении некроза миокарда и ограничивают его применение для диагностики ИМ, ПИМ и нестабильной стенокардии. Хорошо известно, что некроз миокарда создает предпосылки для увеличения поступления в кровь не только ферментов, но и другого

содержимого миоцитов, в частности миоглобина. На этом основан диагностический тест – определение содержания миоглобина в крови, который в нормальных условиях не превышает 85 нг/мл, но при ИМ, ПИМ и стенокардии, его показатели патологически выходят за норму [31, 40, 64].

Небольшая молекулярная масса дает возможность миоглобину с легкостью проходить через мембрану почек, из-за чего происходит быстрое снижение его концентрации в плазме крови. Если не проводить анализ повторно, то можно пропустить пик его концентрации. Несмотря на то, что результаты уровня содержания миоглобина могут показать значение в пределах нормы, это не дает гарантии, что у пациента нет инфаркта миокарда. В этом диагностическая ценность определения миоглобина значительно уступает измерению активности КК, а тем более МВ-КК. Выбрать измерение концентрации миоглобина, как ведущим методом можно только в том случае, если пациент поступил с симптомами ИБС меньше чем через 6–8 часов после начала их проявления. Из этого можно сделать вывод о нецелесообразности измерения концентрации миоглобина в моче, так как неоднократно было доказано, что при высокой скапливаемости в почках, концентрация в моче может быть высокой и у абсолютно здоровых людей. Но чаще всего, высокий показатель в моче проявляется при нестабильной стенокардии[39].

МВ-КФК.

МВ-КФК (сердечная форма креатинфосфокиназы — КФК), креатинин.

В 1964 г. был открыт изофермент креатинфосфокиназы ММ-КФК и его и гибридная форма - МВ-КФК. Креатинин является веществом жизнедеятельности организма, которое получается в результате креатинфосфатной реакции (мышечный метаболизм).

КФК — это фермент, который в больших объемах концентрируется в мышечной ткани человека. Определение в плазме крови общей КФК в настоящее время большинство экспертов признают нецелесообразным для

диагностики стенокардии и ИМ, это связано с тем, что данный фермент в основном сконцентрирован в скелетной мускулатуре и следовательно обладает низкой специфичностью в отношении некроза миокарда [40, 60].

Креатинкиназа (10–195 МЕ/л). КК содержится в скелетных мышцах, миокарде, головном мозге и щитовидной железе. Увеличение активности фермента в сыворотке крови может быть выявлено не только при формах ИБС, но и при целом ряде других клинических случаев, связанных с физической нагрузкой так же после хирургического вмешательства, у больных мышечной дистрофией, при инсультах, и др. При развитии инфаркта и стенокардии повышенная активность КК в крови отмечается обычно через 6-8 часов после приступа. К окончанию первых суток уровень фермента в 3-20 раза превышает норму, и только через 3–4 суток от начала заболевания возвращается к значениям в пределах нормы. Повышение активности КК в крови определяется практически у всех пациентов с ИМ, ПИМ и стенокардией [39].

В крупных клиниках принято определять активность КК при поступлении, а затем с интервалом в 8-12 часов, в случаях повторения болей определяют сразу и через 12-24 часа после острого сердечного приступа. Ввиду того, что повышенная активность КК отмечается при травмах скелетных мышц, включая судороги и длительного паралича мышц, не коронарогенных заболеваниях миокарда, хирургических операциях, при тромбоэмболии лёгочной артерии, дополнительным критерием для постановки диагноза ИБС с увеличенной активностью КК и АсАТ является величина отношения КК/АсАТ [61].

Степень повышения активности МВ-КК в плазме крови в целом отчетливо проводит параллель с размером инфаркта миокарда: чем больше объём поражения сердечной мышцы, тем выше активность МВ-КК [39, 41, 57].

1.3 Поздние маркеры некроза миокарда

Аспаратаминотрансфераза (АсАТ).

В 1972 году русскими учеными был открыт фермент Аспаратаминотрансфераза. Его значения в норме соответствуют 6–40 МЕ/л. АсАТ выполняет функцию фермента, ускоряющего биохимические реакции в клетках. При активном участии компонента витамина В₆, осуществляется обмен аминокислот. В обычных случаях появления ИБС активность АсАТ становится выше только при ИМ и ПИМ через 6-12 часов после появления сильных сжимающих болей и достигает максимума через 2-3 дня и возвращается к норме на 4-5 день заболевания. При стенокардии, чаще всего результат не выходит за пределы нормы, кроме случаев нестабильной/ или переходящей стенокардии. Высокое значение АсАт, показывает критичность состояния больного. Так же по повышению данного маркера можно определить увеличение некротического очага. Несмотря на это, анализ нельзя назвать строго специфичным, так как при стенокардии чаще всего, результаты данного анализа бесполезны [24,42,49].

Коагулограмма.

Коагулограмма, это совокупность показателей крови указывают на процесс ее свертываемости. Так как свертываемость отвечает за защитную функцию и обеспечивает сохранение гомеостаза, в норме анализ еще иногда называют коагуляционный гемостаз. Превышение нормы свертываемости крови может привести к тромбообразованию и ведет к патологии в виде тромбозов и тромбоэмболии. Все показатели составляющие коагулограмму относят к ориентировочным. В основном в клиническо – биохимических лабораториях измеряют: протромбированный индекс (ПТИ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), фибриноген плазмы, международное нормализованное соотношение и растворимый фибрин мономерный комплекс (РФМК).

Суть метода исследования ПТИ, заключается в том, что это время образования сгустка крови после добавления реактива тканевого фактора. Данный показатель позволяет оценить общий и внешний путь свертываемости крови. В норме ПТИ – 11-16 секунд. ПТИ в предынфарктный период повышается в крови, но момент ИМ временно понижается, но потом снова превышает норму.

Определение АЧТВ это преобразование реакции рекальцификации плазмы крови при добавлении фосфолипидов. АЧТВ позволяет определить недостаточность свертываемости и считается одним из самых чувствительных показателей коагулограммы. Значение в норме соответствует 38-55 секундам.

Определение фибриногена плазмы крови основан на его особенности превращаться в фибрин при добавлении специальных веществ. Нормальным значением фибриногена является 5,9-11,7 мкмоль/л. Но чаще всего у здоровых людей тест на фибриноген показывает отрицательный результат. Содержание фибриногена повышается гораздо достовернее чем СОЭ и достигает наивысшей точки значения на 5-15 день после первого приступа. Время свертываемости крови укорачивается, так же происходит снижение гепарина в крови.

Показатель МНО был введен в лабораторную практику с целью стандартизировать результаты ПТИ. Важность МНО заключается в том, что этот лабораторный тест отражает отношение показателей протромбированного времени (ПТВ) пациента к показателям протромбированного времени здорового человека. Нормальное значение МНО составляет 2,0-3,0. Если МНО выше показателя нормы, то растет риск кровоизлияния в мозг. При ИМ международное нормализованное значение дает клиницистам возможность контролировать течение заболевания, предотвратить возможную опасность образования тромбов. Высокие показатели коагулограммы в целом считается одним из самых

тяжелых осложнений при инфаркте миокарда, которое повышает риск летальности исхода.

Растворимый фибрин – мономерный комплекс представляет высокомолекулярный комплекс фибрина с фибриногенами и продуктами его распада, возникает при активации системы свертываемости крови в ответ на нарушение целостности сосудов. В норме РФМК составляет 3,36-4,0 мг/мл. Повышенное количество РФМК говорит о патологии в системе гемостаза, так же РФМК является маркером тромбинемии при внутрисосудистой свертываемости крови.

К коагулограмме крови относят и Д-димер, но в последние годы он стал отдельным маркером для слежения течения ИБС. Это связано с тем, что Д-димер необходимо контролировать в процессе лечения антикоагулянтами.

Анализ на коагулограмму необходим при ИБС, так как без его результатов не всегда есть возможность назначить правильную дозу некоторых препаратов пациенту с данным заболеванием. Так же коагулограмма определяет повышение вязкости крови, тем самым сигнализирует о возможном риске развития осложнений при ИБС и переходе данного заболевания в инсульт [2, 41].

Тропонины (С, I и T).

Тропонины открыты совершенно недавно, всего 50-60 лет назад. В 1965 году было доказано, что это новый белок, открывший большие возможности в области молекулярной биологии, в частности в регуляции мышечных сокращений. Тропонины являются универсальной для поперечно-полосатой мускулатуры структурой белковой природы, сконцентрированной на тонких миофиламентах сократительного аппарата миокардиоцита. Тропонины в миоцитах находятся в двух совокупностях: в структурной, когда они находятся в миофибриллах, и цитозольной – в свободном от миофибрилл состоянии и в комплексе с другими тропонинами. Именно из цитозольной совокупности и выходит в

кровоток при раннем развитии повреждений миокарда. Кардио тесты показывают именно этот ранний выход цитозольных тропонинов в кровоток и отображают динамику этого процесса. Относительно длительный выход тропонинов из разрушенных миофибрилл, связан с наиболее серьезными повреждениями миокарда. «Постулировано, что выход тропонинов из структурного пула – это то же самое, что клеточная смерть, а выход тропонинов из цитозольного пула может быть связан как с обратимыми, так и с необратимыми повреждениями» [56, 57, 58]. Многочисленные исследования показывают, что при ИБС cTnI циркулирует, как свободный cTnI, так и как бинарный комплекс cTnI-cTnC и так же может как тройной комплекс cTnI-cTnC-cTnT. Более того, в крови присутствуют продукты: N-терминальной деградации cTnI, а также фосфорилированные и окисленные производные как свободного cTnI, так и его двойных и тройных комплексов. При этом у разных пациентов индивидуальное соотношение концентраций всех форм cTnI и его комплексов. И при дальнейшем развитии ИБС, соотношение концентраций этих форм может изменяться. Пациенты с нестабильной стенокардией и высоким показателем тропонинов рискуют, даже больше чем при ИМ получить летальный исход заболевания [14, 23, 27].

Высококочувствительное определение тропонинов базируется на моноклональных антителах, узнающих различные эпитопы cTn. Таких эпитопов может быть большое количество. Более того у разных пациентов они могут быть разными, а у одного и того же пациента соотношение данных эпитопов может изменяться в течение развития ОКС и, существует такая возможность, что могут быть различным при повторных ОКС. Несмотря на это, есть такие еще антигены взаимодействующие с паратопами, чья антигенная эффективность зависит от гепарина, и от наличия гетерофильных антител, и от связывания аутоантител. Такая антигенно зависимая изменчивость и динамичность гетерогенной

популяции циркулирующих тропонинов может привести к тому, что различные производители тропониновых тестов, для улучшения их чувствительности, могут включить в тест большое количество различных антител [22,27,35]. В конечном итоге, тесты различных производителей обладают разными показателями чувствительности, разными значениями 99-ой процентиля и имеют разные значения диагностических уровней. Некоторые марки кардио тестов указывают, что нормализованные уровни тропонина у мужчин и женщины – разные, но не все тесты, данные нормы разделяют. Существует предположение, что «для людей страдающих сахарным диабетом и для лиц старше 70 лет, должны существовать отдельные пограничные уровни тропониновых тестов, и более того, разные для тестов различных производителей». При этом, «все имеющиеся данные показывают, что сравнение абсолютных концентраций тропонинов, полученных с помощью тестов различных производителей, невозможно». Так же приводятся данные о том, что даже в тех случаях, когда производитель применяет тесты с идентичными антителами, но на разных платформах - то результаты измерений могут существенно отличаться. Что приводит к трудности стандартизации кардио тестов [22,35].

Тропониновый комплекс состоит из трёх компонентов:

- тропонин С – ответственный за связывания кальция,
- тропонин Т – предназначен для связывания тропоиозина,
- тропонин I – предназначен для ингибирования этих процессов.

Тропоины, являющиеся компонентами контактильного аппарата кардиомиоцитов, входят в состав тропонин-тропоиозинового комплекса, связанного с актином и являются в наибольшей степени специфичными для миокарда [58].

Тропоины, по своему составу это белковые молекулы, формирующие комплекс состоящий из трех субъединиц, расположенный на актиновых филаментах в поперечнополосатой и сердечной мышечной

ткани. Тропониновый комплекс участвует в процессах сокращения и расслабления миокарда. Тропонин С - Ca^{2+} - это связанный протеин, который принимает участие в регуляции деятельности актиновых филаментов. Тропонин- I ингибирует процесс сокращения мышечных волокон при нарушении связи тропонина-С с ионами кальция. Тропонин-Т обеспечивает взаимодействие всего тропонинового комплекса с тропомиозином и филаментами актина [39].

Тропонин-Т и тропонин-І существуют в виде трех основных изоформ, две из которых сосредоточены в скелетных мышцах, одна — в кардиомиоцитах. Интересно что, кардиальная форма имеет сильное отличие от мышечных изоформ, что делает их более специфичными для сердечной мышцы [61].

Одним из наиболее чувствительных маркеров повреждения миокарда на данный момент является сердечный тропонин І, который не отражает повреждение скелетных мышц. Расчет содержания сердечного тропонина І позволяет с уверенностью определять наличие ИБС и предположить объем повреждения миокарда. Тропонин Т служит маркером с диагностической кардиальной специфичностью, близкой к 100 %. С его помощью возможно диагностировать крупно и мелкоочаговые инфаркты миокарда. Результаты определения тропонина Т считаются самыми чувствительными из доступных сегодня методов диагностики «малых повреждений миокарда», не выявляемых другими стандартными методами. Анализ крови на кардиомаркеры дает возможность проводить раннюю диагностику заболеваний сердечнососудистой системы. Исследования последнего десятилетия доказывают, что огромную диагностическую ценность имеет измерение содержания сердечных тропонинов. Сердечные тропонины — очень чувствительные кардио маркеры не только некроза, но и инфаркта и гибернации миокарда. Они обнаруживаются и тогда, когда некроз не подтвержден данными электронной микроскопии [7, 48, 67].

Сердечно-сосудистые осложнения твердо удерживают позиции наиболее распространенной причиной послеоперационной смертности. Послеоперационная тахикардия, гипотензия, гипертензия, анемия, гипоксемия, систолическая и диастолическая дисфункции миокарда — являются одними из самых распространенных причин длительной депрессии сегмента ST, что свидетельствует об инфаркте миокарда у пациентов с ИБС, подвергающихся не кардиальным оперативным вмешательствам. Степень повышения содержания тропонина определяет ближайший и отдаленный прогноз. Выраженный подъем уровня тропонина ведет к летальному исходу от 3,5 % до 25 % случаев, а незначительное повышение его содержания может привести к летальному исходу от 0 % до 7 % [53]. При тяжелых инфекционных заболеваниях может произойти повышение содержания тропонинов в крови, этот процесс сопровождается лихорадкой, тахикардией, системной гипоксемией, микроциркуляторной дисфункцией, гипотензией и иногда анемией. Потребление кислорода миокардом не соответствует его потребностям, что приводит к ишемии и повреждению кардиомиоцитов. Различные факторы локализации и степени воспаления, включая фактор некроза опухоли α , интерлейкин-6, бактериальные эндотоксины, способствуют непосредственному повреждению миокарда.

Повышение уровня тропонинов при среднем и тяжелом состоянии сопоставляется с тяжестью воспаления и обладает прогностической ценностью [56]. При ТЭЛА подъем уровня тропонинов отмечается в 32-50 % случаев. Существует вероятность, что выход тропонинов в кровь происходит из-за того, что происходит повреждение правого желудочка в результате резкого увеличения давления в легочной артерии и скоплении большого количества крови. Другими предполагаемыми причинами повышенного содержания тропонинов при ТЭЛА являются уменьшение коронарной перфузии и гипоксемии, и как следствие происходит нарушение процессов перфузии и вентиляции. Но концентрация

тропонинов при ТЭЛА гораздо ниже и сохраняется более короткое время, чем при ИМ. У пациентов с ТЭЛА и высоким уровнем содержания тропонинов в крови появляется риск неблагоприятного исхода примерно в 10 раз. Однако, выброс тропонинов в кровоток уменьшается при тромболизисе или эмболэктомии. Кратковременные подъемы содержания тропонинов при СН связаны с нарушением сократимости миокарда и зависят от тяжести СН и прогноза. Быстрый прогресс СН в результате некроза и апоптоза кардиомиоцитов, выброса медиаторов воспаления также ассоциируется с хроническим повреждением миокарда и с постепенной заменой погибших клеток фиброзной тканью. При декомпенсированной СН повышение уровня тропонинов происходит как следствие чрезмерного напряжения стенок миокарда, возникающего в результате перегрузки его объемом и сопротивлением. Все это приводит к нарушению питания внутренних слоев сердечной мышцы и объясняет возникновение тропонинов в крови [60].

Интересно, что некоторое увеличение содержания тропонинов определяется в 32 - 49 % случаев при острых перикардитах и в 34 % случаев при миокардитах. Отмечено, что у всех пациентов, подвергшихся трансплантации сердца, отмечено повышение содержания тропонинов в течение 3 месяцев.

Кратковременная ишемия без повреждения кардиомиоцитов не приводят уровень тропонина I к повышению, но если происходит развитие некроза, который сопровождается поступлением тропонина в крови, то повышение уровня концентрации кардиомаркера отмечается уже через несколько часов после начала приступа. Для постановки диагноза, достаточно однократного определения тропонина I. Для этого можно использовать экспресс тест. Дальнейшее диагностическое исследование концентрации тропонина в плазме крови может использоваться при оценке эффективности лечения и определяет прогноз развития заболевания. Определение концентрации данного маркера может быть использовано для

диагностики и выявления его рецидива, а так же служит оценкой степени риска и прогноза развития инфаркта миокарда больных с ОКС [68]. ФГБУЗ МСЧ 59 использует, как количественный так и качественный тропонин I, так как считается, что данный показатель информативен и наиболее специфичен при ИБС. Однако, количественный тест всегда проводится вместе с другими информативными тестами такими как NTproBNP.

Натрийуретические пептиды.

Натрийуретические пептиды (НУП) являются циркулирующими гормонами сердечного происхождения и играют важную роль в регулировании внутрисосудистого объема крови и сосудистого тонуса. Предсердный (atrial) НУП (ANP) впервые выделили из ткани предсердий крыс в 1991 году De Bold и его коллеги. Другие НУП, мозговой (brain) или В-тип (BNP) и С-тип (CNP), были обнаружены в мозговых тканях свиньи. Более поздние исследования установили, что ANP и BNP синтезируются, главным образом, в ткани левых отделов сердца: ANP – в предсердии, BNP – в желудочке. CNP представлен, в основном, в центральной нервной системе, хотя существуют данные, что в эндотелии, макрофагах и фибробластах его выраженность выше, чем в мозге. Четвертый, D-тип, названный в алфавитном порядке, впервые был выделен из яда змеи вида Green Mamba, а впоследствии определен и в плазме крови человека. Все НУП имеют схожее молекулярное строение, которое включает в себя кольцообразное аминокислотное ядро, а также С-карбоксильный и N-аминный фрагменты. Пептиды имеют незначительные различия в наборе и количестве аминокислот, входящие в их состав. ANP и BNP синтезируются, как не активные прогормоны, которые под действием протеаз расщепляются на неактивный N-концевой (NTproANP и NTproBNP) и активный С-концевой фрагменты CNP также включает 2 пептида, происходящие из общего источника [3, 26]. На данный момент обнаружены три главных натрийуретических рецептора: рецептор ANP (NPR-A) и рецептор BNP (NPR-B) – связаны с гуанилилциклазой, используют

циклический гуанозинмонофосфат в качестве внутриклеточного передатчика и устанавливают связь с эндокринной активностью пептидов. ANP и BNP выбирают связь с NPR-A, а CNP – связываются с NPR-B. Все три пептида опосредуются с третьим рецептором, известным как CNP (NPR-C), который не использует гуанилилциклазу, предположительно его функция, заключается в извлечении и удалении НУП из оборота, определяя их клиренс. Все типы вышеназванных рецепторов имеются практически во всех тканях и органах человека, в т. ч. почках, надпочечниках, сердце, легких, эндотелии и гладкой мускулатуре сосудов и ЦНС [13].

Главным стимулирующими факторами для синтеза и секреции BNP и ANP являются растяжение кардиомиоцитов предсердий и желудочков, увеличение конечно диастолического давления в желудочках сердца, формирование легочной гипертензии и т. п. Факторами способствующими высвобождению BNP и ANP могут быть ангиотензин II, эндотелин-I, катехоламины и ишемия [18, 34].

Натрийуретические пептиды это семейство гормонов, которые содержатся в участке молекулы из 17 аминокислотных остатков замкнутых в кольцо, благодаря дисульфидной связи. Структура первого натрийуретического пептида была открыта в 1984 году. Сердечная недостаточность может возникнуть как следствие осложнений различных заболеваний, таких как артериальная гипертензия и сахарный диабет. Поэтому появление таких лабораторных тестов, как NTproBNP основанных на определении концентрации пептидов в плазме крови, является прорывом среди маркерных тестов. В ходе многочисленных исследований было выявлено, что в качестве биомаркера при ИБС, и в частности при ИМ представляет мозговой натрийуретический пептид (BNP), нежели чем (ANP). Главной областью применения лабораторных тестов для количественного определения NTproBNP является диагностика ИБС. Так же с помощью натрийуретических пептидов проводится скрининг для отбора пациентов группы риска, в отношении ИБС, для дальнейшего

углубленного обследования. NTproBNP отражает функцию миокарда и его концентрации в крови, зависит от степени нарушения сердечной функции, благодаря чему, возможно более объективно оценивать стадии заболевания и прогноз. Так же это позволяет использовать данные пептиды с целью длительного мониторинга заболевания.

Анализ крови на кардио маркеры делает возможным раннюю диагностику заболеваний сердечнососудистой системы. Исследования доказывают, что наибольшую диагностическую ценность имеет измерение содержания сердечных тропонинов и NTproBNP, так как они характеризуются наибольшей специфичностью к миокардиоцитам. Однако, не последнюю роль играет проведение тестов, на возникновение тромбозов так как это самое неблагоприятное последствие ИБС, которое может привести к закупорке сосудов и даже к летальному исходу. Поэтому в последнее время наряду с тропонином I и NTproBNP, при тяжелом течении ИБС назначают анализ на Д-димер [55].

Д-димер.

Самое опасное и распространённое осложнение при (ССЗ) сердечно сосудистых заболеваниях, на данный момент является тромбоэмболическое осложнение (ТЭО), оно возникает в венозных и артериальных руслах. В большинстве случаев ТЭО осложняет течение ССЗ у пациентов в период обострения заболевания и в случаях после различного вида вмешательств. Среди множества возможных потенциальных маркеров активизации свертываемости крови вызывает особый интерес у исследуемые в последнее время многими клиницистами, уровень Д-димера в плазме крови. Д-димер является специфическим продуктом деградации поперечно – сшитого/ стабилизированного фибрина, который входит в состав тромба.

К сожалению на сегодняшний момент, как диагностическое так и прогностическое значение Д-димера носит противоречивый характер. Показатель Д-димера показывает круговорот фибрина в крови. Его

концентрация у практически здоровых людей не превышает показателя 285 нг/мл. Превышения нормы Д-димера в крови, говорит об активизации фибринолиза, перед которым происходит усиление коагуляционного каскада с образованием в избыточном количестве не растворимого фибрина. Определение Д-димера широко применяется в клинической практике при диагностике тромбозов глубоких вен и при тромбоэмболии легочной артерии [20, 30, 46, 51, 52]. Но повышение уровня Д-димера индивидуально не может служить достоверно-точным доказательством наличия у пациента тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) или тромбоза глубоких вен нижних конечностей (ТГВНК) из-за того, что многие заболевания и клинические ситуации могут показывать положительные результаты данного анализа [2, 52, 63]. К нормальным факторам, течения жизнедеятельности, способствующим повышению уровня Д-димера, относятся, например, курение, пожилой возраст, послеоперационные состояния и манипуляции связанные с проникновением через естественные барьеры, такие как установка периферического венозного катетера.

Формирование тромбов — естественный физиологичный процесс. В непатологическом состоянии существует равновесие между факторами, запускающими и подавляющими тромбообразование. Нарушение этого баланса ведет к патологическим тромбозам или могут привести к кровотечению. Вследствие этого современная диагностика сердечно-сосудистых проблем невозможна без одновременного тестирования риска тромбообразования. Среди ряда потенциально возможных маркеров активации свертывания крови особый интерес вызывает исследование уровня в плазме Д-димера — специфического продукта деградации поперечно-сшитого, стабилизированного фибрина, входящего в состав тромба. Д-димеры образуются вследствие лизиса сгустка крови под влиянием плазмина и некоторых неспецифических фибринолитиков до растворимых фрагментов, высвобождающихся в кровь. Определение Д-

димера в крови позволяет судить об активности фибринолиза и интенсивности внутрисосудистой гемокоагуляции [21, 29, 32].

Прогностическое значение Д-димера анализировалось в ряде перспективных исследований. По данным трех больших популяционных исследований — Physician HealthStudy, Caerthillystudy и ARIC, в которых наблюдали практически здоровых лиц, риск развития ишемии миокарда был в 2-4 раза выше при исходном уровне Д-димера, соответствующим верхнему интервалу распределения по сравнению с нижним [16, 19, 28]. В перспективном исследовании, проведенном М. Woodward с соавт. (2007), проводился анализ на значимость факторов свертывания крови и маркеров воспаления в развитии риска ССЗ. Д-димер и интерлейкин-6 проявили себя как независимые предикторы ишемической болезни сердца (ИБС) по данным многофакторного анализа. V.L. Lee с соавт. (1997) у больных инфарктом миокарда выявили достоверную связь повышения уровня Д-димера в крови с увеличением вероятности появления осложнений этого заболевания: кардиогенного шока и нарушений сердечного ритма [17, 37]. Многочисленные исследования последнего десятилетия свидетельствуют о наличии взаимосвязи уровня Д-димера с высоким риском тромбоэмболических осложнений у больных хронической сердечной недостаточностью (ХСН) [8,10,15,29].

1.4 Кардиологические экспресс тесты

Экспресс диагностика одна из самых новейших, набирающих обороты систем в области клиническо – биохимической лаборатории. В частности, метод экспресс диагностики позволяет предположить развитие некроза миокарда у больных с острой или нестабильной формой ИБС, на начальной стадии болевого приступа. Главное достоинство экспресс тестов заключается в то, что качественный анализ дает возможность в ранние сроки определить заболевание и приступить к его лечению, тем самым

предотвратить неблагоприятный исход заболевания.

Эта высокочувствительная методика является самой удобной и эффективной, так как не требует ни затрат времени, ни затрат сил. Экспресс тест в основном используют в виде тест полосок. Тест полоска работает на основе комбинирования моноклональных и поликлональных антител. Анти cTnI антитела аккумулируется на тестовой части пластинки, далее образцы вступают в реакцию с этими антителами, нанесенными на мембрану. Для проведения данного анализа, не требуется венозная кровь, достаточно капли крови из пальца. Так же лаборатории используют метод латексной агглютинации, он основан на агрегации модифицированных латексных частиц, проходящих вследствие аффинного взаимодействия антиген-антитело. Латексная агглютинация бывает двух видов, прямая и конкурентная. На базе лаборатории МСЧ-59 используются оба способа.

Экспресс тесты легко выполнять и хранить, они не требуют особых условий, но качественный анализ менее информативен, чем количественный. Поэтому данную систему проведения анализа нельзя назвать совершенной. Хотя на данный момент ей отдается все больше предпочтения, в связи со скоростью выполнения работ. И только после получение положительного результата на качественный анализ, лаборатория преступает к получению результатов количественного анализа. В МСЧ-59 качественный анализ при ИБС выполняется на миоглобин, тропонин I и МВ-КК. Так же в последние годы к этим тестам присоединился тест на Д-димер, чтобы исключить у больного возможного тромбоза или закупорки сосудов.

1.5 Контроль качества кардиомаркеров в биохимической оценке состояния здоровья человека

Качество лабораторных исследований должно соответствовать требованиям, установленным нормативными документами Минздрава России, это обязательное условие при работе в клиничко-диагностических лабораториях, вне зависимости частное это учреждение или государственное. Важным элементом обеспечения качества лабораторных исследований является внутрилабораторный контроль качества. При его планировании и осуществлении используются положения правил внутрилабораторного контроля качества количественных лабораторных исследований для данной лаборатории. Существуют меры по обеспечению качества исследований, эти меры осуществляются на уровне системы здравоохранения России, отдельного учреждения здравоохранения и на уровне отдельной КДЛ. Контроль качества осуществляет Федеральная система внешней оценки качества – ФСВОК на основе баз данных систематизируемых на основании результатов и исследований в различных подразделениях КДЛ России. Главной целью внешней оценки контроля качества является оценка степени сопоставимости результатов исследований, выполняемых во всех зарегистрированных лабораториях России и соответствия их к стандартам аналитической погрешности. Целью такого контроля является оценка соответствия результатов исследований, выполняемых в лаборатории. Порядок проведения внутрилабораторного контроля качества отражен в руководстве по качеству клинических лабораторных исследований данной лаборатории. Поскольку главной задачей внешней оценки контроля качества стремится к выявлению систематических ошибок лабораторных методов и обеспечение соответствующих измерений на всей территории страны, в свою очередь внутрилабораторный контроль предназначен для сохранения

стабильности аналитической системы, а так же выявления и устранения недопустимых случайных систематических погрешностей.

Особенности оценки качества количественных исследований.

Качество лабораторных исследований имеет огромное значение. Под качеством лабораторных исследований может подразумеваться, как аналитическая достоверность, так и своевременность выполнения. Главное достоинство проведения количественного анализа это его информативность, числовое значение дает возможность с биохимической точки зрения оценить полностью состояние здоровья пациента. Точность данного анализа проверяется в системе ФСВОК, что дает гарантии на точность и специфичность результатов. Благодаря количественному анализу, можно проследить динамику развития заболевания у пациента в течении всего времени нахождения в стационаре. Главный минус количественного анализа заключается в количестве времени его проведения. В среднем на один анализ может уходить до 8 часов. Некоторые реагенты требуют собственное, внутрилабораторное приготовление. Анализ выполняется биологом или врачом – лаборантом, так как требуются специальные навыки и знания для выполнения. Наиболее чувствительный биохимический маркер должен иметь такие качества как: наивысшая специфичность и чувствительность в отношении некроза миокарда. Главной задачей такого маркера должно быть определение концентрации в кратчайшие сроки после начала симптомов ИБС и достигать в крови за это время, диагностически значимого уровня, данный уровень должен сохраняться в течение многих дней.

Особенности оценки качества качественных исследований.

Определение качества и правильности выполнения качественных исследований проходят, отлично от оценки качества количественных исследований. Во-первых, на проведение последних, может уходить времени до 8 часов, на проведение одной реакции. Качественный же анализ занимает времени не более 20 минут, но информативность данного

исследования гораздо ниже, так как он не дает числовой результат. Качественный анализ существует в виде тест - полосок, гелиевых карточек, различных методов проявления агглютинации и др. Главный плюс экспресс – метода это его простота, данный вид исследований разрешается проводить среднему медицинскому персоналу. В наборах имеется все необходимое для проведение теста, растворы уже готовые и не требуют никаких химических расчетов, прост в хранении. Главный минус заключается в том, что по экспресс – тесту нельзя проследить динамику течения заболевания и данный вид исследования подчиняется лишь внутрилабораторному контролю качества. Первые 3 образца из коробки, проверяются не только качественным методом, но и количественным, если во всех трех образцах совпадают результаты, то коробку используемых реагентов можно считать верной. В проверке должны участвовать как минимум по одному образцу, отрицательного теста и положительного.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Объект исследования

Материал исследования был набран с 2014 г. по 2016 г. на базе клинико-диагностической лаборатории г. Заречного ФГБУЗ МСЧ №59 ФМБА России. Подготовка биологического материала к анализу проводилась в клинико-диагностической лаборатории медсанчасти г. Заречного с использованием всей имеющейся аппаратуры подразделения, под руководством заведующей отделения Кафтаевой Н.В., врача-лаборанта – Антоновой Н.В., Арсеньевой Л.С.

Проведены исследования анализируемых клинико-биохимических тестов в следующих группах наблюдения (81 человек):

- контрольная группа – 21 практически здоровых людей без клинических проявлений каких-либо заболеваний (возраст 28 - 40 лет);
- исследуемая группа: 60 больных с ишемической болезнью сердца (возраст 28 – 40 лет). Из них:

С заболеванием инфаркта миокарда 20 человек в возрасте от 28 до 40 лет;

С заболеванием стенокардия 20 человек в возрасте от 28 до 40 лет;

С заболеванием повторный инфаркт миокарда 20 человек в возрасте от 28 до 40 лет.

Наблюдение в исследуемой группе проводилось на протяжении всего срока нахождения больного в кардиологическом отделении.

Сравнительные исследования между качественным и количественным анализом проводились в трех группах: тропонин I – 7 человек; Д-димер – 6 человек; миоглобин – 5 человек.

2.2 Методы исследования

Проводился контроль качества кардио маркеров в соответствии с требованиями ФСВОК. В качестве биохимических показателей инфаркта миокарда использовали гематологические показатели (гемоглобин, эритроциты, тромбоциты, лейкоциты, лимфоциты, палочкоядерные, сегментоядерные, эозинофилы, миоциты, СОЭ), клинико-биохимические тесты (общий белок, фибриноген, билирубин, мочевины, липиды общие, холестерин общий, триглицериды, ХСЛНП, ХСЛВП, ПТИ, МНО, глюкоза, Cl, K, Na, Ca, АлАт), ранние кардиомаркеры (миоглобин, креатинин) и поздние кардиомаркеры (тропонин I, NT-proBNP-натрийуретический пептид, ЛДГ, АсАт, СРБ, Д-димер).

Величины гематологических показателей определялись с помощью автоматического гематологического анализатора Sysmex XT-2000i.

Гематологический анализатор Sysmex XT-2000i – это высокотехнологичный прибор, позволяющий проводить полный анализ крови по 23 основным показателям. Sysmex XT-2000i использует метод флуоресцентной проточной цитометрии, который четко разделяет нормальные образцы от патологических. Анализатор работает в автоматическом режиме, выдавая полную лейкоцитарную формулу, эритроцитарные и тромбоцитарные индексы, проводит подсчет ретикулоцитов, а также определяет содержание гемоглобина в ретикулоцитах.

Анализатор Sysmex XT-2000i использует метод определения абсолютного количества клеток крови, благодаря чему в калибровке прибора нет необходимости, что снижает расход реагентов, контрольных материалов, время на настройку прибора. С помощью технологии гидродинамической фокусировки подсчет эритроцитов и тромбоцитов производится с максимальной точностью. Sysmex XT-2000i способен выявлять стойкие к растворению эритроциты, что повышает надежность

определения лейкоцитарной формулы (даже для образцов крови, которые взяты более 40 часов назад).

Величины клиничко-биохимических показателей определялись с помощью наборов реагентов (набор реагентов FFD-200A Stromatolyser-WH) для бихроматической фотометрической системы StatFax – 1904.

StatFax – 1904- компактная бихроматическая фотометрическая система с 6-ю световыми фильтрами и встроенным инкубатором рассчитанным на 37°С управляемым с помощью микропроцессора. Основным назначением StatFax – 1904 проводит измерение и расчет результатов как по конечной точке, так и в режиме кинетики.

Величины АсАт, МНО, АЧТВ, ХСЛНП, ХСЛВП, ПТИ определялись с помощью наборов реагентов Sentinel Diagnostics селективного биохимического анализатора Конелаб 20.

Анализатор KONELAB 20 – это селективный биохимический анализатор, представляющий собой интегрированную систему для диагностики *in vitro* предназначенную для автоматизированных исследований, как обычных клинических анализов, так и электролитов и специальных биохимических исследований, таких как специфические белки, мониторинг лекарственных препаратов и определение концентрации наркотических веществ. Так же аппарат способен самостоятельно проводить контроль качества исследований, и автоматически предоставлять данные о контроле качества для ФСФОК.

Величины тропонина I ,Д-димера и NT-proBNP определялись с помощью наборов реагентов (ЗАО Вектор БЕСТ набор реагентов А-9106 Тропонин I- ИФА-БЕСТ, ЗАО Вектор БЕСТ набор реагентов А-9120 D-димер-ИФА-БЕСТ, ЗАО Вектор БЕСТ набор реагентов А-9102 NT-proBNP-ИФА-БЕСТ) для иммуноферментного определения концентрации тропонина I и N-терминального фрагмента предшественника мозгового

натрийуретического пептида в сыворотке крови на компьютеризованном иммуноферментном анализаторе TECAN Sunrise.

TECAN Sunrise это универсальный ридер микропланшетного формата для быстрого фотометрического анализа, предназначен для проведения иммуноферментного анализа. Иммуноферментный анализ - это лабораторный иммунологический метод качественного или количественного определения различных низкомолекулярных соединений и макромолекул, в основе которого лежит специфическая реакция антиген-антитело. Выявление образовавшегося комплекса проводится с использованием фермента в качестве метки для регистрации сигнала. Для ИФА анализатора Tecan предусматривается мощное программное обеспечение Magellan. TECAN Magellan – это универсальное компьютерное обеспечение для управления прибором и обработки данных, полученных при проведении анализов с использованием измерительного оборудования TECAN. Принцип метода заключается в том, что он основан на одностадийном твердофазном иммуноферментном анализе с применением двух типов моноклональных антител с различной эпитопной специфичностью. Во время инкубации в лунках планшета при добавлении исследуемого образца и конъюгата происходит связывания сыворотки с моноклональными антителами, которые конъюгируются с пероксидазой. При инкубации с раствором тетраметилбензидина, происходит окрашивания раствора в лунках. Степень окраски зависит от концентрации кардио маркера в анализируемых пробах. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация кардиомаркера в анализируемых пробах.

Помимо количественных тестов в ходе работы были проведены качественные тесты. При помощи готовых наборов реагентов для экспресс метода качественного определения тестов в цельной крови.

РеД–Димер тест является одним из самых быстрых качественных тестов определения продуктов деградации поперечного фибрина (Д-димера), в целой крови человека.

РеД-Димер тест основан на технологии SimpliRED и является методом определения агглютинации аутологичных эритроцитов, активным веществом является химический конъюгатом онкоклонального антитела, специфичного для Д-димера, и моноклонального антитела, которое связывается с поверхностью эритроцитов. XL-ПДФ, присутствующие в пробе крови, связываются с конъюгатом на эритроцитах, вызывая перекрестное связывание между конъюгатными группами клеток, что приводит к видимой агглютинации, в отсутствие Д-димера, конъюгаты, прикрепленные к эритроцитам, агглютинации не вызывают. Отрицательный Контроль должен проводиться с каждым анализируемым образцом и должен использоваться как сравнительный показатель на отсутствие агглютинации. При агглютинации с отрицательным Контролем результаты являются недействительными. Положительный Контроль должен применяться для подтверждения достоверности отрицательного результата РеД-Димер теста.

Результат теста может быть положительным, слабоположительным и отрицательным. В инструкционной брошюре приведены примерные значения соответствующие результатам теста. Неспособность положительного контроля вызвать агглютинацию является свидетельством потери активности реагентов набора. Контрольные пробы также должны тестироваться в начале использования новых серий РеД-Димер теста и в любом случае получения спорных результатов.

«ИммунТех» Трехкомпонентный Кардиотест — это иммунохроматографическая тест-система, предназначенная для одновременного качественного определения трех маркеров повреждения сердечной мышцы: сердечного тропонина I (сTnI), изофермента МВ-фракции креатинкиназы (СК-МВ) и миоглобина (Myo) в сыворотке, плазме

или цельной крови человека. Одновременное определение трех маркеров поражения клеток миокарда обеспечивает высокую диагностическую значимость результатов. Время от забора крови до получения результата – 15 минут. Анализ настолько прост в выполнении, что он может выполняться средним медицинским персоналом.

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью t-критерия Стьюдента (компьютерная программа «Excel»).

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты исследования гематологических показателей представлены в таблице 1, стандартных и специфических клинико-биохимических показателей в таблице 2 и таблице 3, показателей кардиомаркеров в таблице 4, сравнительные показатели качественного и количественного анализа в таблице 5.

Таблица 1.

Гематологические показатели крови при ишемической болезни сердца ($M \pm m$, $n=81$)

Тесты	Контрольная группа	Исследуемая группа		
		стенокардия	ИМ	ПИМ
Гемоглобин (г/л)	136,1 $\pm$ 1,2	147,1 $\pm$ 0,43*	146,25 $\pm$ 2,5*	146,6 $\pm$ 1,25*
Эритроциты (10^{12} /л)	4,47 $\pm$ 0,23	7,78 $\pm$ 0,15*	4,8 $\pm$ 0,03*	4,7 $\pm$ 0,04*
Тромбоциты (10^9 /л)	221,7 $\pm$ 3,4	232,75 $\pm$ 1,96*	235,3 $\pm$ 3,125*	227,3 $\pm$ 2,43*
Лейкоциты (10^9 /л)	5,8 $\pm$ 0,7	10,45 $\pm$ 0,04*	8,54 $\pm$ 1,83*	7,93 $\pm$ 0,22*
с/я (проц.)	62,8 $\pm$ 0,62	54,18 $\pm$ 0,36*	57,87 $\pm$ 1,125*	58,75 $\pm$ 0,87*
п/я (проц.)	1,1 $\pm$ 0,3	0,625 $\pm$ 0,02*	1 $\pm$ 0*	0,94 $\pm$ 0,13*
Эозинофилы (проц.)	1,2 $\pm$ 0,6	1,68 $\pm$ 0,84*	1,06 $\pm$ 0,2*	1,53 $\pm$ 0,098*
Базофилы (проц.)	0,1 $\pm$ 0,05	0,0625 $\pm$ 0,03*	0,14 $\pm$ 0*	0,15 $\pm$ 0,07*

Таблица 1 (продолжение)

Тесты	Контрольная группа	Исследуемая группа		
		стенокардия	ИМ	ПИМ
Лимфоциты (проц.)	22,6±1,8	32,375±0,72*	31,06±0,14*	33,38±0,93*
Моноциты (проц.)	4,1±0,2	5,68±0,25*	7,44±0,22*	5,44±0,29*
СОЭ (мм/ч)	4,6±0,24	6,31±0,18*	8,43±0,625*	8,81±0,07*

Примечание: * $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе (ИМ-инфаркт миокарда, ПИМ-повторный инфаркт миокарда).

При сравнении гематологических показателей было выявлено, что среди исследуемых групп значительные изменения в показателях лимфоцитов, это связано с тем, что произошло нарушение равновесия между уровнем коронарного кровотока и потребностью миокарда в кислороде, вследствие этого произошло отклонение от нормы. Изменения в эритроцитах и лейкоцитах, наблюдается только при стенокардии. Повышенные значения показателей эритроцитов, может быть связано с тем, что в крови происходит излишнее скопление газов и токсических веществ, которые способны нейтрализовать кислород. В связи с этим, костный мозг выбрасывает дополнительные красные клетки. Но так как стенокардия находится в одной нозологической группе ИМ и ПИМ, и в данных группах особых отклонений не выявлено, то на такого вида показателей нельзя опираться, но эти данные смогут послужить дополнительным фактором в постановке правильного диагноза. Превышение нормы лейкоцитов может быть вызвано кратковременным «стрессом» организма при резких болях в области сердца (рисунок 1).

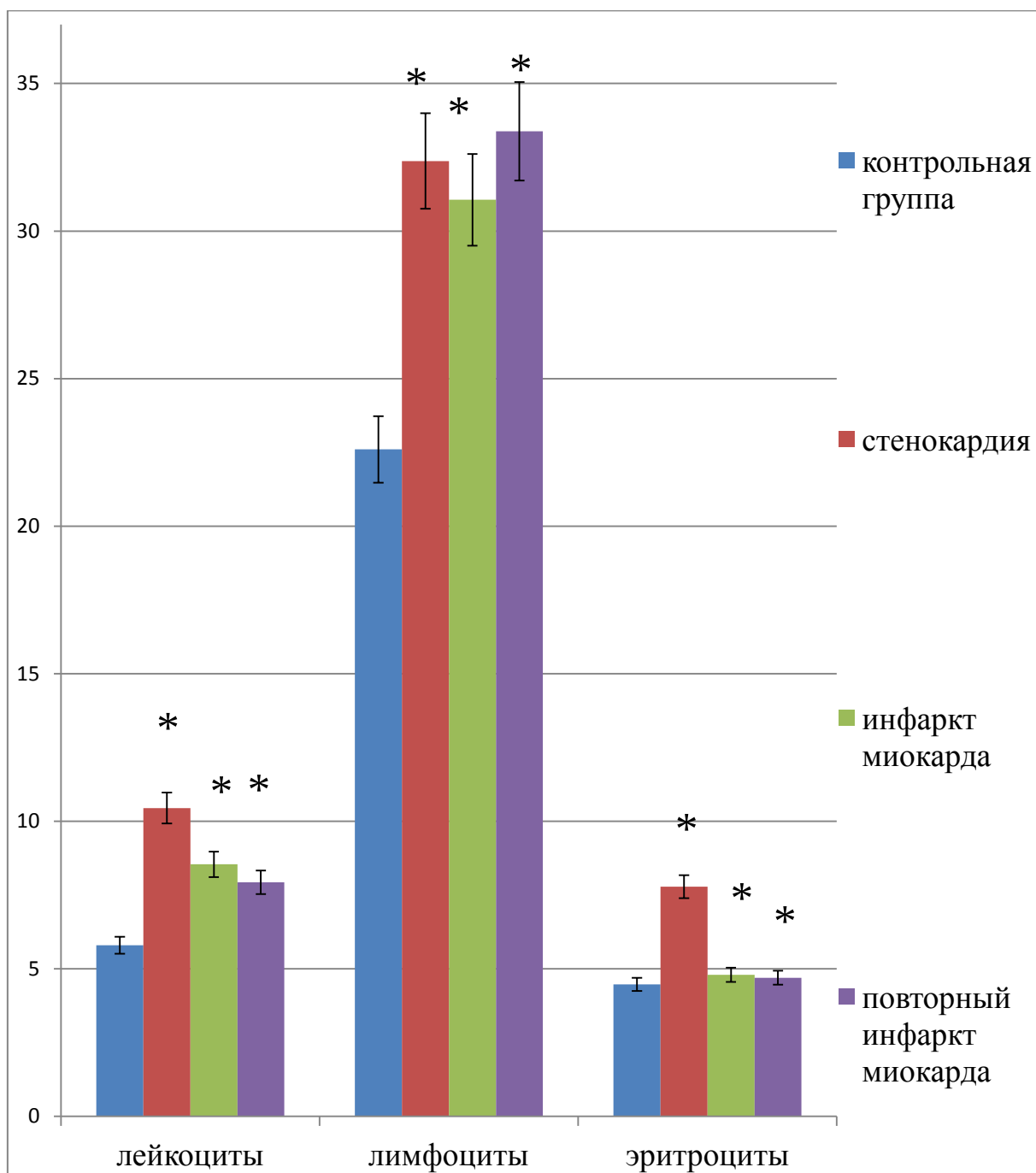


Рис. 1. Гематологические показатели при ишемической болезни сердца (эритроциты $\cdot 10^{12}/\text{л}$, лимфоциты $\cdot \%$, лейкоциты $10^9/\text{л}$, $M \pm m$, $n=81$).

Здесь: $*$ - $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе.

Таблица 2.

Исследованные стандартные клинико-биохимические показатели крови при ишемической болезни сердца ($M \pm m$, $n=81$).

Тесты	Контрольная группа	Исследуемая группа		
		стенокардия	ИМ	ПИМ
Общий белок (г/л)	72,11 $\pm$ 4,15	-	73,1 $\pm$ 2,05	74,4 $\pm$ 1
Мочевина (ммоль/л)	5,38 $\pm$ 0,93	6,8 $\pm$ 0,25	5,95 $\pm$ 0,06	6,26 $\pm$ 0,065
Креатинин (мкмоль/л)	87,19 $\pm$ 3,3	95,18 $\pm$ 2,18	95,57 $\pm$ 0,93	87,19 $\pm$ 0,93
Билирубин общ. (мкмоль/л)	14,28 $\pm$ 2,19	20,91 $\pm$ 1,125	26,5 $\pm$ 0,81	25,09 $\pm$ 1,25
АЛТ (Ед/л)	22,64 $\pm$ 0,62	34,55 $\pm$ 1,87	32,73 $\pm$ 1,44	43,75 $\pm$ 4,3
АСТ (Ед/л)	24,35 $\pm$ 1,5	37,86 $\pm$ 0,81	33,49 $\pm$ 1,56	44,27 $\pm$ 1,21
Холестерин (ммоль/л)	5,78 $\pm$ 0,54	4,96 $\pm$ 0,14	5,77 $\pm$ 0,06	5,35 $\pm$ 0,29
Глюкоза (ммоль/л)	4,52 $\pm$ 0,36	6,1 $\pm$ 0,31	5,85 $\pm$ 0,2	5,8 $\pm$ 0,05

Примечание: * $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе (ИМ-инфаркт миокарда, ПИМ-повторный инфаркт миокарда).

Таблица 3

Исследованные специфические клинико-биохимические тесты при ишемической болезни сердца ($M \pm m$, $n=60$).

Тесты	стенокардия	ИМ	ПИМ
Са (ммоль/л)	2,305 $\pm$ 0,06	2,33 $\pm$ 0,01	2 $\pm$ 0,16
ХСЛНП (ммоль/л)	5,26 $\pm$ 1,8	3,96 $\pm$ 0,1	2,81 $\pm$ 0,02
ХСЛВП (ммоль/л)	1,2 $\pm$ 0,01	1,2 $\pm$ 0,01	1,196 $\pm$ 0,06
ПТИ (проц.)	87,67 $\pm$ 0,75	94,38 $\pm$ 0,85	80,22 $\pm$ 2,2
МНО	1,2 $\pm$ 0,05	1,23 $\pm$ 0,11	1,49 $\pm$ 0,26
АЧТВ (сек.)	28,29 $\pm$ 1,17	31,88 $\pm$ 1,5	36,61 $\pm$ 0,75
Щ.Ф (г/л)	168,8 $\pm$ 1,2	148,39 $\pm$ 13,7	-
Фибриноген (г/л)	3,84 $\pm$ 0,02	4,21 $\pm$ 0,125	3,81 $\pm$ 0,29
КФК МВ (Ед/л)	11,04 $\pm$ 0,92	17,8 $\pm$ 0,54	24,57 $\pm$ 1,66
К (ммоль/л)	4,8 $\pm$ 0,01	4,83 $\pm$ 0,018	4,88 $\pm$ 0,08
Na (ммоль/л)	145,4 $\pm$ 0,3	144,13 $\pm$ 0,46	143,4 $\pm$ 0,33
Триглицериды (ммоль/л)	1,68 $\pm$ 0,03	1,8 $\pm$ 0,18	2,62 $\pm$ 0,09

Примечание: * $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе (ИМ- инфаркт миокарда, ПИМ-повторный инфаркт миокарда).

При сравнении данных биохимического анализа крови, были выявлены следующие нарушения. Повышенный уровень общего билирубина наблюдается при ИМ и ПИМ, что свидетельствует о том, что происходит излишний распад эритроцитов, это происходит на фоне недостатка кислорода в тканях организма.

Высокое значение АЛТ при сравнении со всеми исследуемыми группами происходит только при ПИМ, это связано с тем что, при повторном инфаркте миокарда происходит разрушение участка сердца, за счет окклюзии питающей артерии, так же происходит гибель кардиомиоцитов из-за чего повышается уровень АЛТ.

Повышенный уровень АСТ наблюдается у всех трех исследуемых групп, это обусловлено тем, что во всех трех группах происходит процесс сопровождающийся повреждением клеток миокарда, и чем обширнее площадь повреждения, тем выше концентрация АСТ в крови.

Повышенный уровень ХСЛНП наблюдается только при стенокардии. Это свидетельствует об ишемической болезни сердца и возможном переходе в предынфарктное состояние. Повышенный результат данного анализа происходит, потому что возникает дисбаланс функционирования мембран клеток, нарушается транспорт «доставки» общего холестерина в клетки и органы организма, что и ведет к появлению риска недостаточности сердечной мышцы. Во всех исследуемых группах уровень глюкозы выше нормы, это связано с нарушением углеводного обмена и вследствие нарушения работы сердца, что в дальнейшем может привести к сахарному диабету (рисунок 2 и рисунок 3).

При исследовании коагулограммы обнаружены следующие изменения: во всех трех исследуемых группах повышен уровень МНО, так как данный анализ ответственен за кровотечения, то его повышение одно из первых говорит об ишемической болезни сердца. Повышенный уровень

АЧТВ наблюдается только при повторном инфаркте миокарда, данный результат анализа свидетельствует о большом риске возникновения тромбозов. Повышенный уровень фибриногена наблюдается только при ИМ, что свидетельствует о нарушении тока крови к сосудам и о начале воспалительного процесса (рисунок 4). В целом биохимический анализ крови не дает точную картину патологического процесса в исследуемых группах, но указывает на наличие дисфункции и дестабилизации некоторых тканей, сосудов и прохода к ним. Биохимический анализ хорошо дополняет общую картину заболеваний, тем, что указывает на дополнительные пороки возникающие впоследствии заболевания.

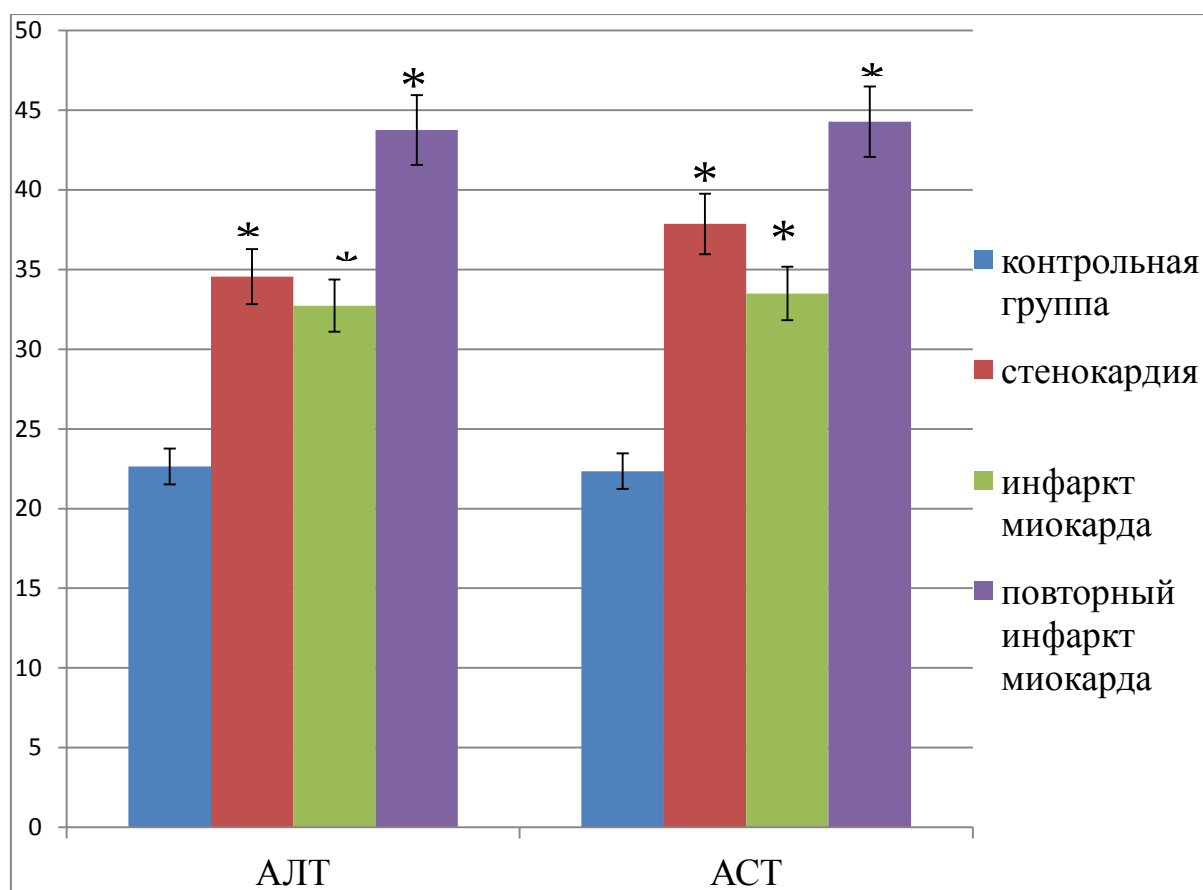


Рис. 2. Клинико-биохимические показатели АЛТ и АСТ при ишемической болезни сердца (ЕД/л, $M \pm m$, $n=81$).

*Здесь: *- $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе.*

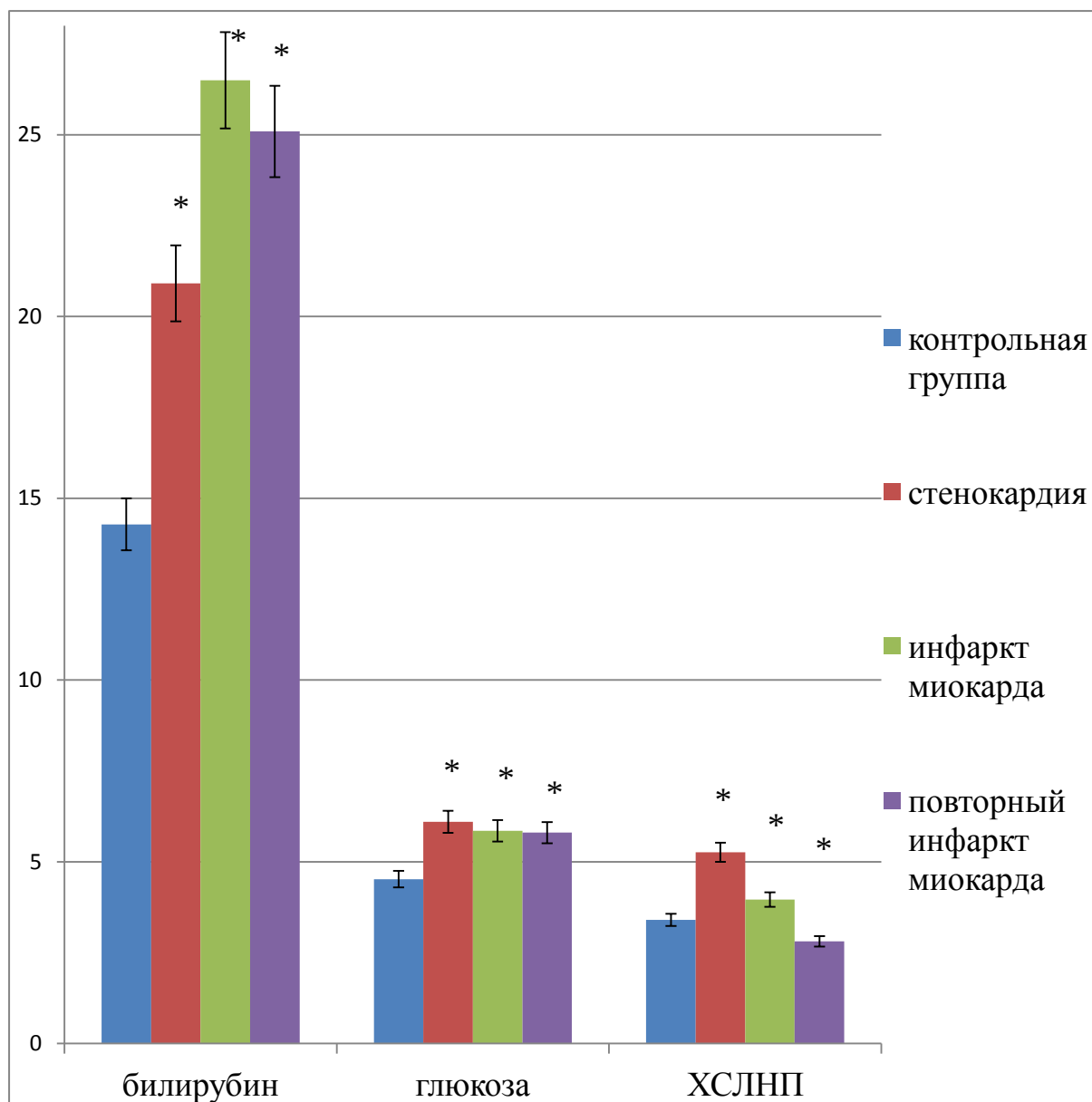


Рис. 3. Клинико-биохимические показатели билирубина, глюкозы и ХСЛНП при ишемической болезни сердца (ммоль/л, $M \pm m$, $n=81$).

Здесь: *- $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе.

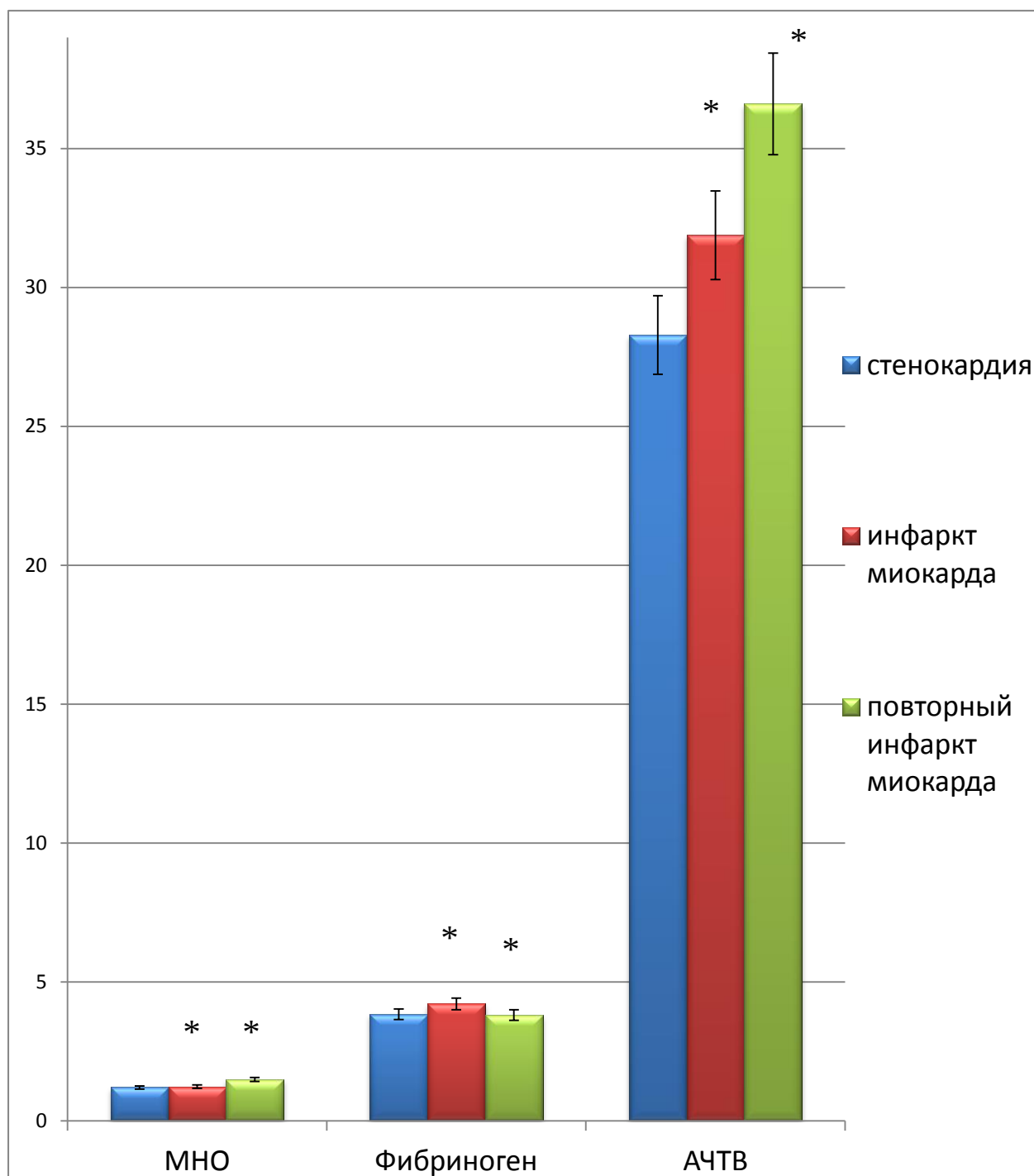


Рис. 4. Показатели коагулограммы у больных с ишемической болезнью сердца (фибриноген-г/л, АЧТВ-сек., $M \pm t$, $n=60$).

Здесь: *- $p < 0,05$ по отношению к стенокардии.

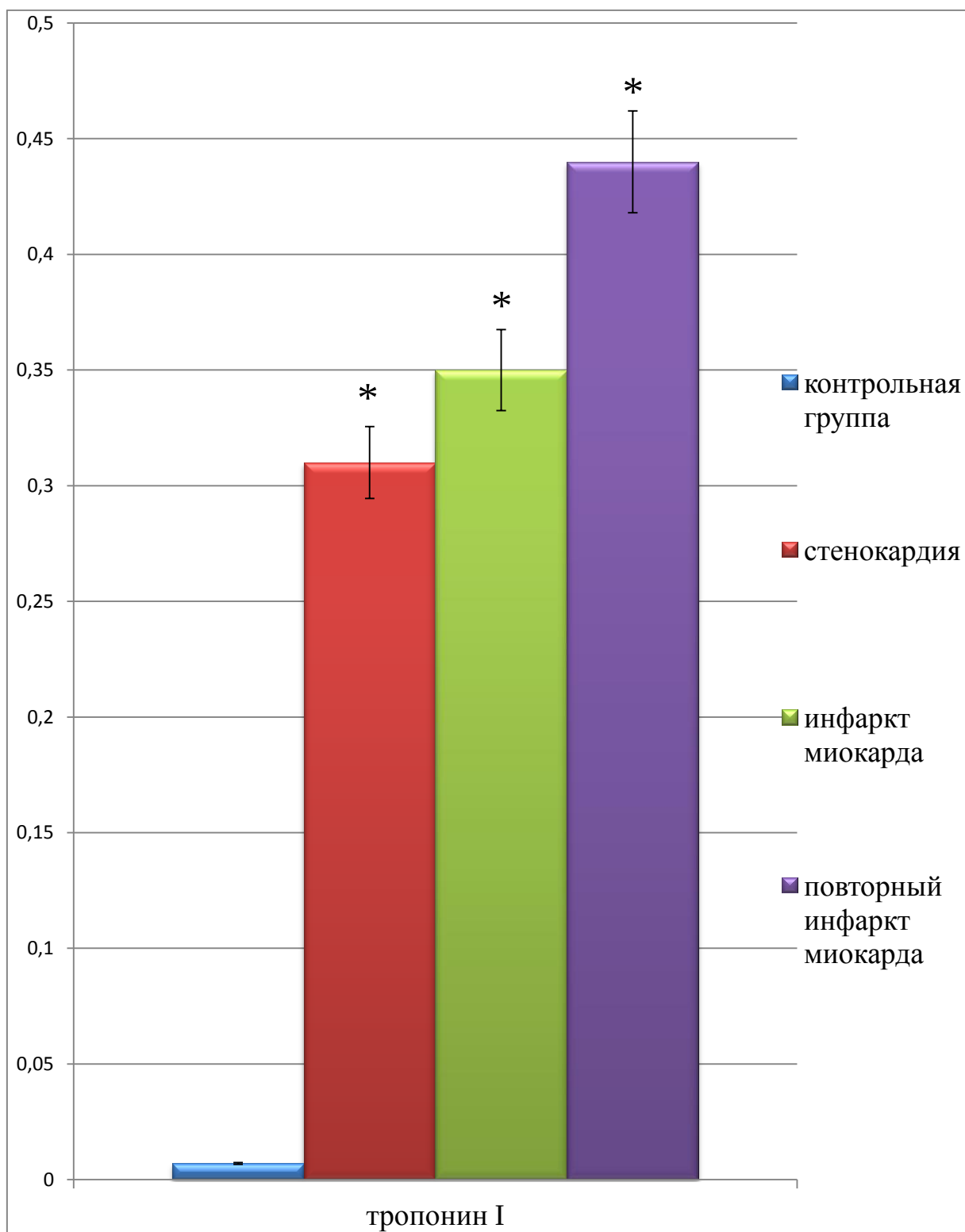


Рис. 5. Уровень тропонина I в период обострения ишемической болезни сердца (нг/мл, $M \pm m$, $n=81$).

Здесь: *- $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе.

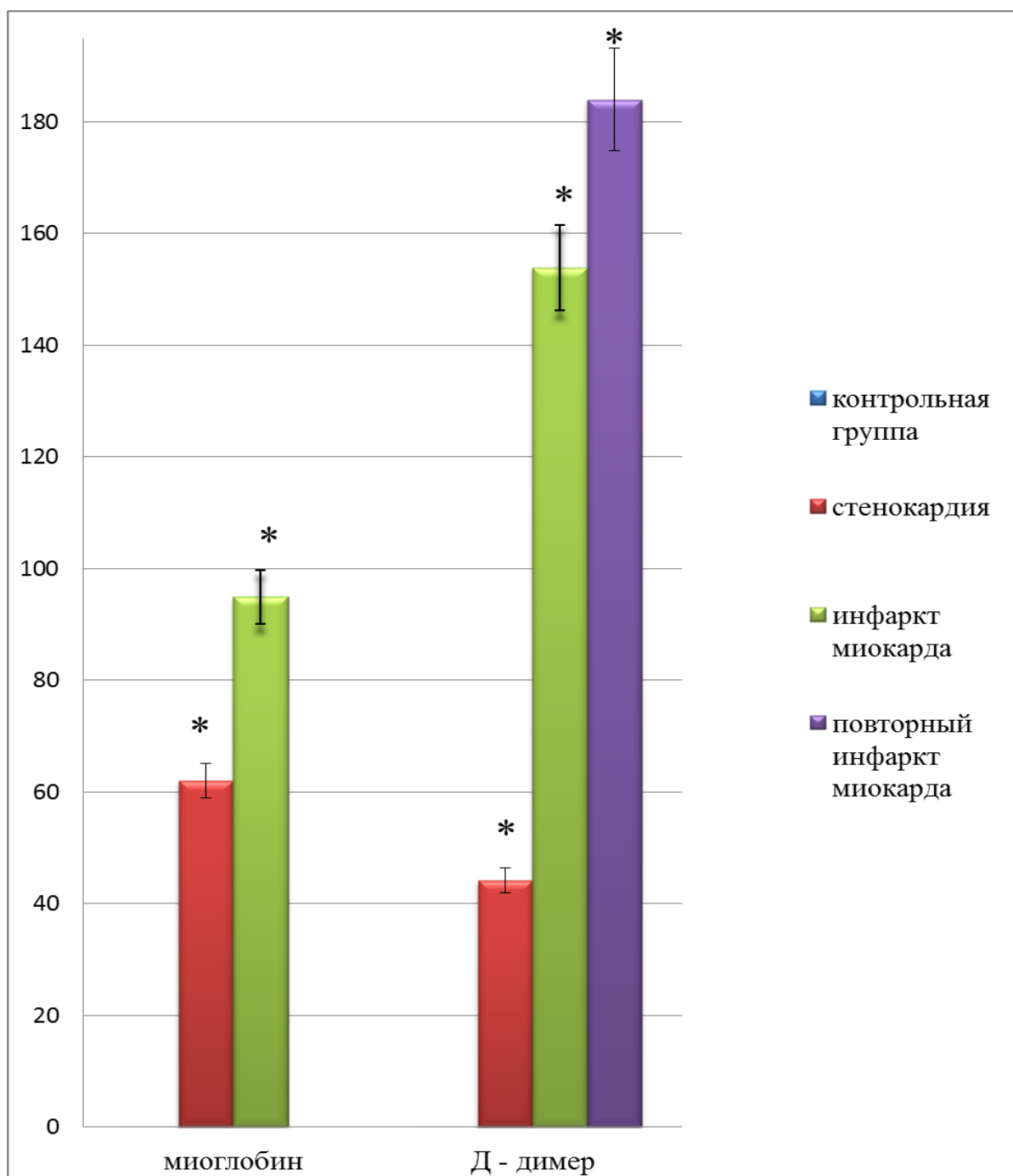


Рис. 6. Уровень миоглобина и Д-димера в динамике наблюдений при ишемической болезни сердца (нг/мл, $M \pm m$, $n=81$).

Здесь: *- $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе.

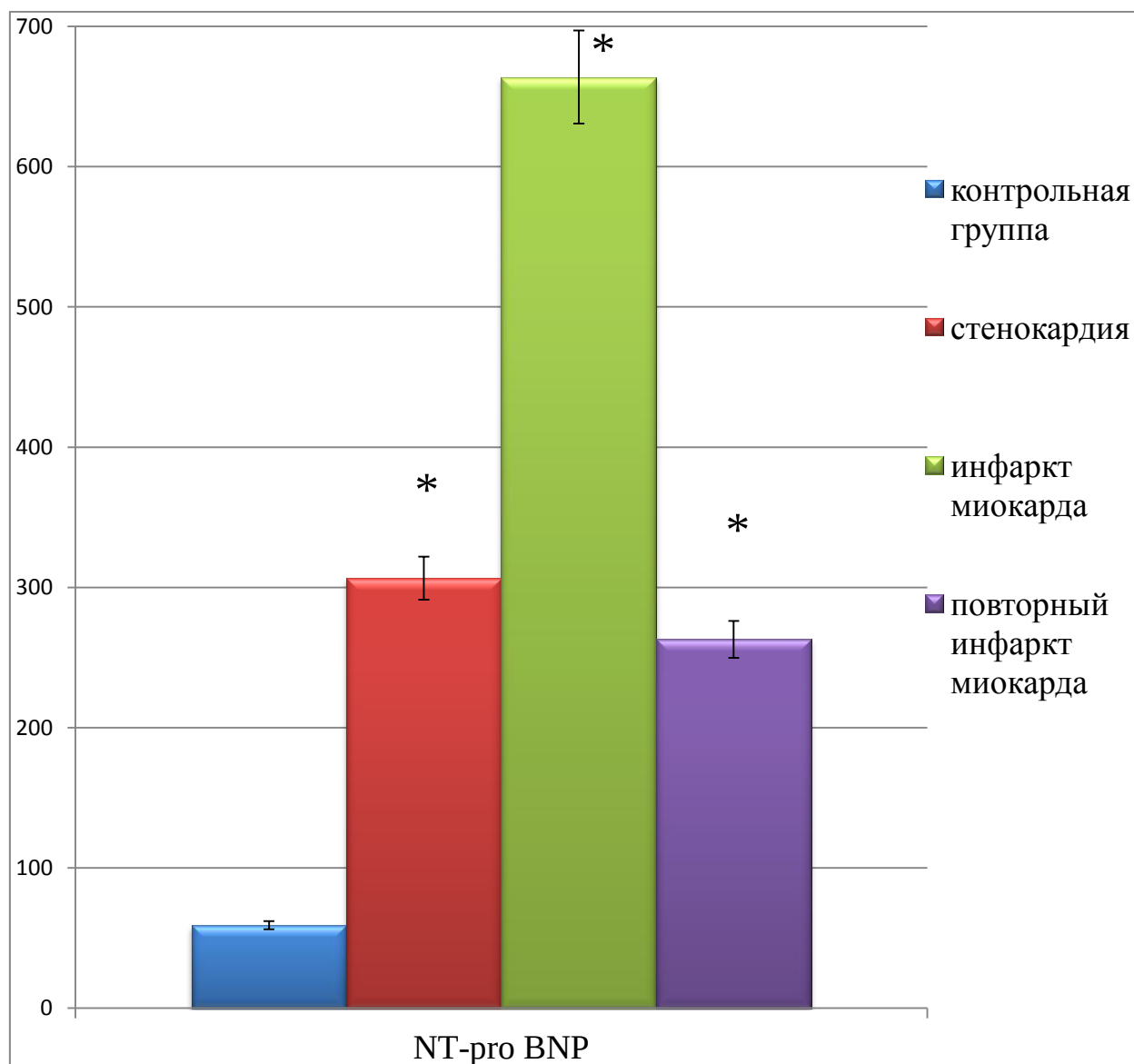


Рис. 7. Уровень натрийуретического пептида в динамике наблюдений при ишемической болезни сердца (нг/мл, $M \pm m$, $n=81$).

*Здесь: *- $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе.*

Таблица 4.

Показатели кардиомаркеров при ишемической болезни сердца в период поступления пациента в стационар.

Тест	Контрольная группа	Исследуемая группа		
		стенокардия	ИМ	ПИМ
Тропонин I (нг/мл)	0,007±0,0035	0,31±0,01*	0,35±0,03*	0,44±0,03*
NTproBNP (нг/мл)	59,18±10,19	306,6±11*	663,91±1,31*	262,94±4,3*
Д-димер (нг/мл)	0	44,125±0,1*	153,9±8,5*	184,01±6,7*
Миоглобин (мкг/л)	0	62,02±5,3*	94,92±1,55*	Кач. анализ

Примечание: * $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе (ИМ-инфаркт миокарда, ПИМ – повторный инфаркт миокарда).

При сравнении данных поздних кардиомаркеров выявлено, что Тропонин I выше нормы во всех исследуемых группах, наиболее высокий показатель отмечен при повторном инфаркте миокарда, что свидетельствует о том, что инфаркт во всех случаях был крупноочаговым. В группе ИМ и стенокардия данные тропонина свидетельствуют о наличии некроза миокарда и об остроте приступа. (Рисунок 5)

Отмечено, что при повышении тропонина I в плазме крови происходит пропорциональное повышение Д-димера. Это может свидетельствовать о том, что чем выше уровень тропонина, тем более велика вероятность возникновения тромбозов при ИБС. Несмотря на то, что отсутствуют числовые показания миоглобина при ПИМ, можно

сделать вывод о том, что чем ниже уровень содержания миоглобина в плазме крови, тем меньше содержания других поздних кардиомаркеров, таких как тропонин I и Д-димер. И чем выше концентрация миоглобина, тем, возможно, будут выше показатели других кардиомаркеров. (Рисунок 6). Предшественник мозгового натрийуретического пептида NTproBNP имеет высокое значение, выходящее за норму во всех исследуемых группах. Критически высокое значение наблюдается при инфаркте миокарда. Так как N-терминальный промозговой натрийуретический пептид отвечает за регуляцию по «перекачке» крови в левом желудочке, то можно сделать вывод о том, что левый желудочек работает с большой нагрузкой, происходит выброс в кровь NTproBNP, что свидетельствует о сердечной недостаточности. Чем выше концентрация NT pro BNP в организме, тем выше риск осложнений. Таким образом, NTproBNP отражает, что во всех трех группах происходит сердечные отклонения, что требует дальнейшего мониторинга пациентов, для предотвращения усугубления ситуации. Особое внимание требуется уделить пациентам с ИМ, так как по данным NTproBNP происходит нарушение сердечной функции, это говорит о неблагоприятном прогнозе в виде возможного перехода инфаркта миокарда в острый инфаркт миокарда (рисунок 7).

Количественный миоглобин был определен в двух исследуемых группах. Значение выше нормы выявлено в группе ИМ. Повышенный уровень миоглобина свидетельствует о повреждении скелетных или сердечных мышц. Анализ на миоглобин подтверждает наличие инфаркта миокарда и исключает любые другие рядом стоящие заболевания, связанные с острой болью в сердце. Качественный миоглобин проводился в группе ПИМ, так как требовался быстрый способ определения наличия или отсутствия миоглобина в крови, так как у пациентов уже однажды был диагностирован инфаркт миокарда и требовалось подтверждение или

опровержение о его повторности. Все показатели Д-димера в пределах нормы, что свидетельствует о том, что впоследствии ИБС тромбоз не наблюдается, закупорка сосудов не происходит. Но тот факт, что результат не нулевой, говорит о том, что при осложнении основного заболевания, тромбоз может начаться. Следовательно, требуется наблюдение в данной области. Поскольку споры о том, какой анализ лучше, качественный или количественный, было проведено сравнение данных показателей кардиомаркеров качественного и количественного анализа для проверки точности результатов. (Таблица 4.)

Проведен сравнительный анализ качественных и количественных исследований в трех группах. Цель исследования выявление ошибок качественного анализа. Так как медики все чаще отдают предпочтение качественному анализу, в связи с его простотой и скоростью исполнения, требуется сравнить его с количественным анализом. В трех группах было проведено сравнение на точность и правильность качественного метода. При сравнении данных качественного и количественного ТропонинаI, существенных ошибок выявлено не было. Следовательно, в критических состояниях, когда нет времени на выполнение количественного анализа, так как реакция идет около 4-х часов, то качественное определение тропонина подойдет лучше всего. Но это не значит, что нужно полностью отказаться от количественного анализа, так как он поможет проследить за динамикой наблюдения течения заболевания. Сравнительный качественный и количественный анализ на миоглобин показал в обеих группах идеальные результаты, следовательно, можно отдать предпочтение качественному анализу на миоглобин и использовать количественный анализ в редких необходимых случаях. Так как миоглобин выходит из тока крови спустя 4 часа после приступа и сравнительная картина данных в динамики наблюдения особой важности не несет.

Таблица 5.

*Сравнительные данные кардиомаркеров с использованием
качественного и количественного метода исследования.*

№	Количественный результат	Качественный результат
Тропонин I (нг/мл)		
1	0,26	++ *
2	0,19	++ *
3	0,5	++++
4	0,41	+++
5	0,8	++++
6	0,29	+++
7	0,3	++
Миоглобин (мкг/л)		
1	78	++
2	89,78	++
3	98,1	++
4	89,21	++
5	98,41	++
Д-димер (нг/мл)		
1	0	-
2	41	- *
3	285	- #
4	248	+
5	271	+
6	444	- #

Примечание: * - значение немного отличается от реальной картины,

#- значение полностью не совпадает с правильным результатом

Сравнительный анализ на Д-димер показал сильные расхождения в показателях данных сравнительных групп. Что является грубым нарушением. Качественный и количественный анализ проводился в строгих условиях, обусловленных правилами медицинского учреждения, поэтому случайная ошибка сведена к минимуму. Поскольку совпадения результатов 3 из 6, то можно сделать вывод, что использование качественного анализа на Д-димер является не целесообразным. Так же возможно, стоит провести повторный опыт, но с реагентами другой фирмы. Так как количественный анализ занимает достаточно долгое время, альтернативный метод проведения анализа требуется, но с периодическим сравнением данных количественного анализа.

ВЫВОДЫ

1. Уровень тропонина I и натрийуретического пептида информативны при инфаркте миокарда, стенокардии и повторном инфаркте миокарда. Анализ отразил тяжесть патологии. Обнаружена пропорциональная связь между тропонином I и Д-димером. Отмечена их прогностическая значимость. Предположительно Д-димер в сочетании с тропонином I является более прогностически значимым при ИБС по сравнению с коагулограммой. С помощью этих данных, существует вероятность взятия под контроль возникновения тромбозов в следствии ИБС.

2. Проведенные сопоставления качественного и количественного анализа.

2.1. По результатам сравнительного анализа, между качественным и количественным тропонином I, патологических различий выявлено не было. Следовательно, и количественный и качественный анализ на тропонин I подходит для изучения патологии ишемической болезни сердца, но прогностически значимым остается количественный анализ, так как он позволяет проследить динамику наблюдений в течении всего времени нахождения пациента в стационаре.

2.2. Проанализировав уровень миоглобина по показателям качественного и количественного анализа, сделан вывод, что прогностически значимым является качественный анализ на миоглобин, так как он полностью совпадает с количественным анализом и выполняется гораздо быстрее.

2.3. Сравнительный анализ на Д-димер показал полное несоответствие результатов качественного анализа по отношению к количественному, из чего сделан вывод о нецелесообразности использования качественного анализа на Д-димер используемой фирмы.

3. Одним из ключевых критериев в сопоставлении динамики биохимических лабораторных тестов проявили АЛТ, АСТ, глюкоза, общий билирубин, ХСЛНП и коагулограмма. Эти критерии помогли найти сравнительно различные черты среди исследуемых групп. Данные анализы не играют ведущей роли в постановке диагноза, но помогают различать между собой заболевания входящие в одну нозологическую группу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алперт, Д. Лечение инфаркта миокарда / Д. Альперт, Г. Френсис. – М.: Практика, - 1994. – С. 20-25.
2. Бокарев, И.Н. Острый коронарный синдром и его лечение / И.Н. Бокарев // Consilium-medicum. – 2006. – Т.8, №5.
3. Воробьева, Н.М. Д -димер у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями без тромбоэмболических осложнений: с чем это связано и что делать? / Е.П. Панченко, А.Б. Добровольский, Е.В. Титаева // Повышение. Ангиология и сосудистая хирургия. – 2010. – Т. 16(4). – С. 34-41.
4. Долгов, В.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В.В. Долгов, П.В. Спирин – М.: Триада, 2005. 227 с.
5. Залевская, Н.Г. Современные методы лабораторного подтверждения инфаркта миокарда / Н.Г. Залевская // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2011. – № 10. – С. 260-267.
6. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Минск: «Беларусь», 2000. – Т 2.- С. 433 - 452.
7. Кушманова, О.Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии / Е.М. Ивченко, О. Д. Кушманова // Медицина. – 2013. – С. 98–99.
8. Лифшиц, В.М. Медицинские лабораторные анализы: справочник / В. М. Лифшиц, В. И. Сидельникова В.И // Триада-Х. – 2007. – С. 304.
9. Меньщикова, Е.Б. Патологические состояния и заболевания / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.
10. Мошкин, А.В. Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике / А.В. Мошкин, В.В. Долгов // Практическое руководство. «Медиздат» – 2004. – С. 216.
11. Мухин, Н.А. Пропедевтика внутренних болезней /Н.А. Мухин,

– М.: ГЭОТАР – Медиа, 2004. – 768 с.

12. Никитин, А.В. Тромбоземболия легочной артерии и тромбофилии: оптимизация диагностики и лечения / А.В. Никитин, П.В. Ипатов, А.Н. Фурсов, – Клин. мед. – 2006. – С. 21-42.

13. Оганов, Р.Г. Значение сердечнососудистых и других неинфекционных заболеваний – основа улучшения демографических ситуаций в России /Р.Г. Оганов, Г.Я. Масленникова // Кардиоваск. Тер. Профил. – 2005. – Т. 3, № 1. – С. 4–9.

14. Осипова, О.А. Диагностика интраоперационного инфаркта миокарда прихирургическойреваскуляризации / О.А. Осипова // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 3. – С. 44.

15. Ослонов, В.Н. Клиническая лабораторная диагностика. / В.Н. Ослонов, А.Р. Садыкова, Р.А. Абдулхаков, – М.: Мед. пресс-информ., – 2005. – 64 с.

16. Панченко, Е.П. Концепция атеротромбоза – основа патогенеза сердечно–сосудистых заболеваний. Основные направления антитромботической терапии./Е.П. Панченко, – РМЖ, – 2005.– С.433-440.

17. Панченко, Е.П. Возможности диагностики нарушений гемостаза и перспективные направления антитромботической терапии при ишемической болезни сердца /Е.П. Панченко, А.Б. Добровольский // Кардиология. – 2016. –С.4-10.

18. Папаян, Л. П. D-димер в клинической практике /Л.П. Папаян, Е.С. Князева, – М.: Инсайтполиграфик, 2002. –336с.

19. Потапенко, М.С. Маркер дестабилизации атеросклеротических бляшек (РАРР-А) и некроза миокарда (тропонин I) / М.С. Потапенко, С.Н. Гриценко // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2012. – № 3. – С. 391–395.

20. Рагино, Ю.И. Атерогенные окислительная и структурная модификации липопротеинов низкой плотности у мужчин с коронарным атеросклерозом / Ю.И. Рагино, Я.В. Полонская, Е.В. Семаева //

Кардиология. – 2007. – С. 14-19.

21. Рогачев, А.С. Диагностическое значение исследования крови на содержание сердечных тропонинов / А.С. Рогачев // Российский ветеринарный журнал. – 2015. – № 1. – С. 32-33.

22. Сайфутдинов, Р.Г. Современное состояние вопроса о биохимических маркерах миокарда / Р.Г. Сайфудин // Практическая медицина. – 2003. – №2. – С. 4–5.

23. Смолянинов, А.Б. Клинико-лабораторная и функциональная диагностика внутренних болезней./ А.Б. Смолянинов, – Издательство: «Спец.Лит», – 2009. – 143с.

24. Староверов, И.И. Тропонины в кардиологии / И.И. Староверов, А.А. Короткова, В.Н. Титов // Кардиология. Научно-практический журнал, – 2002. – № 4.– С. 122.

25. Терентьев В.П. Болезни сердца и сосудов / В.П. Терентьев, М.М. Батюшкин, – М: "Эксмо"–2004. С–28-34, 85-89.

26. Трифонов, И.Р. Биохимические маркеры некроза миокарда. Часть I. Общая характеристика биомаркеров / И.Р. Трифонов // Кардиология. – 2001. – №16. – С. 10, 12, 93-97, 76-84.

27. Тиц, Н.У. Клиническое руководство по лабораторным тестам. / Н.У. Тиц, – М.: Юнимед-пресс. – 2013. – С. 67-68, 279-285, 291-294, 330-333, 472-474.

28. Трифонов, И.Р. Биохимические маркеры некроза миокарда. Часть II. Значение определения биомаркеров у больных с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST/ И.Р. Трифонов // Кардиология. – 2001. – №12. – С. 90–95.

29. Федоткина, Ю.А. Диагностическое и прогностическое значение D-димера в клинике внутренних болезней / Ю.А. Федоткина, А.Б. Добровольский, Е.С. Кропачева, –Тер. арх., 2003. – 669с.

30. Чазов, Е.И. Ишемическая болезнь сердца и возможности повышения эффективности её лечения / Е.И. Чазов // Клинические

исследования лекарственных средств в России. – 2001. – №1. – С. 24.

31. Чичкова, М.А. Актуальные проблемы диагностики и лечения кардиологических больных в Астраханской области на современном этапе / М.А. Чичкова // Астраханский медицинский журнал. – 2008. – №2. – С. 7–18.

32. Чукаева, И.И. Значение лабораторных показателей воспаления в оценке прогноза у больных острым инфарктом миокарда / И.И. Чукаева, Я.Г.Спирякина // Справочник заведующего КДЛ – 2016 . – № 3, С-6.

33. Швец, О.И. Сердечный тропанин I у больных инфарктом миокарда, динамика его содержания в крови и связь с объемами некроза / О.И. Швец, Н.А. Мазур, Б.М. Танхилевич // Кардиология. – 2013. – № 9. – С. 53–56.

34. Якуш, Н.А. Сердечные тропонины в клинической практике / Н.А. Якуш, Э.Ч. Шанцило, И.Э. Адзерихо И.Э. // Медицинские новости. – 2007. - №10. – С. 10–14.

35. Янковская, Л.В. Острый инфаркт миокарда в молодом возрасте /А.В. Янковская // Журнал ГрГМУ – 2009. –Т.1, № 1

36. Apple, F.S. A new season for cardiac troponin assays: it's time to keep a scorecard// Clin. Chem. – 2009. P. 1303–1306.

37. Biasucci, L. M. Clinical use of C-reactive protein for the prognostic stratification of patients with ischemic heart disease. / G. Liuzzo, C. Colizzi, V. Rizzello // Italian heart journal : official journal of the Italian Federation of Cardiology. — 2001. — Vol. 2. — P. 164–171.

38. Danesh, J. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses / J. Danesh, P. Whincup, M. Walker, L. Lennon, A. Thomson, P. Appleby, J. R. Gallimore, M. B. Pepys // BMJ — 2000. — Vol. 321.— P. 199–204.

39. Dempfl, C.E. The fi brin assay comparison trial (FACT): Correlation of soluble fi brin assays with D-dimer / C.E. Dempfl , S. Zips, H. Ergul // Ibid. 2001. – P. –1204-1209.

40. Donald, D. Diagnosis and Management of Myocardial Ischemia in the Elderly Patient / D. Tresch, R. Haritha // *Am. J. GeriatrCardiol.* –2001. – Vol. 10. – P. 337 -344.
41. Fancher, T.L. Combined use of rapid D-dimer testing and estimation of clinical probability in the diagnosis of deep vein thrombosis: systematic review / T.L. Fancher, R.H. White, R.L. Kravitz // *BMJ.* – 2004– P– .329.
42. Feldma, D.N. Prognostic value of cardiac troponin-I ortroponin-televation following nonemergent percutaneous coronary intervention / D.N. Feldma // *Catheter. Cardiovasc. Interv.* – 2011. – Vol. 77. N. 7. – P. 1020–1030.
43. Folsom, A. Prospective study of hemostatic factors and incidence of coronary heart disease: The atherosclerosis risk in communities / K. Wu, W. Rosamond // (ARIC) study. *Circulation.* – 2007. – P. 1102-1108.
44. Gaze, D. C. Multiple molecular forms of circulating cardiac troponin: analytical and clinical significance /D. C. Gaze, P.O. Collinson // *Ann. Clin. Biochem.* – 2008. –P. 349-355.
45. Hall, C. Essential biochemistry and physiology of NTproBNP // C. Hall, *Eur. J. Heart Fail.* – 2004. – Vol. 6. – P. 257–260.
46. Hamm, C.W. Acute Coronary Syndromes: Pathophysiology, Diagnosis and Risk Stratification. The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine / C.V. Hamm, C. Heeschen, E. Falk, K.A. Fox // Oxford. Blackwell Publishing Ltd. – 2006. – P. 333–365.
47. Hartman, F. Biochemical Markers in the diagnosis of coronary artery disease /F. Hartman, N. Frey // *Eur Heart J.* – 2008. – Vol. 19. - P. 27.
48. Katrukha, A.G., Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex/ A.G. Katrukha, A.V. Bereznikova, T.V. Esakova T.V. // *Clin Chem.* – 2007. – P. 1379–1385.
49. Katus, H. A. Interpreting Changes in Troponin /H.A. Katus, E. Giannitsis, A.S. Jaffe // *Clinical Judgment Is Essential Clinical Chemistry* –

2012. – P. 39–44.

50. Kearon, C. An Evaluation of D-dimer in the Diagnosis of Pulmonary Embolism. / C. Kearon, J.S. Ginsberg, J. Douketis // *Annals of Internal Medicine*. – 2006. –P. 812-821.

51. Komarov, A. D-dimer and platelet aggregability are related to thrombotic events in patients with peripheral arterial occlusive disease / A.Komarov, E. Panchenko, A. Dobrovolsky // *Eur Heart J*. –2002. – P.1309-1316.

52. Koukkunen, H. C-reactive protein, fibrinogen, interleukin-6 and TNF-alpha in the prognostic classification of unstable angina pectoris / K. Penttila, A. Kemppainen, et al. // *Ann Med*. 2001 – P. 37-47.

53. Labugger, R. Extensive troponin I and Tmodification detected in serum from patients with acute myocardial infarction/ L. Organ , C. Collier // *Circulation*. – 2010. –102(11). – P. 1221-1226.

54. Lee, V.L. The relationship of soluble fi brin and cross-linked fi brin degradation products to the clinical cours of myocardial infarction./ V.L.Lee // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2017. –P. 628-633.

55. Lowe ,G.D. Fibrin D-dimer, von Willebrand factor and tissue plasminogen activator antigen are predictors of major ischemic heart disease: the Caerthilly study/ G.D. Lowe, A. Rumley, J.W. Yarnell // *Blood Coagul. Fibrinolys*. – 1995. – P. 156-157.

56. Marcucci, R. Markers of hypercoagulability and inflammationpredict mortality in patients with heart failure / R. Marcucci, A.M. Gori, F. Giannotti // *J. Thromb. Haemost*. –2006. – P. 1017-1022.

57. McDonough, J.L. Developing the next generation of cardiac markers: disease-induced modifications of troponin I / Van Eyk J.E.// *ProgCardiovasc Dis*. – 2004. – P. 207-216.

58. Nishikimi, T. The role of natriuretic peptides in cardioprotection /. N. Maeda, H. Matsuoka // *Cardiovasc. Res*. – 2016. – Vol. 69. – P. 318–328.

59. Paramo, J.A. Validation of plasma fibrinogen as a marker of

carotid atherosclerosis in subjects free of clinical cardiovascular disease / O. Belouqui, C. Roncal, et al. // *Hematology*. 2014 —. P. 1226-1231.

60. Pepys, M. B. Targeting C-reactive protein for the treatment of cardiovascular disease. / G. M. Hirschfield, G. A. Tennent, J. R. Gallimore, M. C. Kahan, V. Bellotti, P. N. Hawkins, R. M. Myers, M. D. Smith, A. Polara, A. J. Cobb, S. V. Ley, J. A. Aquilina, C. V. Robinson, I. Sharif, G. A. Gray, C. A. Sabin, M. C. Jenvey, S. E. Kolstoe, D. Thompson, S. P. Wood // *Nature*. — 2016. — Vol. 440. — P. 1217–1221.

61. Ridker, P. M. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. / J. E. Buring, J. Shih, M. Matias, C. H. Hennekens // *Circulation*. — 2016. — Vol. 98. — P. 731–733.

62. Rifai, N. High-sensitivity C-reactive protein: a useful marker for cardiovascular disease risk prediction and the metabolic syndrome. // *Clinical chemistry*. — 2005. — Vol. 51, no. 3. — P. 504–505.

63. Roivainen, M. Infections, inflammation, and the risk of coronary heart disease / M. Viik-Kajander, T. Palosuo, P. Toivanen, M. Leinonen, P. Saikku, L. Tenkanen, V. Manninen, T. Hovi, M. Mänttari // *Circulation*. — 2000. — Vol. 101. — P. 252–257.

64. Sheikh, A. S. C-reactive Protein as a Predictor of Adverse outcome in Patients with Acute Coronary Syndrome. / S. Yahya, N. S. Sheikh, A. A. Sheikh // *Heart views : the official journal of the Gulf Heart Association*. — 2012. — Vol. 13 — P. 7–12.

65. Steinberg, D. The LDL modification hypothesis of atherogenesis: an update. *J Lipid Res*. 2009. — P. 376-381.

66. Stocker, R., New insights on oxidative stress in the artery wall. / R. Stocker // *J Thromb Haemost*. 2005. — P. 1825-1834.

67. Vanderheyden, M., Brain and other natriuretic peptides: molecular aspects / J. Bartunek // *Eur. J. Heart Fail*. — 2004. — Vol. 6. - P. 261–268.

68. Wakai, A., Role of fibrin D-dimer testing in emergency medicine /

A. Gleeson, D. Winter // EmergMed J 2003. – P. 319–325.

69. William, P. Vascular Functions of the Plasminogen Activation System /P. William // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2017. – Vol. 27. – P. 1231-1237.

70. Xu, Q. Development of lateral flow immunoassay system based on superparamagnetic nanobeads as labels for rapid quantitative detection of cardiac troponin III/ Q. Xu // Mater Sci Eng C. 2016. – V.29. – P.702-707.

71. Wenger, N.K. Emerding clinical role of ranolazine in the management of angina. Ther Clin Risk Manag 2016. – V.6. – P. 517-530.

72. Wolff, A.A. A controlled trial a novel anti-ischemic agent, ranolazine, in chronic stable angina pectoris that is responsive to conventional antianginal agents // Ranolazine Study Group. Am J Cardiol 2015. V 4, P. 46-50.

73. Wijns, W. Hibernating myocardium./ W. Wijns, N. Engl, – J. Med., 2015. – V. 339. – P. 173-81.

74. Yusuf S. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries case-control study /S. Yusuf // Lancet. 2014/ – P. 937-952.

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки
06.04.01 Биология
Магистерская программа
«Биохимия и молекулярная биология»

Утверждаю:
Зав. кафедрой
 Г.А. Карпова
« 10 » 11 2015 г.

Задание

По ВКР студента Бражниковой Марии Алексеевны

Тема работы: «Система биохимического мониторинга тяжести состояния
больных с инфарктом миокарда: ранние и поздние кардиомаркеры»

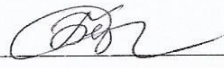
Утверждена приказом по Университету от «30» октября 2015 г. № 1168/0

Срок сдачи студентом законченной работы «22» мая 2017 г.

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН ВКР

№ п/п	Перечень подлежащих разработке вопросов:	Сроки выполнения этапов	Примечания
1	Написание Главы 1. Обзор литературы	декабрь 2015- май 2016	Выполнено
2	Проведение исследований на базе ФГБУЗ МСЧ-59 ФМБА России	май - октябрь 2016	Выполнено
3	Оформление и обработка экспериментальных данных	октябрь – ноябрь 2016	Выполнено
4	Написание Главы 2. Материалы и методы исследование, написание Главы 3. Результаты и их обсуждение	ноябрь 2016- апрель 2017	Выполнено
5	Оформление ВКР и представление в комиссию для защиты	апрель -июнь 2017	Выполнено

Дата выдачи задания «10» ноябре 2015 г.

Руководитель  Н.В.Безручко

Задание принял к исполнению 