



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **55710** (13) **U**  
(51) МПК-2011.01  
**G01N 33/48**  
**G01N 33/52**  
**A61B 5/02**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ В ХВОРИХ НА РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ, ПОЄДНАНИЙ З ГІПЕРТОНІЧНОЮ ХВОРОБОЮ**

1

(21) u201006343  
(22) 25.05.2010  
(24) 27.12.2010  
(46) 27.12.2010, Бюл.№ 24, 2010 р.  
(72) ШИШКОВА КАТЕРИНА ВАСИЛІВНА, КОЛЧИН  
ЮРІЙ МИКОЛАЙОВИЧ  
(73) ШИШКОВА КАТЕРИНА ВАСИЛІВНА, КОЛЧИН  
ЮРІЙ МИКОЛАЙОВИЧ  
(57) Спосіб оцінки ендотеліальної дисфункції в  
хворих на ревматоїдний артрит, поєднаний з гіпе-

2

ртонічною хворобою, що включає вивчення концен-  
трації неактивних метаболітів окису азоту в сироватці  
крові спектрофотометричним методом з ви-  
користанням реактиву Грісса, який **відрізняється**  
тим, що на основі змін концентрації окису азоту  
визначають наявність ендотеліальної дисфункції в  
хворих на ревматоїдний артрит, поєднаний з гіпе-  
ртонічною хворобою.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до способів діагностики внутрішніх хвороб.

Актуальність проблеми пов'язана з тим, що важливою складовою у переліку чинників, що ведуть до скорочення життя пацієнтів з ревматоїдним артритом (РА), є супутня гіпертонічна хвороба (ГХ). У патогенезі ГХ, провідне місце займає порушення функціонального стану ендотелію - ендотеліальна дисфункція (ЕД), яка проявляється зниженням ендотеліопосередкованої дилатації артерій, обумовленої дефіцитом ендотеліального окису азоту (NO). Порушення функції чи структури ендотелію різко змінює спектр продукуюваних ним біологічно активних речовин таким чином, що він стає ініціатором (чи модулятором) багатьох патологічних процесів в організмі. Отже, зміни рівня NO в організмі хворого свідчать про зміни функціонального стану ендотелію і їхнє дослідження може бути використане для встановлення ступеня тяжкості патологічного процесу [Лапшина Л.А. Значение определения нитритов - нитратов как маркеров дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистой патологии //Л.А. Лапшина, П.Г. Кравчун, А.Ю. Титова [и др.] //Український медичний часопис. - 2009. - № 6 (74). - С. 49-53], прогнозування його перебігу чи для оцінки коригуючої терапії в хворих на РА поєднаний з ГХ.

Існує спосіб оцінки ЕД по судинодвигальній функції ендотелію [Yeung A.C. The effect of

atherosclerosis on the vasomotor response of coronary arteries to mental stress. /A.C. Yeung, Vekshtein V.I., Krantz D.S. [et al.] //N Eng J Med. - 1991. - Vol. 325. - P. 1551-1556], який оснований на вимірюванні діаметру судини й течії крові по ній при коронарографії під час дії ендотелію залежного стимулу (проба з ацетилхоліном чи психоемоційний стрес). Недоліком цього способу є те, що коронарографічне дослідження - інвазивний, доволі коштовний та не завжди доступний спосіб, окрім того, його не можна використовувати для спостереження за змінами функції ендотелію, окрім цього, оцінка продукції NO в даному випадку може бути проведена тільки непрямим шляхом.

Тому були запропоновані неінвазивні способи оцінки ендотеліальної дисфункції. Наприклад спосіб, коли вимірюється діаметр плечової артерії за допомогою ультразвуку, в якості показника дисфункції ендотелію використовувалася різниця між реакцією на нітрогліцерин (ендотелію незалежна вазодилатація) і на реактивну гіперемію (ендотелію залежна вазодилатація) [Іванова О.В. Состояние эндотелийзависимой вазодилатации плечевой артерии у больных гипертонической болезнью, оцениваемое с помощью ультразвука высокого разрешения /О.В. Иванова, Т.В. Балахонova, Г.Н. Соболева [и др.] //Кардиология. - 1997. - № 7. - С. 41-45]. Інший відомий спосіб оцінки функціонального стану ендотелію, це венооклюзійна плетизмо-

(19) **UA** (11) **55710** (13) **U**

графія, що визначає величину кровотоку в периферичних артеріях [Panza J.A. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. //J.A., Panza, A.A. Quyyumi, J.E. Brush [et al.] //N Engl J Med. - 1990 - Vol.323. - P. 22-27]. Недоліком цих способів є те, що вони відображають ендотеліальну функцію великих судин та їх судинорухову реакцію, яка є сумою взаємодії ефектів різних вазоактивних речовин в певний короткий період часу і тільки непрямим шляхом можуть оцінювати вироблення окису азоту в організмі.

Досить досконало вирішується проблема діагностики ЕД у хворих на ГХ, коли порушення функції ендотелію визначають на основі змін концентрації неактивних метаболітів NO концентрація яких в сироватці крові визначається спектрофотометричним методом з використанням реактиву Грісса [Патент РФ №2159934, МПК G01N33/48, G01N33/52 Способ оценки состояния эндотелиальной функции у пациента /Лямина Н.П., Сенчихин В.Н. - № 99126196. Заявл. 14.12.1999; Опубл. 27.11.2000. бюллетень "Изобретения. Полезные модели"]. Цей спосіб є досить інформативним, тому що дозволяє досить точно оцінити продукцію NO шляхом визначення неактивних метаболітів окису в організмі, матеріал для дослідження - сироватку крові можна заморожувати і зберігати до вимірювання показників при  $t = -20^{\circ}\text{C}$ , однак спосіб використовувався в якості методу дослідження тільки в хворих на ГХ. Тому метою пропонованого нами методу є діагностика ЕД у хворих на РА поєднаний з ГХ за допомогою визначення неактивних метаболітів NO (нітратів та нітритів) в сироватці крові, для встановлення ступеня тяжкості патологічного процесу прогнозування його перебігу та для оцінки коригуючої терапії.

Суть корисної моделі полягає в тому, що виявлення змін рівня неактивних метаболітів NO, (збільшення чи зменшення) дозволить мати уявлення про порушення синтезу NO, який є найважливішим вазодилататором, що продукується ендотелієм, і зміни продукції якого є маркером ЕД. За допомогою запропонованого нами способу також можна оцінити ефективність антигіпертензивної терапії в хворих на РА поєднаний з ГХ.

При розробці корисної моделі було обстежено 38 хворих на РА поєднаний з ГХ віком від 34 до 56

років. З метою виявлення особливостей змін концентрації метаболітів NO в сироватці крові хворих на РА поєднаний з ГХ для порівняння нами було досліджено показники нітратів та нітритів в сироватці крові у 31 здорового добровольця, та на основі результатів дослідження встановлено регіональну референтну норму. З метою виявлення особливостей ендотеліальної функції у хворих на РА з ГХ для порівняння нами було досліджено вміст неактивних метаболітів NO у 32 пацієнтів з ГХ без РА.

Для виявлення ЕД вивчалася концентрація неактивних метаболітів NO нітритів ( $\text{NO}_2$ ) та нітратів ( $\text{NO}_3$ ). Оскільки  $\text{NO}_2$  є нестійким аніоном і легко окислюється до  $\text{NO}_3$ , для визначення суми метаболітів NO, нітрат-іон відновлювали за допомогою металевого кадмію, імпрегнованого міддю, до нітрит-іона, вміст якого визначали за допомогою реактиву Грісса - розчину сульфамідаміду та N(1-нафтил)етилендіаміну в 2,5% розчині ортофосфornoї кислоти, реакція дає пофарбований діазопроduct з максимумом поглинання при 548нм. Досліджуючи кров, її центрифугували протягом 15 хвилин (2000об/хв). Рівень суми метаболітів NO (нітритів/нітратів) в сироватці крові визначали кількісно спектрофотометрично при довжині хвилі 540нм, після побудови калібрувальної кривої для оптичної щільності стандартних розчинів  $\text{NaNO}_2$ . З метою виключення впливу медикаментозної корекції артеріального тиску на систему генерації NO, забір крові для дослідження проводили в перші дні перебування пацієнтів у стаціонарі, тобто до призначення планової антигіпертензивної терапії. При цьому всі хворі перебували в умовах однакової рухової активності і не приймали нітратвмісних препаратів, а також не споживали продуктів з багатим вмістом нітратів і нітритів.

В усіх хворих на РА в сполученні з ГХ були виявлені зміни досліджуваних показників в порівнянні з показниками регіональної референтної норми (див. табл.). Наприклад середній рівень  $\text{NO}_2$  в хворих на РА з ГХ становив  $6,3 \pm 0,33$  мкмоль/л, що на 40% перевищувало цей показник в здорових осіб, рівень  $\text{NO}_3$  був підвищеним на 46,4% і склав  $26,8$  мкмоль/л, сумарний показник неактивних метаболітів NO виявився підвищеним на 45,6%, порівняно з показником норми ( $P < 0,05$ ).

Таблиця

Метаболіти окису азоту у хворих на РА у сполученні з ГХ ( $M \pm \delta$ )

| Показники                            | Норма (n=31)    | Хворі ГХ (n=32) | Хворі РА з ГХ (n=38) | P        |
|--------------------------------------|-----------------|-----------------|----------------------|----------|
| $\text{NO}_2$ , мкмоль/л             | $4,5 \pm 0,62$  | $4,1 \pm 0,46$  | $6,3 \pm 0,33$       | $< 0,05$ |
| $\text{NO}_3$ , мкмоль/л             | $18,3 \pm 0,51$ | $16,2 \pm 0,31$ | $26,8 \pm 0,41$      | $< 0,05$ |
| $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ мкмоль/л | $22,8 \pm 1,13$ | $20,3 \pm 0,71$ | $33,1 \pm 0,74$      | $< 0,05$ |

Примітка: вірогідність різниці показників вирахована між показником групи та нормою при  $P < 0,05$ .

В групі хворих на ГХ також були зареєстровані зміни метаболітів NO, що проявлялися в зниженні вмісту  $\text{NO}_2$  в сироватці крові на 8,9% та  $\text{NO}_3$  на

11,5% в порівнянні з регіональною референтною нормою ( $P < 0,05$ ), сумарний рівень нітратів та нітритів в сироватці крові цієї групи пацієнтів склав в

середньому  $20,3 \pm 0,71$  мкмоль/л, що на 10,9% нижче за норму ( $22,8 \pm 1,13$  мкмоль/л).

Такі зміни рівнів  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$  та суми цих метаболітів відображають наявність ЕД як в хворих на РА поєднаний з ГХ, так і в хворих на ГХ без РА. Зміни вмісту  $\text{NO}$  в сироватці крові хворих з поєднаною патологією відображають участь гіперпродукції окису в патогенетичних механізмах аутоімунного процесу при РА.

Приводимо конкретні приклади використання заявленого способу.

#### Приклад 1.

Хвора В., 47 років, домогосподарка. З анамнезу - захворіла близько 15 років тому, через місяць після народження дитини. Діагноз: Ревматоїдний артрит, поліартрит, серонегативний варіант, гормонозалежна форма, активна фаза II, рентгенстадія II. Функціональна недостатність суглобів 2. Діагноз було встановлено через місяць після появи перших симптомів хвороби. Супутній діагноз: Гіпертонічна хвороба II стадії, 2 ступеня. Гіпертрофія лівого шлуночка. Серцева недостатність I. Функціональний клас пацієнта II. Тривалість захворювання 6 років. Хвора скаржилася на біль та обмеження рухів в суглобах кінцівок. Вранішня скованість продовжувалася близько 1 години. Також скаржилася на періодичні головні болі, запаморочення, перебої в роботі серця, інколи - прискорене серцебиття в стані спокою, підвищення артеріального тиску до 150/100 - 160/100 мм рт. ст.

При огляді очного дна виявлено гіпертонічна ангіопатія сітківки, за даними доплерехокардіографічного дослідження - помірна гіпертрофія лівого шлуночка. За результатами добового моніторування артеріального тиску усереднене значення

сistolічного артеріального тиску склало 145 мм рт. ст., для діастолічного артеріального тиску усереднене значення 90 мм рт. ст. Концентрація нітритів та нітратів в плазмі  $32,2$  мкмоль/л. Тоді як у здорових концентрація нітритів та нітратів в сиватці крові в середньому була  $22,8 \pm 1,13$  мкмоль/л.

#### Приклад 2

Хвора Т., 45 років, бухгалтер. З анамнезу - діагноз: Гіпертонічна хвороба II стадії, 2 ступеня. Гіпертрофія лівого шлуночка. Серцева недостатність I. Функціональний клас пацієнта II. Тривалість захворювання 6 років. Відмічає періодичні головні болі, прискорене серцебиття, запаморочення, підвищення артеріального тиску до 150/100 мм рт. ст.

При огляді очного дна виявлено: гіпертонічна ангіопатія сітківки, за даними доплерехокардіографічного дослідження - помірна гіпертрофія лівого шлуночка. За результатами добового моніторування артеріального тиску усереднене значення систолічного артеріального тиску склало 143 мм рт. ст., а для діастолічного артеріального тиску усереднене значення 90 мм рт. ст. Концентрація нітритів та нітратів в сироватці була  $19,1$  мкмоль/л. Тоді як у здорових концентрації нітритів та нітратів була  $22,8 \pm 1,13$  мкмоль/л.

Таким чином, наведені дані свідчать про ефективність заявленого способу оцінки ендотеліальної функції в хворих на РА поєднаний з ГХ за рахунок визначення вмісту метаболітів  $\text{NO}$  в сироватці крові. За необхідності спосіб дає можливість оцінити зміни ендотеліальної функції під впливом лікування. Спосіб може бути рекомендований для використання в клінічній практиці.