



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **56466** (13) **U**  
(51) МПК (2011.01)  
G01N 33/50

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ЕСЕНЦІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ, ПОЄДНАНУ З ОСТЕОАРТРОЗОМ**

1

(21) u201010816

(22) 08.09.2010

(24) 10.01.2011

(46) 10.01.2011, Бюл.№ 1, 2011 р.

(72) НИКУЛА ТАРАС ДЕНИСОВИЧ, БИЧКОВ ОЛЕГ  
АНАТОЛІЙОВИЧ, БИЧКОВА НІНА ГРИГОРІВНА,  
МОЙСЕЄНКО ВАЛЕНТИНА ОЛЕКСІІВНА

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

2

**(57)** Спосіб оцінки ефективності лікування хворих на есенціальну гіпертензію, поєднану з остеоартрозом, що включає дослідження крові, який **відрізняється** тим, що до та після лікування досліджують сироватку крові, визначають концентрацію та розмір циркулюючих імунних комплексів і, при збільшенні після лікування концентрації великомолекулярних та зменшенні середньо- та дрібномолекулярних циркулюючих імунних комплексів, оцінюють лікування як ефективне.

Корисна модель, що заявляється, належить до медицини, зокрема до терапії, кардіології, ревматології і призначена для оцінки ефективності лікування есенціальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом.

Численними дослідженнями доведено, що на даний час проблема серцево-судинних захворювань, зокрема есенціальної гіпертензії (ЕГ), що найбільш часто зустрічається, залишається однією із найважливіших в сучасній медицині. Особливе місце ця проблема посідає в Україні, де смертність від серцево-судинних захворювань становить понад 60% в структурі загальної смертності, а тривалість життя одна із найкоротших у Європі [1]. Зв'язок есенціальної гіпертензії (ЕГ) із захворюваністю і смертністю від серцево-судинної патології був чітко доведений у класичному Фремінгемському та багатьох інших дослідженнях. При зростанні рівнів систолічного і діастолічного артеріального тиску достовірно підвищується ризик виникнення інфаркту міокарда, інсульту, хронічної недостатності кровообігу, захворювань нирок, збільшується і загальна смертність.

В Україні за даними епідеміологічних досліджень встановлено, що підвищений артеріальний тиск (АТ) >140/90 мм.рт.ст. мають не менше 30% дорослого населення, що складає більше 10 млн. осіб і, таким чином, наша держава відноситься до країн з дуже високою поширеністю АГ. Разом з тим, в багатьох дослідженнях відмічаються суттєві коливання в рівнях розповсюдженості АГ та її ускладнень у різних регіонах України.

Оскільки в Україні у більшості хворих виявляють підвищений артеріальний тиск в середньому та старшому віці, то одним із основних супутніх захворювань в даному віковому періоді є патологія кістково-м'язової системи та сполучної тканини, яка суттєво впливає на стан захворюваності і особливо небезпечна своїми наслідками [2]. На ці захворювання страждає кожний п'ятий мешканець України, а найпоширенішим серед них є остеоартроз (ОА). Згідно з епідемічними обстеженнями в нашій країні це захворювання зустрічається у понад 3 млн. чоловік, а з первинними захворюваннями суглобів щороку реєструється понад 345 тисяч хворих. Встановлено, що жінки вдвічі частіше хворіють на остеоартроз. Від хвороб суглобів страждає 7% населення віком до 45 років, 30% - від 45 до 65 років, і 63% - старші 65 років. Отже, проблема поєднаної патології, а саме ЕГ та ОА є актуальною як внаслідок значної поширеності обох нозологічних форм, так і за рахунок недостатньо ефективних методів лікування. В значній мірі це зумовлено тим, що при ЕГ, обтяженій різними факторами ризику, зокрема наявністю хронічних вогнищ запалення, спостерігається потенціювання порушень ліпідного та вуглеводного обміну, ризик розвитку атеросклерозу, активація системи прозапальних цитокінів. В результаті поєднання патологічних процесів відбувається пошкодження ендотелію, який втрачає протизапальні, антиоксидантні, антитромбогенні властивості, внаслідок чого порушується перфузія крові та розвивається гіпоксія тканин [3].

(19) **UA** (11) **56466** (13) **U**

Однією з причин тяжкого перебігу захворювання у пацієнтів з есенціальною гіпертензією (ЕГ), поєднаною з остеоартрозом, є порушення стану імунної системи [4, 5]. Так, хворі на есенціальну гіпертензію мають підвищений рівень прозапальних цитокінів, таких як інтерлейкін ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-1, ІЛ-2, ФНП- $\alpha$ , С-реактивний протеїн (СРП) та підвищений рівень молекул адгезії, які впливають на стан мікроциркуляції, периферичну та каротидну гемодинаміку, сприяють погіршенню перебігу та виникненню ускладнень ЕГ з розвитком вторинної імунної недостатності [6]. Зміни в імунній системі характеризуються зниженням як абсолютної, так і відносної кількості Т-лімфоцитів, порушенням їх функціональної активності, що, в свою чергу, призводить до формування аутоімунного процесу з подальшим утворенням циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). Останні в залежності від їх розміру та активності фагоцитарної системи пацієнта можуть або знаходитись в циркуляції, або фіксуватись у тканинах ендотелію судин, а при приєднанні до антитіл (Ig M та Ig G), що входять до складу ЦІК, комплемента, викликати його активацію і, таким чином, сприяти запуску пошкоджуючого патологічного процесу, активність якого значно зростає при порушенні елімінації ЦІК із організму в результаті зниження фагоцитарної активності нейтрофілів та блокування патогенними ЦІК CD 2 та CD 3 рецепторів на Т-лімфоцитах [7].

Аналогічні зміни в імунній системі відбуваються і за наявності остеоартрозу (ОА), оскільки в останні роки доведена його імунологічна концепція [8]. Поєднання ж ОА, особливо поліостеоартрозу, із ЕГ викликає досить значні зміни функціонального стану імунокомпетентних клітин синовії та імунорегуляторні розлади, зокрема дисбаланс імунних факторів захисту та агресії, в тому числі протизапальних цитокінів у хрящі та синовіальній оболонці, вірогідне підвищення рівня циркулюючих імунних комплексів та зниження фагоцитарної активності нейтрофілів, внаслідок чого розвивається порушення елімінації ЦІК з організму [7, 9].

Найбільшу пошкоджуючу дію виявляють патогенні ЦІК середнього (середньомолекулярні з константою седиментації 11-19S) та малого (дрібномолекулярні з константою седиментації <11S) розміру, які утворюються при надлишку антигену та характеризуються тривалою циркуляцією та високою комплементактивуною здатністю [7].

Існуючі на даний час способи оцінки ефективності лікування хворих на есенціальну гіпертензію, поєднану з остеоартрозом, відсутні, а лише ЕГ або ОА без їх поєднання не дозволяють повною мірою оцінити результат проведеного лікування.

Так, відомий спосіб прогнозування та контролю ефективності лікування гіпертонічної хвороби, що включає біохімічне дослідження крові в процесі лікування, при якому як біохімічні критерії використовують активність хімази і  $\alpha$ -1-інгібітору протеаз ( $\alpha$ -1-ІП) у сироватці крові, за значенням яких до лікування прогнозують ефективність призначення інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту при активності хімази менш 11,3% і/або  $\alpha$ -1-ІП більш 7,4г/л, про ефективність лікування судять

при досягненні активності хімази нормального значення ( $11,3 \pm 2,3\%$ ) [10].

Проте даний спосіб лише забезпечує можливість прогнозувати ефективність призначення і-АПФ до лікування хворих на гіпертонічну хворобу, але не дозволяє адекватно оцінити ефективність лікування хворих на есенціальну гіпертензію при її поєднанні з остеоартрозом.

Відомий також і спосіб оцінки ефективності терапевтичного лікування при остеоартрозі [11], який включає забір крові з ліктьової вени хворих на щесерце, і за яким в сироватці крові визначають вміст оксипроліну методом амінокислотного аналізу під час терапевтичного лікування остеоартрозу і при вмісті оксипроліну 0,25-0,35% роблять висновок про ефективність терапевтичного лікування, при вмісті оксипроліну 0,35-0,50% роблять висновок про недостатню ефективність терапевтичного лікування, при вмісті оксипроліну від 0,50% та вище роблять висновок про неефективність терапевтичного лікування.

Проте даний спосіб дозволяє визначати лише ефективність терапевтичного лікування ОА по аналізу процесів катаболізму колагену за дослідженням оксипроліну в сироватці крові хворих з ОА, але не дає можливості оцінити ефективність лікування хворих на остеоартроз при його поєднанні з есенціальною гіпертензією.

З огляду на вищезазначене очевидно, що вирішення проблеми оцінки ефективності лікування хворих на есенціальну гіпертензію, поєднану з остеоартрозом, є надзвичайно актуальним.

Найближчим аналогом (прототипом) корисної моделі, що заявляється, є спосіб оцінки ефективності лікування по зміні концентрації ЦІК різного розміру у хворих з хронічним бронхітом [12].

Даний спосіб базується на визначенні в сироватці крові хворих на хронічний бронхіт ЦІК різного розміру та оцінці фагоцитарної активності моноцитів і по зміні даних імунологічних показників на фоні застосування диференційованої імунокорекції судять про ефективність проведеного лікування. На жаль, цей спосіб не може бути використаний для оцінки ефективності лікування хворих на ЕГ, поєднану з ОА, оскільки при даній патології моноцити як фагоцитуючі клітини мігрують із периферичної крові в осередок запалення - суглоби, а в крові залишається лише незначний їх відсоток [2, 8, 9].

Задача, яку вирішує корисна модель, що заявляється, полягає у створенні ефективного способу оцінки ефективності лікування хворих на ЕГ, поєднану з ОА, який би дозволив отримати найбільш достовірні дані, тобто був інформативним, більш простим у виконанні, швидким у плані проведення дослідження та не потребував значних коштів на реактиви.

Технічний результат, що досягається від вирішення задачі, полягає у підвищенні точності оцінки ефективності лікування за рахунок дослідження в сироватці крові концентрації циркулюючих імунних комплексів різного розміру із визначенням вмісту найбільш патогенних ЦІК середнього та малого розміру та можливості призначення в подальшому адекватної терапії ЕГ, поєднаної з ОА.

За доступними літературними даними такий спосіб оцінки лікування ЕГ, поєднаної з ОА, не відомий.

Поставлена задача досягається тим, що у відомому способі оцінки ефективності лікування, який включає дослідження крові, згідно корисної моделі до та після лікування досліджують сироватку крові, визначають концентрацію та розмір циркулюючих імунних комплексів і при збільшенні після лікування концентрації великомолекулярних та зменшенні середньо- та дрібномолекулярних циркулюючих імунних комплексів оцінюють лікування як ефективне.

Спосіб, що заявляється, здійснюється наступним чином.

Для проведення дослідження у хворого беруть кров із вени до та після лікування. Кров в кількості

2мл центрифугують при 1500об/хв. протягом 10 хвилин і після цього - знімають сироватку крові. Досліджувану сироватку розливають в 1, 2, 3 та 4 пробірки, як зображено на схемі. Для дослідження готують боратний буфер з pH=8,4; для чого до 55мл 1,24% розчину борної кислоти додають 45мл 1,9% розчину бури і доводять об'єм до 1л. На основі боратного буфера готують 2,5%, 3,75% та 7,0% розчини поліетиленгліколю (ПЕГ) - 6000. За допомогою 2,5% розчину ПЕГ визначають концентрацію великомолекулярних ЦІК, 3,75% - середньомолекулярних, 7,0% - дрібномолекулярних. Після приготування розчинів їх послідовно додають до сироватки крові в кількості, як зображено на схемі [13].

Схема постановки:

I пробірка	II пробірка	III пробірка	IV пробірка
Контроль	Дослідні		
0,1мл сироватки + 2,9мл боратного буфера	0,1мл сироватки + 0,2мл боратного буфера + 2,7мл ПЕГ 2,5% розчину	0,1мл сироватки + 0,2мл боратного буфера + 2,7мл ПЕГ 3,75% розчину	0,1мл сироватки + 0,2мл боратного буфера + 2,7мл ПЕГ 7,0% розчину

Після внесення до пробірок всіх інгредієнтів вміст перемішати. Проби інкубують 1 годину при кімнатній температурі, після чого проводять визначення концентрації ЦІК на спектрофотометрі при довжині хвилі 450нм у кюветі  $1 \times 1 \text{ см}^3$  за оптичною густиною відповідних зразків. Отриманий на спектрофотометрі результат відповідає концентрації ЦІК в одиницях екстинкції, а після його множення на тисячу - отримували кількість ЦІК в умовних одиницях в 100мл сироватки крові за формулою:

$\text{ЦІК} = (E_1 - E_0) \times 1000$ , де  $E_1$  - дослід,  $E_0$  - контроль.  
Конкретні приклади виконання.

#### Приклад 1

Хвора Д., 63 роки. Перебувала на стаціонарному лікуванні з діагнозом: Есенціальна гіпертензія II стадії. Остеоартроз, безвузлова форма, з переважним ураженням крупних суглобів, ФНС II ступеня. Хворіє на есенціальну гіпертензію протягом 9 років. У пацієнтки спостерігався 2-ий ступінь підвищення АТ - (САТ-170мм.рт.ст., ДАТ-105мм.рт.ст.). У даної хворої спостерігалася патологія судин сітківки - генералізоване звуження артерій та гіпертрофія лівого шлуночка (ТМШП за даними Ехо-КГ складала 12,5мм, ТЗСЛШ-12,0мм). Остеоартроз у пацієнтки носив клінічно маніфестний характер, уражались великі суглоби нижніх кінцівок - колінний суглоб зліва. У хворої спостерігалася безвузликова форма ОА, рентгенологічна стадія II, ФНС - II ступеня. Тривалість захворювання на ОА у даної пацієнтки складала 7 років. Пацієнтка не могла чітко назвати точну причину захворювання і його загострень, але в якості можливих причин вказувала переохолодження або механічне перенавантаження суглобів.

В імунограмі до лікування рівень циркулюючих імунних комплексів становив: середнього розміру - 55,8ум.од., малого - 25,6ум.од., великого розміру - 19,5ум.од. Після проведення комплексного лікування відмічалася покращення загального стану

пацієнтки, був досягнутий цільовий рівень АТ 135/85мм.рт.ст. на момент виписки із стаціонару. Імунограма після лікування: рівень середньомолекулярних ЦІК становив 35,4ум.од., дрібномолекулярних - 13,5ум.од., великомолекулярних - 51,6ум.од.

#### Приклад 2

Хвора Н., 52 роки. Перебувала на стаціонарному лікуванні з діагнозом: Есенціальна гіпертензія I стадії. Остеоартроз, безвузлова форма, з переважним ураженням крупних суглобів, ФНС I-II ступеня. Хворіє на есенціальну гіпертензію протягом 4 років. У пацієнтки спостерігався 2-ий ступінь підвищення АТ - (САТ-165мм.рт.ст., ДАТ-100мм.рт.ст.). Ураження органів-мішеней у даної хворої не спостерігалася: було відсутнє генералізоване звуження артерій сітківки, відсутня гіпертрофія лівого шлуночка (ТМШП за даними Ехо-КГ складала 9,7мм., ТЗСЛШ-9,4мм), рівень креатиніну складав 86,5мкмоль/л, а швидкість клубочкової фільтрації - 75,0мл/хв/1,73м<sup>2</sup>. Остеоартроз у пацієнтки носив клінічно маніфестний характер, уражались великі суглоби нижніх кінцівок - колінний суглоб з обох боків. У хворої спостерігалася безвузликова форма ОА, рентгенологічна стадія II, ФНС - I-II ступеня. Тривалість захворювання на ОА у даної пацієнтки складала 5 років. Пацієнтка не могла чітко назвати точну причину захворювання і його загострень.

В імунограмі до лікування рівень циркулюючих імунних комплексів становив: середнього розміру - 53,6ум.од., малого - 23,3ум.од., великого розміру - 25,5ум.од. Після проведення комплексного лікування відмічалася покращення загального стану пацієнтки, був досягнутий цільовий рівень АТ 135/85мм.рт.ст. на момент виписки із стаціонару. В імунограмі після лікування рівень середньомолекулярних ЦІК становив - 32,7ум.од., дрібномолекулярних - 12,2ум.од., великомолекулярних - 57,9ум.од.

Проведені дослідження після етапу лікування показують вірогідне зниження концентрації ЦІК малого та середнього розміру як найбільш патогенних чинників, та зростання ЦІК великого розміру, які елімінуються з організму через клітини Купфера і не зашкоджують пацієнту.

Статистична обробка отриманих результатів виконана на персональному комп'ютері з викорис-

танням пакету прикладних програм Microsoft XP "Excel".

По запропонованому способу було обстежено 120 хворих на есенціальну гіпертензію, поєднану з остеоартрозом, і отримані результати виявили високу інформативність запропонованого способу в порівнянні зі способом-прототипом (табл.1).

Таблиця 1

Зміни концентрації ЦІК різного розміру в динаміці лікування хворих на есенціальну гіпертензію, поєднану з остеоартрозом ( $M \pm m$ )

Досліджувані параметри	До лікування (n=120)	Після лікування (n=120)	P
ЦІК великого розміру, ум.од	19,54 $\pm$ 1,58	53,58 $\pm$ 4,26	<0,01
ЦІК середнього розміру, ум.од	58,32 $\pm$ 4,54	34,43 $\pm$ 2,25	<0,01
ЦІК малого розміру, ум.од	29,83 $\pm$ 1,61	12,68 $\pm$ 1,17	<0,01

Перевагою запропонованого способу є те, що визначення концентрації ЦІК різного розміру дозволяє оцінити стан організму хворого на есенціальну гіпертензію, поєднану з остеоартрозом. Запропонований спосіб є високоінформативним, не є трудомістким, виконання методики займає мало часу (всього 2 години), не потребує використання дорогих реактивів та обладнання.

Джерела інформації:

1. Руководство по кардиологии / под ред. В.Н. Коваленко. - Киев: Морион, 2008. - 1404с.

2. Коваленко В.Н. Остеоартроз. Практическое руководство / В.Н. Коваленко, О.П. Борткевич. - К.: Морион, 2003. - 448с.

3. Relation of C-reactive protein to oxidative stress and to endothelial activation in essential hypertension / S. Cottone, G. Mule, E. Nardi [et al.] // Am. J. Hypertens. - 2006. - Vol.19, №3. - P.313-318.

4. Соломатіна Л.В. Імунологічний статус та ремоделювання серця у хворих на артеріальну гіпертензію у поєднанні з запальною патологією внутрішніх органів / Л.В. Соломатіна // Вісник проблем біології і медицини. - 2005. - №4. - С.98-104.

5. Соломатіна Л.В. Особливості фагоцитарної реактивності нейтрофілів у хворих на артеріальну гіпертензію у поєднанні з запальною патологією внутрішніх органів / Л.В. Соломатіна // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2005. - Т.5, №4(12). - С.42-44.

6. Кулішов С.К. Значення прозапальних факторів для ускладненого перебігу гіпертонічної хвороби / С.К. Кулішов, Є.О. Воробйов, Л.В. Соломатіна // Укр. Мед. Часопис - 2007. - №4(60). - С.53-55.

7. Бирюков А.А. Патогенетическое значение циркулирующих иммунных комплексов у больных

с сочетанной хронической соматической патологией / А.А. Бирюков // Имунология та алергология. - 2007. - №2. - С.81-82.

8. Шуба Н.М. Пути оптимизации терапии остеоартроза нестероидными противовоспалительными препаратами: в центре внимания влияние на метаболизм хряща / Н.М. Шуба // Здоров'я України. - 2009. - №17(222). - С.40-43.

9. Bonnet C.S. Osteoarthritis, angiogenesis and inflammation / C.S. Bonnet, D.A. Walsh // Rheumatology. - 2005. - Vol.44, №1. - P.7-16.

10. Патент №38056, A G01N33/48, Спосіб прогнозування та контролю ефективності лікування гіпертонічної хвороби / Самохіна Л.Н., Гольдрін Є.М.; заявник та патентовласник Самохіна Л.Н., Гольдрін Є.М. №2000052922; заявл. 23.05.2000; опубл. 15.05.2001, Бюл. №4, 2001. - 6с.

11. Патент №84971, C2 МПК(2006) A61B10/00 G01N33/50, Спосіб оцінки ефективності терапевтичного лікування при остеоартрозі / Лисенко І.В.; заявник та патентовласник Національний науковий центр «Інститут кардіології імені академіка М.Д. Стражеска АМН України» №а200703123; заявл. 23.03.2007; опубл. 10.12.2008, Бюл. №23, 2008. - 6с.

12. Фролов В.М. Циркулирующие иммунные комплексы и фагоцитарная активность моноцитов у больных хроническим бронхитом при проведении иммунокоррекции / В.М. Фролов, Я.А. Соцкая // Украинский пульмонологический журнал. - 2003. - №3. - С.28-30.

13. Simple method of circulating immune complex detection in human sera by polyethylenglycol precipitation / V. Haskova, J. Kastik, L. Riha [et al.] // Immunol. Forsch. - 1977 - Bd. - 154. - №4. - P.399-486.