



УКРАЇНА

(19) UA (11) 56467 (13) U
(51) МПК (2011.01)
G01N 33/50МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ ЕСЕНЦІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ, ПОЄДНАНОЇ З ОСТЕОАРТРОЗОМ

1

2

(21) u201010818

(22) 08.09.2010

(24) 10.01.2011

(46) 10.01.2011, Бюл.№ 1, 2011 р.

(72) БИЧКОВА НІНА ГРИГОРІВНА, НИКУЛА ТА-
РАС ДЕНИСОВИЧ, БИЧКОВ ОЛЕГ АНАТОЛІЙО-
ВИЧ, МОЙСЕЄНКО ВАЛЕНТИНА ОЛЕКСІЇВНА(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ(57) Спосіб оцінки ступеня тяжкості есенціальної
гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом, що вклю-
чає дослідження крові, який відрізняється тим,
що в сироватці крові визначають концентрацію
циркулюючих імунних комплексів великого, серед-нього та малого розміру на спектрофотометрі при
довжині хвилі 450 нм, отримані результати вира-
жають в умовних одиницях за формулою:
$$ЦІК = (E_1 - E_0) \times 1000$$
, де ЦІК - циркулюючі імунні
комплекси; E_1 - дослід, одиниць екстинкції; E_0 -
контроль, одиниць екстинкції;і при зниженні концентрації ЦІК великого розміру
до $16,59 \pm 0,74$ умовних одиниць та збільшенні кіль-
кості ЦІК середнього розміру до $95,41 \pm 1,39$ умо-
вних одиниць та малого розміру до $54,18 \pm 1,03$ умо-
вних одиниць ступінь тяжкості есенціальної
гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом, оцінюють
як тяжкий.

Корисна модель, що заявляється, відноситься до галузі медицини, зокрема до терапії, кардіології, ревматології, клінічної імунології і призначена для оцінки ступеня тяжкості есенціальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом.

На даний час в Україні поширеність артеріальної гіпертензії (АГ), зокрема есенціальної гіпертензії (ЕГ), що найбільш часто зустрічається, та захворювань опорно-рухового апарату являє собою одну із найважливіших медико-соціальних проблем. 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 [1]. Разом з тим, в багатьох дослідженнях відмічаються суттєві коливання в рівнях розповсюдженості АГ та її ускладнень у різних регіонах України. При зростанні рівнів систолічного і діастолічного артеріального тиску достовірно підвищується ризик виникнення інфаркту міокарда, інсульту, хронічної недостатності кровообігу, захворювань нирок, збільшується і загальна смертність.

Серед захворювань опорно-рухового апарату одне із найважливіших місць посідає остеоартроз (ОА). Згідно чисельних досліджень поширеність ОА в загальній популяції складає від 6 до 10%, а щорічна захворюваність сягає 1%. В нашій країні ситуація з ОА не відрізняється від світових даних.

Згідно з епідемічними обстеженнями в Україні це захворювання зустрічається у понад 3 млн. чоловік, а з первинними захворюваннями суглобів щороку реєструється понад 345 тисяч хворих [2].

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 [1, 2]. В значній мірі це зумовлено тим, що при АГ, обтяжений 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].

Ефективність надання лікувально-профілактичної допомоги хворим на есенціальну гіпертензію (ЕГ), поєднану з остеоартрозом (ОА), визначається переважно повноцінною діагностикою захворювання та компетентним підбором методів лікування.

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 прозапаль-

(19) UA (11) 56467 (13) U

них цитокінів, таких як інтерлейкін ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-1, ІЛ-2, ФНП- α , 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, комплементу, 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 11-19 S) та малого (дрібномолекулярні з константою седиментації <11 S) розміру, які утворюються при надлишку антигену та характеризуються тривалою циркуляцією та високою комплементактивуючою здатністю [7].

Існуючі на даний час способи діагностики не можуть повною мірою достовірно оцінити ступінь тяжкості есенціальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом.

Так, відомий спосіб діагностики стадії гіпертонічної хвороби [10], що включає вимір рівня артеріального тиску, який відрізняється тим, що додатково визначають в сироватці крові вміст інсуліноподібного фактора росту - 1, при цьому 1-му ступеню артеріальної гіпертензії відповідає вміст інсуліноподібного фактора росту - 1 до $196,4 \pm 5,25$ нг/мл і нижче, 2-му ступеню - $163,7 \pm 4,74$ нг/мл і нижче, 3-му ступеню - $124,8 \pm 3,38$ нг/мл і нижче.

Проте даний спосіб лише частково дозволяє діагностувати стадію гіпертонічної хвороби, оскільки при наявності супутнього ОА він не дає можливості адекватно оцінити ступінь тяжкості перебігу поєднаної патології - ЕГ та ОА.

Відомий також спосіб диференційної діагностики остеоартрозу, що передбачає забір крові з ліктьової вени натщесерце, який відрізняється тим, що визначають в сироватці крові вміст хондроїтинсульфатів, і при вмісті хондроїтинсульфатів до 0,10 г/л роблять висновок про наявність 0 стадії остеоартрозу, при вмісті хондроїтинсульфатів 0,11-0,125 г/л роблять висновок про наявність 1 стадії остеоартрозу, при вмісті хондроїтинсульфатів 0,126-0,175 г/л роблять висновок про наявність 2 стадії остеоартрозу, при вмісті хондроїтинсульфатів 0,176-0,275 г/л роблять висновок про наявність 3 стадії остеоартрозу, при вмісті хондроїтинсульфатів 0,275 г/л та більше роблять висновок про наявність 4 стадії остеоартрозу [11].

Проте даний спосіб дозволяє визначати лише стадію ОА за вмістом хондроїтинсульфатів в сироватці крові хворих на ОА, але не дає можливості оцінити ступінь тяжкості поєднаної патології, тобто остеоартрозу при його поєднанні з есенціальною гіпертензією.

З огляду на вищезазначене очевидно, що вирішення проблеми оцінки ступеня тяжкості перебігу есенціальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом, є надзвичайно актуальним.

Задача, яку вирішує корисна модель, що заявляється, полягає у створенні ефективного способу оцінки ступеня тяжкості перебігу есенціальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом, який би дозволив чітко диференціювати ступінь тяжкості есенціальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом, був точним, інформативним, більш простим у виконанні, швидким у плані проведення дослідження, не потребував значних коштів на реактиви та дозволив отримати достовірні дані, які б сприяли адекватній та достовірній оцінці ступеню тяжкості поєднаної патології.

Технічний результат, що досягається при вирішенні задачі у запропонованому способі, на відміну від двох прототипів, наведених вище, полягає у отриманні можливості чітко диференціювати ступінь тяжкості есенціальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом, що дозволяє вчасно призначити хворому необхідний курс лікування, враховуючи ступінь тяжкості захворювання.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомих способах діагностики стадії гіпертонічної хвороби [10] та диференційної діагностики остеоартрозу [11], що включають визначення в сироватці крові вмісту інсуліноподібного фактора росту - 1 та хондроїтинсульфатів, згідно корисної моделі в сироватці крові визначають концентрацію та розмір циркулюючих імунних комплексів на спектрофотометрі при довжині хвилі 450 нм, отримані результати виражають в умовних одиницях за формулою:

$$\text{ЦІК} = (E_1 - E_0) \times 1000,$$

де ЦІК - циркулюючі імунні комплекси; E_1 - дослід, одиниць екстинкції; E_0 - контроль, одиниць екстинкції;

і при зниженні концентрації ЦІК великого розміру до $16,59 \pm 0,74$ умовних одиниць та збільшенні кількості ЦІК середнього розміру до $95,41 \pm 1,39$ умовних одиниць і малого розміру до $54,18 \pm 1,03$ умовних одиниць ступінь тяжкості есенціальної

гіпертензії поєднаної з остеоартрозом оцінюють як тяжкий.

Відмінною особливістю способу, що заявляється, є використання в якості маркера ступеня тяжкості перебігу захворювання концентрації циркулюючих імунних комплексів з різною молекулярною масою, які мають патогенетичне значення в перебігу і ЕГ, і ОА, дисбаланс яких в сторону переваги патогенних середньо- та дрібномолекулярних при дефіциті фізіологічних великомолекулярних призводить до наростання тяжкості перебігу захворювання, як ЕГ, так і ОА, а при поєднанні патології їх негативний вплив потенціюється.

За відомими літературними даними такий спосіб оцінки ступеня тяжкості есенціальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом, не відомий.

Спосіб, що заявляється, здійснюється наступним чином:

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 перемішують. Проби інкубують 1 годину при кімнатній температурі, після чого проводять визначення концентрації ЦІК на спектрофотометрі при довжині хвилі 450nm 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 - отримують 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 С, 59р. 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 12 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 12,2мм, ТЗСЛШ - 11,8мм). Остеоартроз у пацієнтки носив клінічно маніфестний характер, уражались великі суглоби нижніх кінцівок - кульшовий суглоб зліва. У хворої спостерігалась 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.

В імунограмі рівень циркулюючих імунних комплексів становив: середнього розміру - 81,4ум. од., малого - 40,5ум. од., великого розміру - 22,5ум. од.

для проведення дослідження у хворого беруть кров (венозну або капілярну) в кількості 2мл. Кров 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 рН = 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 [12].

Приклад 2. Хворий А., 41р. Перебував на стаціонарному лікуванні з діагнозом: Есенціальна гіпертензія I стадії. Остеоартроз, безвузлова форма, з переважним ураженням крупних суглобів, ФНС I ступеня. Хворіє на есенціальну гіпертензію протягом 3 років. У пацієнта спостерігався 1 ступінь підвищення АТ - (САТ - 155мм рт. ст., ДАТ - 95мм рт. ст.). Ураження органів-мішеней у даного хворого не спостерігалось: 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/1,73м². Остеоартроз у пацієнта носив клінічно маніфестний характер, уражались великі суглоби нижніх кінцівок - колінний суглоб справа. У хворого спостерігалась безвузликова форма ОА, рентгенологічна стадія I, ФНС - I ступеня. Тривалість захворювання на ОА у даного пацієнта складала 4 роки. Пацієнт не міг чітко назвати точну причину захворювання і його загострень.

В імунограмі рівень циркулюючих імунних комплексів становив: середнього розміру - 58,2ум. од., малого - 17,9ум. од., великого розміру - 34,8ум. од.

Приклад 3. Хвора Ю, 84 р. Перебувала на стаціонарному лікуванні з діагнозом: Есенціальна гіпертензія III стадії. Постінфарктний (1996р.) кардіосклероз. Остеоартроз, безвузлова форма, з переважним ураженням крупних суглобів, ФНС II-III ступеня. Хворіє на есенціальну гіпертензію протягом 26 років. У пацієнтки спостерігався 3 ступінь підвищення АТ - (САТ - 185мм рт. ст., ДАТ - 110мм рт. ст.). Хвора перенесла інфаркт міокарда в 1996 році. Остеоартроз у пацієнтки носив клінічно маніфестний характер, уражались великі суглоби

нижніх кінцівок - кульшовий та колінний суглоби зліва. У хворої спостерігалась безвузликоса форма ОА, рентгенологічна стадія III, ФНС - II-III ступеня. Тривалість захворювання на ОА у даної пацієнтки складала 11 років.

В імунограмі рівень циркулюючих імунних комплексів становив: середнього розміру - 97,3ум. од., малого - 52,6ум. од., великого розміру - 16,4ум. од.

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). Контрольну групу склали 30 здорових осіб, яких співставляли за віком та статтю.

Таблиця 1

Концентрація ЦІК у хворих на есенціальну гіпертензію, поєднану із остеоартрозом, в залежності від стадії захворювання та ступеня функціональної недостатності суглобів ($M \pm m$, $n=120$)

Досліджувані параметри	Есенціальна гіпертензія I стадія		Есенціальна гіпертензія II стадія		Есенціальна гіпертензія III стадія	Контрольна група ($n=30$)
	ФНС I	ФНС II	ФНС I	ФНС II	ФНС II	
ЦІК великого розміру, ум. од	** * 36,27 \pm 0,91	** * 29,17 \pm 0,75	** * 27,18 \pm 0,74	** * 21,65 \pm 0,54	** * 16,59 \pm 0,74	51,70 \pm 3,17
ЦІК середнього розміру, ум. од	** * 59,72 \pm 1,35	** * 65,41 \pm 1,07	** * 74,39 \pm 1,12	** * 83,19 \pm 1,65	** * 95,41 \pm 1,39	34,54 \pm 2,02
ЦІК малого розміру, ум. од	** * 18,75 \pm 0,46	** * 24,39 \pm 0,61	** * 35,01 \pm 0,62	** * 43,91 \pm 0,57	** * 54,18 \pm 1,03	10,94 \pm 1,13

Примітка: * - $p < 0,05$ - достовірність різниці показників між ступенями функціональної недостатності суглобів (ФНС);

** - достовірність різниці показників відносно даних здорових осіб.

Отримані результати дослідження концентрації ЦІК різного молекулярного розміру співпали зі стадією хвороби, коли зростання тяжкості захворювання супроводжувалося підвищенням рівня патогенних ЦІК середнього та малого розміру.

Перевагою запропонованого способу є те, що він дозволяє чітко диференціювати ступінь тяжкості есенціальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом, є точним, інформативним, більш простим у виконанні, швидким у плані проведення дослідження, не потребує значних коштів на реактиви та дозволяє отримати достовірні дані, які сприяють адекватній та достовірній оцінці ступеню тяжкості поєднаної патології, дозволяє вчасно призначити хворому необхідний курс лікування, враховуючи ступінь тяжкості захворювання.

Джерела інформації:

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

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

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 //Імунологія та алергологія. - 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 № 33881, МПК (2006) G01N 33/00, Спосіб діагностики стадії гіпертонічної хвороби /Журавльова Л.В., Ковальова О.М.; заявник та патентовласник Журавльова Л.В., Ковальова О.М Харківський медичний університет, № U200804453; заявл. 08.04.2008; опубл. 10.07.2008, Бюл. № 13, 2008. - 6 с.

11. Патент № 79697, C2 МПК (2006) A61B 10/00 G01N 15/04 G01N 33/49, Спосіб диференційної діагностики остеоартрозу /Лисенко І.В.; заявник

та патентовласник Національний науковий центр «Інститут кардіології імені академіка М.Д. Стражеска АМН України» № a200511315; заявл. 29.11.2005; опубл. 10.07.2007, Бюл. № 10, 2007. - 4 с.

12. 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.