



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **101637**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2015 02610**

(22) Дата подання заявки: **23.03.2015**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.09.2015**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.09.2015, Бюл.№ 18**

(72) Винахідник(и):

**Шалімова Анна Сергіївна (UA),
Біловол Олександр Миколайович (UA),
Кочуєва Марина Миколаївна (UA),
Лінська Ганна Володимирівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ
ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ,
вул. Корчагінців, 58, м. Харків, 61176 (UA)**

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЕНДОТЕЛІЮ У ПАЦІЄНТІВ З КОМОРБІДНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ - ГІПЕРТОНІЧНОЮ ХВОРОБОЮ І ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ

(57) Реферат:

Спосіб оцінки функціонального стану ендотелію у пацієнтів з коморбідною патологією - гіпертонічною хворобою і цукровим діабетом 2 типу - включає визначення у крові імуноферментним методом концентрацій показників окислювального стресу - дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА), а також показника антиоксидантного захисту - каталази (Кат).

UA 101637 U

Корисна модель належить до галузі медицини і може бути використана у терапії, кардіології, ендокринології для оцінки функціонального стану ендотелію у пацієнтів з гіпертонічною хворобою та супутнім цукровим діабетом 2 типу.

Цукровий діабет 2 типу (ЦД 2т) є одним з головних незалежних факторів ризику серцево-судинної патології. Близько 75 % хворих на ЦД 2т помирають від серцево-судинних ускладнень (ССУ). Коморбідність гіпертонічної хвороби (ГХ) і ЦД 2т є особливо серйозною проблемою, що пов'язане з більш раннім розвитком ураження органів-мішеней і наступними серцево-судинними катастрофами [Дедов И.И. Сахарный диабет и артериальная гипертензия / И.И. Дедов, М.В. Шестакова. - М.: Мед. информационное агентство, 2006. - С. 74-75; Бойцов С.А. Структура факторов риска, пораженных органов-мишеней и метаболических изменений у больных артериальной гипертензией в различных возрастных группах / С.А. Бойцов, А.М. Уринский, Р.Л. Кузнецов, Ю.М. Поздняков // Кардиология. - 2009. - № 4. - С. 19-24].

До провідних факторів, які визначають частоту і вираженість ССУ при ЦД 2т, належать гіперінсулінемія та інсулінорезистентність (ІР). В даний час ІР розглядається не лише як спільний патогенетичний компонент розвитку ГХ і ЦД 2т, як провідна ланка у формуванні ускладнень при ЦД 2т, а також як один з механізмів патогенезу атеросклерозу, синдрому склерокістозних яєчників і деяких інших захворювань [Майоров А.Ю. Инсулинорезистентность в патогенезе сахарного диабета 2 типа/ А.Ю. Майоров// Сахарный диабет. - 2011. - № 1. - С. 35-43; Проворотов В.М. Феномен инсулинорезистентности: механизмы формирования, возможности диагностики и способы коррекции на современном этапе/ В.М. Проворотов, Е.С. Дробышева, М.Н. Бунина// Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. - 2014. - № 1. - С. 82-85].

На сьогоднішній день у науковій літературі не існує єдиного уявлення про механізми, за допомогою яких ІР викликає ураження стінок судин, проте, за даними різноманітних досліджень, сполучною ланкою між ІР, гіперінсулінемією і кардіоваскулярними захворюваннями, є дисфункція ендотелію [Smith D.O. Insulin resistance syndrome, prediabetes, and the prevention of type 2 diabetes mellitus / D.O. Smith, D. LeRoith // Clin. Cornerstone. - 2004. - Vol. 6. - № 2. - P. 7-16; Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/ S.M. Grundy, J.I. Cleeman, S.R. Daniels [et al] // Circulation. - 2005. - Vol. 112. - P. 2735-2752; Inflammation in the pathophysiology of essential hypertension / F. Montecucco, A. Pende, A. Quercioli [et al.] // J. Nephrol. - 2011. - Vol. 24. - P. 23-34]. Оpubліковані останнім часом результати клінічних та експериментальних досліджень свідчать про те, що ІР викликає порушення фізіологічних механізмів вазодилатації [Shoelson S.E. Inflammation and insulin resistance / S.E. Shoelson, J. Lee, A.B. Goldfine // J. Clin. Invest. - 2006. Vol. 116. - № 7. P.1793-1801; Inflammation in the pathophysiology of essential hypertension / F. Montecucco, A. Pende, A. Quercioli [et al.] // J. Nephrol. - 2011. - Vol. 24. - P. 23-34]. В той же час, результати клінічного дослідження KUNGSHOLMEN показали, що ІР при ЦД 2т нормалізується при нормалізації перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [Poh Z. X. Endocrine, Metabolic & Immune Disorders / Z.X. Poh, K.P. Goh // Drug Targets. - Dec. 2009. - Vol. 9. - Issue 4. - P. 392; Effect of alpha-lipoic acid on blood glucose, insulin resistance and glutathione peroxidase of type 2 diabetic patients / H. Ansar, Z. Mazloom, F. Kazemi [et al.] // Saudi Med. J. - 2011. - Vol. 32. - P. 584-588].

Загальноприйнятим методом оцінки стану судинної стінки є ультразвукове дослідження (УЗД) з вимірювання швидкості пульсової хвилі (ШПХ) у черевній аорті (ЧА) та товщини інтимамедіа (ТІМ) сонних артерій (СА) [Інструментальна діагностика уражень серця та судин у хворих на гіпертонічну хворобу, поєднану з ішемічною хворобою серця [Текст]: методичні рекомендації / МОЗ України [авт. М.Ю. Коломоєць, Є.І. Шоріков, О.С. Хухліна та ін.]. - К.: 2009. - 23 с.]. Проте для поглибленого розуміння змін, що відбуваються у судинній стінці, зазначених показників недостатньо.

Відомо, що найбільш точним способом діагностики функціонального стану ендотелію є оцінка ступеню ендотеліозалежної вазодилатації (ЕЗВД) у пробі з реактивною гіперемією. Дослідження проводиться лінійним широкосмуговим датчиком 5-12 МГц у доплерівському режимі з кольоровим картуванням тричі на лівій і правій плечових артеріях з 15-хвилинною перервою між пробами за методикою Celermajer D.S. у модифікації Іванової О.В. [Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction / Celermajer D.S., Sorensen K.E., Bull C. [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. - 1994. - Vol. 15. - № 24(6). - P. 1468-74; Определение чувствительности плечевой артерии к напряжению сдвига на эндотелии как метод оценки состояния эндотелийзависимой вазодилатации с помощью ультразвука высокого разрешения у больных артериальной гипертензией / О.В. Иванова, А.Н. Рогоза, Т.В. Балахонова [и др.] // Кардиология. - 1998. - № 3. - С. 37-42]. У нормі максимальна вазодилатація артерії повинна перевищувати 10 % від початкового діаметра.

Здатність інсуліну посилювати ЕЗВД значно порушується у пацієнтів з ІР, що призводить до зниження на 40-50 % вазодилатації, індукованої оксидом азоту.

Відомий також "Спосіб діагностики ремоделювання судин у хворих на артеріальну гіпертензію із супутнім цукровим діабетом II типу", який дозволяє оцінити зміни стінки судин великого калібру [Пат. 76691 Україна, МПК G01N33/483]. Даний спосіб полягає у проведенні доплерографічного дослідження судин великого калібру (правої загальної стегнової артерії та з 10-хвилинним інтервалом - правої загальної сонної артерії) з подальшим розрахунком індексів жорсткості та податливості зазначених артерій як маркерів, що відображують зміни судинної стінки.

Проте обидва зазначених способи вимагають тривалого часу для проведення і відповідної кваліфікації спеціаліста.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб оцінки функції ендотелію у пацієнтів з серцево-судинною патологією шляхом дослідження у крові продуктів метаболізму оксиду азоту - нітратів та нітритів (Значение определения нитритов - нитратов как маркеров дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистой патологии / Л.А. Лапшина., П.Г. Кравчун, А.Ю. Титова, О.В. Глебова // Український медичний часопис. - 2009. - № 6 (74). - С. 49-53). Зазначений спосіб дозволяє опосередковано оцінювати ЕЗВД, яка, переважною мірою, залежить від синтезу оксиду азоту.

Даний спосіб оцінки функціонального стану ендотелію є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю та результатом, який може бути досягнутим, тому його вибрано як найближчий аналог.

Основними недоліками найближчого аналогу є необхідність спеціальної підготовки пацієнта (за 2-3 доби до дослідження призначається дієта з виключенням нітратів екзогенного походження), а також залежність вмісту нітритів і нітратів від віку пацієнтів, що ускладнює інтерпретацію отриманих результатів. Крім того, зазначена методика не враховує зміни у стані судинної стінки, які вносить ІР - ключовий патогенетичний механізм розвитку ЦД 2т.

В основу корисної моделі, що заявляється, поставлена задача удосконалення способу діагностики функціонального стану ендотелію у пацієнтів з ГХ і супутнім ЦД 2т, в якому за рахунок зміни біохімічних показників, досягається можливість впровадження нових діагностичних маркерів, за рівнями яких можна буде оцінювати функціональний стан ендотелію.

Поставлена задача вирішується у способі оцінки функціонального стану ендотелію у пацієнтів з коморбідною патологією - гіпертонічною хворобою і цукровим діабетом 2 типу, в якому, згідно з корисною моделлю, здійснюють визначення імуноферментним методом у крові пацієнтів концентрацій показників окислювального стресу - дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА), а також показника антиоксидантного захисту - каталази (Кат), та при значеннях ДК $37,91 \pm 1,96$ (нмоль/мл), МДА $38,53 \pm 1,87$ (нмоль/мл), Кат $0,11 \pm 0,0003$ (од./мг. Нб хв.) діагностують ознаки порушення функціонального стану ендотелію.

Дані різноманітних досліджень свідчать про те, що активація вільнорадикальних окислювальних процесів і розвиток оксидантного стресу є одним з найважливіших патогенетичних механізмів серцево-судинних захворювань [Endothelial function in individuals with coronary artery disease with and without type 2 diabetes mellitus/ G. Reyes-Soffer, S. Holleran, M.R. Di Tullio [et al.] // Metabolism. - 2010. - Vol. 59 (9). - P. 1365-1371; Inflammation in the pathophysiology of essential hypertension / F. Montecucco, A. Pende, A. Quercioli [et al.] // J. Nephrol. - 2011. - Vol. 24. - P. 23-34]. Підвищена продукція вільних радикалів сприяє розвитку ендотеліальної дисфункції з порушенням співвідношення впливу вазоактивних речовин та факторів з перевагою вазоконстрикторних ефектів. Активність вільнорадикальних окислювальних процесів оцінюється за вмістом у сироватці крові проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ - ДК, МДА і шиффових основ. Ефективність антиоксидантного захисту оцінюється за змінами активності супероксиддисмутази, яка зв'язує активні форми кисню з утворенням перекису водню, глутатіонпероксидази, яка редукує ліпідні гідропероксидази за рахунок окислення глутатіону, глутатіонредуктази, яка відновлює глутатіон шляхом окислення НАДФН, та одного з основних антиоксидантних ферментів - Кат, яка деструє перекиси в ліпідні гідропероксидази [Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation / P. Dandona, A. Aljada, A. Chaudhuri [et al.] // Circulation. - 2005. - V. 111. - P. 1448-1454; Shimamoto K. Metabolic syndrome / K. Shimamoto, T. Miura // Nippon Rinso.-2009. - Vol. 67 (4). - P. 771-776].

Спосіб виконують наступним чином:

У хворих з ГХ II стадії, 2 ступеня і супутнім ЦД 2т, середньої тяжкості в стані субкомпенсації у крові імуноферментним методом визначають концентрації ДК, МДА і Кат. Якщо рівні ДК знаходяться в межах $37,91 \pm 1,96$ (нмоль/мл), МДА - в межах $38,53 \pm 1,87$ (нмоль/мл), а Кат - в

межах $0,11 \pm 0,0003$ (од/мг Нб хв), то діагностують ознаки порушення функціонального стану ендотелію. Ефективність способу підтверджена експериментально.

Ефективність способу ілюструє приклад:

На кафедрі терапії та нефрології Харківської медичної академії післядипломної освіти обстежено 157 пацієнтів з ГХ II стадії, 2 ступеня у сполученні з ЦД 2т середньої важкості, субкомпенсованим. Контрольна група складалася з 20 практично здорових осіб, у яких ГХ і ЦД 2т виключені на підставі комплексу клініко-інструментальних обстежень.

Для вивчення функціонального стану ендотелію всім пацієнтам проводилося визначення ступеня ЕЗВД у пробі з реактивною гіперемією. Дослідження проводили лінійним широкосмуговим датчиком 5-12 МГц у доплерівському режимі з кольоровим картуванням тричі на лівій і правій плечових артеріях з 15-хвилинною перервою між пробами за методикою Celermaier D.S. у модифікації Іванової О.В. Одночасно проводилося вимірювання ТІМ С А на 2 см проксимальніше біфуркації загальної СА. ШПХ у СА визначалася W-Track-методом (методом фазового трекінга, запатентованим виробниками сканера). Визначення ШПХ у ЧА (від устя лівої підключичної артерії до стегнової артерії) проводять з використанням фазованого датчика з частотою 2-4 МГц.

Шляхом проведення імуноферментного аналізу визначають концентрації ДК, МДА і Кат.

Отримані результати оброблялися методами варіаційної статистики з використанням комп'ютерної програми "STATISTICA".

Оцінка функціонального стану ендотелію у пацієнтів з ГХ і супутнім ЦД 2т показала зміни у стінці судин, які проявлялися збільшенням ТІМ і ШПХ у сонних артеріях і черевній аорті, а також зниженням ступеня ЕЗВД, що достовірно ($p < 0,001$) відрізняло основну групу від контрольної (таблиця 1).

Таблиця 1

Показники функціонального стану ендотелію у обстежених пацієнтів

Показники	ГХ+ЦД 2т, n=157	Контрольна група, n=20
ТІМ, мм	$0,92 \pm 0,007^*$	$0,64 \pm 0,016$
ШПХ СА, м/с	$8,82 \pm 0,12^*$	$5,97 \pm 0,146$
ШПХ ЧА, м/с	$8,92 \pm 0,09^*$	$6,27 \pm 0,15$
ЕЗВД, %	$6,39 \pm 0,09^*$	$13,03 \pm 0,22$

Примітка: * - різниця між основною і контрольною групами достовірна

Зазначені зміни можна пояснити активацією медіаторів симпатoadреналової та ренін-ангіотензин-альдостеронової систем, що призводить до пошкодження ендотелію, потовщенню комплексу інтима-медіа, перебудови архітекtonіки медії та адвентиція, збільшення ригідності судинної стінки, що супроводжується прискоренням пульсової хвилі.

Аналіз функціонування про- та антиоксидантної систем у пацієнтів з ГХ і супутнім ЦД 2т показав, що при зазначеній коморбідності мала місце активація прооксидантної системи при пригніченні системи антиоксидантного захисту, про що свідчили більш високі рівні ДК і МДА при низькому рівні Кат, за значеннями яких основна група достовірно ($p < 0,05$) відрізнялися від контрольної (таблиця 2).

Таблиця 2

Показники вільнорадикального окислення і антиоксидантної системи обстежених пацієнтів

Показники	ГХ + ЦД2т, n=157	Контрольна група, n=20
ДК, нмоль/мл	$37,91 \pm 1,96^*$	$14,22 \pm 0,87$
МДА, нмоль/мл	$38,53 \pm 1,87^*$	$27,21 \pm 1,14$
Кат, од./мг Нб хв.	$0,11 \pm 0,0003^*$	$0,14 \pm 0,001$

Примітка: * - різниця між основною і контрольною групами достовірна

Підтвердженням значення показників окислювального стресу і антиоксидантного захисту у розвитку порушень функціонального стану ендотелію є встановлені кореляції: прямі кореляції ДК і МДА з ТІМ ($r=0,56$; $p < 0,01$ і $r=0,58$; $p < 0,01$ відповідно), ШПХ у СА ($r=0,66$; $p < 0,001$ і $r=0,67$;

$p < 0,001$ відповідно), ШПХ у ЧА ($r = 0,62$; $p < 0,001$ і $r = 0,63$; $p < 0,001$ відповідно), та зворотні кореляції ДК і МДА зі ступенем ЕЗВД ($r = -0,67$; $p < 0,001$ і $r = -0,69$; $p < 0,001$ відповідно); прямі кореляції Кат зі ступенем ЕЗВД ($r = 0,66$; $p < 0,001$) та зворотні кореляції Кат з ТІМ ($r = -0,63$; $p < 0,001$), ШПХ у СА і ШПХ у ЧА ($r = -0,64$; $p < 0,001$ і $r = -0,61$; $p < 0,01$ відповідно).

5 Таким чином, результати проведеного дослідження свідчать про те, що запропонована корисна модель дозволяє практичному лікарю спростити оцінку функціонального стану ендотелію у пацієнтів з коморбідною патологією - ГХ і ЦД 2т без використання тривалих діагностичних інструментальних методик.

10 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб оцінки функціонального стану ендотелію у пацієнтів з коморбідною патологією - гіпертонічною хворобою і цукровим діабетом 2 типу, який **відрізняється** тим, що у пацієнтів з ГХ II стадії, 2 ступеня і супутнім ЦД 2т, середньої тяжкості в стані субкомпенсації у крові
15 імуноферментним методом визначають концентрації показників окислювального стресу - дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА), а також показника антиоксидантного захисту - каталази (Кат), та при значеннях ДК $37,91 \pm 1,96$ (нмоль/мл), МДА $38,53 \pm 1,87$ (нмоль/мл), Кат $0,11 \pm 0,0003$ (од./мг Нв хв.) діагностують ознаки порушення функціонального стану ендотелію.

20

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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

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