



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 77378

(13) U

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2012 09658**

(22) Дата подання заявки: **10.08.2012**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **11.02.2013**

(46) Публікація відомостей **11.02.2013, Бюл.№ 3**
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Никула Тарас Денисович (UA),
Бичков Олег Анатолійович (UA),
Бичкова Ніна Григорівна (UA),
Мойсеєнко Валентина Олексіївна (UA)**

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ,
бул. Шевченка, 13, м. Київ-4, 01601 (UA)**

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

(57) Реферат:

Спосіб оцінки ступеня тяжкості стадії артеріальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом включає дослідження крові. В сироватці крові визначають сироватковий вміст прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β) та інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), і при збільшенні їх рівня вище норми оцінюють ступінь тяжкості стадії артеріальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом.

UA 77378 U

Корисна модель належить до галузі медицини, зокрема до терапії, кардіології, ревматології, клінічної імунології, і призначена для оцінки ступеня тяжкості стадії артеріальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом.

На сьогодні про артеріальну гіпертензію можна говорити як про неінфекційну епідемію, що охопила населення всієї планети. Приблизно третина всього дорослого населення світу страждає від підвищеного артеріального тиску. Артеріальна гіпертензія посідає перше місце за внеском у смертність від серцево-судинних захворювань і формує основу для розвитку багатьох серцево-судинних захворювань і ускладнень. За результатами досліджень Міжнародного товариства по вивченню артеріальної гіпертензії близько 54 % всіх інсультів, 47 % випадків ішемічної хвороби серця (ІХС) і 25 % інших серцево-судинних захворювань обумовлені наявністю гіпертензії. У поєднанні з такими поширеними факторами ризику як дисліпідемія, надлишкова маса тіла, паління, гіподинамія артеріальної гіпертензії є причиною не менше 70-75 % всіх інсультів і 80-90 % випадків ІХС. Поєднання артеріальної гіпертензії та ІХС, яке зустрічається більше ніж у 60 % пацієнтів, значно підвищує ризик таких загрозливих для життя ускладнень, як інфаркт міокарду, інсульт, серцева недостатність. Поширеність артеріальної гіпертензії у молодому віці нижча, ніж у осіб похилого віку, але чим раніше вона розвивається, тим суттєвіше впливає на тривалість життя, зменшуючи його. Відомо, що очікувана тривалість життя чоловіка, у якого у віці 35 років рівень артеріального тиску 120/80 мм рт. ст., складає 76 років, в той час, як при значеннях 150/100 мм рт. ст. - лише 55 років (при відсутності лікування) [1].

Численними дослідженнями встановлено, що високий артеріальний тиск є причиною хронічного запалення [2], в результаті чого хворі на артеріальну гіпертензію мають підвищений рівень прозапальних цитокінів, таких як інтерлейкін (ІЛ) ІЛ-6, ІЛ-8, адгезивні молекули, ФНП- α , С-реактивний протеїн (СРП). Визначений вплив цих факторів на стан мікроциркуляції, периферичну та каротидну гемодинаміку, розвиток атеросклерозу [3, 4].

В експериментальних дослідженнях доведено, що підвищення артеріального тиску є достатнім стимулом для підвищення ендогенної продукції ФНП- α , а короточасне гемодинамічне перенавантаження тиском, а також пасивне розтягнення міокарду обумовлюють підвищення біосинтезу ФНП- α кардіоміоцитами [2, 3].

Серце є органом-мішенню для ФНП- α , що підтверджується підвищенням рівня цитокіну при патологічних станах, які супроводжуються дисфункцією лівого шлуночка. Кардіальне ураження високим артеріальним тиском активує імунокомпетентні клітини - макрофаги, лімфоцити, які починають продукувати надмірну кількість цитокінів, у тому числі ФНП- α . Підвищена концентрація цього цитокіну може впливати як на гіпертрофію кардіоміоцитів, так і на стан екстрацелюлярного матриксу серця. Підвищення рівнів ІЛ-6 та ФНП- α потенціює ефекти С-реактивного протеїну на пружність судин [4, 5].

Для хворих на артеріальну гіпертензію характерне підвищення утворення мононуклеарами ІЛ-1, посилення запальних процесів судин, підвищення ризику появи атеросклерозу, ішемічної хвороби серця [4, 6].

За даними чисельних дослідників встановлена роль ІЛ-1, ІЛ-2, ФНП- α , ІЛ-6 в перебігу та виникненні ускладнень при артеріальній гіпертензії, що сприяють розвитку атеросклерозу судин; підвищений сироватковий рівень прозапальних цитокінів - ІЛ-1 α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8 та ФНП- α з високою достовірністю сприяє погіршенню перебігу та виникненню ускладнень артеріальної гіпертензії з розвитком вторинної імунної недостатності. Підвищення рівнів СРП, ФНП- α та лейкоцитів сприяє переходу передгіпертензивного стану в артеріальну гіпертензію [4, 7, 8].

При прогресуванні артеріальної гіпертензії запальні процеси в судинах сприяють ураженню органів-мішеней [1].

Аналогічні зміни в імунній системі відбуваються і за наявності остеоартрозу (ОА), оскільки в останні роки доведена його імунологічна концепція. Поєднання ж остеоартрозу, особливо поліостеоартрозу, із артеріальною гіпертензією викликає досить значні зміни функціонального стану імунокомпетентних клітин синовії та імунорегуляторні розлади, зокрема дисбаланс імунних факторів захисту та агресії, в тому числі про- та протизапальних цитокінів у хрящі та синовіальній оболонці. На даний час не встановлено, що саме стимулює хондроцити продукувати надмірну кількість прозапальних цитокінів, а також характер цієї стимуляції, проте відомо, що при остеоартрозі виникає гіперпродукція ІЛ-1 та, в меншій мірі, ФНП- α - як в хрящі, так і в синовіальній оболонці. Зазначені цитокіни стимулюють синтез хондроцитами "мінорних" колагенів (I та III типу) та гальмують синтез колагенів II та X типу, і в такий спосіб призводять до неповноцінної репарації та подальшої деградації хряща. ІЛ-1 відіграє роль в активації проліферативних процесів, тобто утворенні остеофітів при остеоартрозі [9, 10, 11]. Цитокін ІЛ-6

не впливає безпосередньо на синтез протеаз, ПГ і матриксних білків, але стимулює утворення TIMPs у синовії та синтез гострофазових білків у печінці [9, 12].

Отже, проблема поєднаної патології, а саме артеріальної гіпертензії та остеоартрозу, є надзвичайно актуальною. Це зумовлено тим, що при артеріальній гіпертензії, 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 [6].

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

Так, відомий спосіб діагностики стадії гіпертонічної хвороби [13], 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 остеоартрозу він не дає можливості адекватно оцінити ступінь тяжкості перебігу поєднаної патології - артеріальної гіпертензії та остеоартрозу.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, вибраний як прототип, є 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 [14].

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

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

Задачею корисної моделі є створення ефективного способу оцінки ступеня тяжкості стадії артеріальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом, який би дозволив чітко диференціювати ступінь тяжкості артеріальної 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 конкретно моделлю при вирішенні задачі у запропонованому способі, на відміну від прототипу, наведеного вище, полягає у отриманні можливості точної оцінки ступеня тяжкості стадії артеріальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом, що дозволяє вчасно призначити хворому необхідний курс лікування, враховуючи ступінь тяжкості захворювання.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, який включає дослідження крові, згідно з корисною моделлю, досліджують сироватку крові, визначають сироватковий вміст прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β) та інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і при збільшенні їх рівня вище норми оцінюють ступінь тяжкості стадії артеріальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом.

Відмінною особливістю способу, що заявляється, є використання як маркера ступеня тяжкості поєднаної патології концентрації прозапальних цитокінів, які мають патогенетичне значення в перебігу як артеріальної гіпертензії, так і остеоартрозу, і зростання кількості яких призводить до погіршення перебігу захворювання як артеріальну гіпертензію, так і остеоартроз, а при поєднаній патології їх негативний вплив потенціюється.

За доступними літературними даними такий спосіб оцінки ступеня тяжкості стадії артеріальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом не відомий.

Спосіб, що заявляється, здійснюється наступним чином.

Для проведення дослідження у хворого беруть кров (венозну) до та після лікування в кількості 5 мл. Кров центрифугують при 1500 об/хв. протягом 10 хвилин і після цього - знімають сироватку крові. В досліджуваній сироватці крові до та після лікування визначають вміст ФНП- α , ІЛ-1 β та ІЛ-6 за допомогою сертифікованих в Україні наборів реагентів для імуноферментного аналізу Pro Con TOB "Протеиновый контур" (Росія).

Стандартний протокол аналізу.

1. В лунки планшета А1-Д1 вносять по 100 мкл стандартів ФНП- α , ІЛ-1 β та ІЛ-6 із відомою концентрацією, в лунку Е1 вносять 100 мкл буфера (нульовий стандарт, в решту лунок вносять по 100 мкл сироваток для тестування.

2. Інкують 1 годину при $t+37^{\circ}\text{C}$ при безперервному струшуванні.

3. Видаляють рідину із лунок, промивають лунки тричі біфосфатним буфером та двічі дистильованою водою.

4. В кожен лунку вносять по 100 мкл розчину вторинних антитіл.

5. Інкують 1 годину при $t+37^{\circ}\text{C}$ при безперервному струшуванні.

6. Видаляють рідину із лунок, промивають лунки тричі біфосфатним буфером та двічі дистильованою водою.

7. В кожен лунку планшета вносять по 100 мкл розчину кон'югату стрептавідину з пероксидазою хрину. Інкують 30 хвилин при $t+37^{\circ}\text{C}$ при безперервному струшуванні.

8. Видаляють рідину із лунок, промивають лунки тричі біфосфатним буфером та двічі дистильованою водою. Осушують планшет.

9. В усі лунки вносять розчин субстрату із фарбником. Інкують 20 хвилин при кімнатній температурі в місці, захищеному від прямих сонячних променів.

10. Зупиняють реакцію внесенням в кожен лунку по 50 мкл розчину сірчаної кислоти.

11. Виконують облік реакції за допомогою автоматичного фотометру при довжині хвилі 450 нм.

Конкретні приклади виконання.

Приклад 1

Хворий Л., 65 років. Перебував на стаціонарному лікуванні з діагнозом: Артеріальна гіпертензія II стадії. Остеоартроз, безвузлова форма, з переважним ураженням крупних суглобів, ФНС II ступеня. Хворіє на артеріальну гіпертензію протягом 12 років. У пацієнта спостерігався 2 ступінь підвищення АТ - (САТ-170 мм. рт. ст., ДАТ - 100 мм. рт. ст.). Спостерігалася наявність патології судин сітківки - генералізоване звуження артерій та гіпертрофія лівого шлуночка (ТМШП за даними Ехо-КГ складала 12,7 мм, ТЗСЛШ - 12,1 мм). Остеоартроз у пацієнта носив клінічно маніфестний характер, уражались великі суглоби нижніх кінцівок - колінні суглоби обох нижніх кінцівок. У хворого спостерігалась безвузликова форма ОА, рентгенологічна стадія III, ФНС - II ступеня. Тривалість захворювання на ОА складала 8 років. Пацієнт не міг чітко назвати точну причину захворювання і його загострень, але в якості можливих причин вказував на переохолодження або механічне перенавантаження суглобів.

В імунограмі рівень ФНП- α в сироватці крові - 137 пг/мл, рівень ІЛ-1 β -113 пг/мл, концентрація ІЛ-6-67 пг/мл.

Приклад 2

Хвора З., 47 років. Перебувала на стаціонарному лікуванні з діагнозом: Артеріальна гіпертензія I стадії. Остеоартроз, безвузлова форма, з переважним ураженням крупних суглобів, ФНС I-II ступеня. Хворіє на артеріальну гіпертензію протягом 5 років. У пацієнтки спостерігався 1 ступінь підвищення АТ - (САТ-150 мм. рт. ст., ДАТ - 95 мм. рт. ст.). Ураження органів-мішеней у даної хворої не спостерігалось: було відсутнє генералізоване звуження артерій сітківки, відсутня гіпертрофія лівого шлуночка (ТМШП за даними Ехо-КГ складала 9,7 тмм, ТЗСЛШ - 9,4 мм), рівень креатиніну складав 82,2 мкмоль/мл, а швидкість клубочкової фільтрації - 79,0 мл/хв/1,73 м². Остеоартроз у пацієнтки носив клінічно маніфестний характер, уражались великі суглоби нижніх кінцівок - колінний суглоб зліва. У хворої спостерігалась безвузликова форма ОА, рентгенологічна стадія II, ФНС - I-II ступеня. Тривалість захворювання на ОА у даної пацієнтки складала 3 роки. Пацієнтка не могла чітко назвати точну причину захворювання і його загострень.

В імунограмі рівень ФНП- α в сироватці крові - 95 пг/мл, рівень ІЛ-1 β -83 пг/мл, концентрація ІЛ-6-46 пг/мл.

По запропонованому способу було обстежено 148 хворих на артеріальну гіпертензію, поєднану з остеоартрозом, і отримані результати виявили високу інформативність запропонованого способу в порівнянні зі способом-прототипом (табл.). Контрольну групу склали 30 здорових осіб, співставляваних за віком та статтю.

Статистична обробка отриманих результатів виконана на персональному комп'ютері з використанням пакету прикладних програм Microsoft XP "Excel".

Отримані результати дослідження концентрації прозапальних цитокінів співпали зі стадією хвороби, коли зростання тяжкості захворювання супроводжувалося підвищенням їх рівня вище даних контрольної групи.

Зміни рівня прозапальних цитокінів у хворих на артеріальну гіпертензію, поєднану з остеоартрозом, наведено в табл.

Таблиця

Вміст прозапальних цитокінів у хворих на артеріальну гіпертензію, поєднану з остеоартрозом, в залежності від її стадії ($M \pm m$)

Досліджувані параметри	Артеріальна гіпертензія I стадія		Артеріальна гіпертензія II стадія		Контрольна група (n=30)
	АГ I ст. без ОА (n=37)	АГ I ст. + ОА (n=31)	АГ II ст. без ОА (n=42)	АГ II ст. + ОА (n=38)	
ФНП- α , пг/мл	71,9 \pm 4,1*	98,7 \pm 3,1* **	84,9 \pm 5,2*	112,4 \pm 7,5* **	42,31 \pm 2,12
ІЛ-1 β , пг/мл	63,4 \pm 3,5*	74,5 \pm 3,2* **	86,1 \pm 5,3*	104,8 \pm 9,3* **	39,42 \pm 1,97
ІЛ-6, пг/мл	13,1 \pm 1,6	45,3 \pm 4,6* **	22,8 \pm 2,4*	64,9 \pm 4,7* **	10,31 \pm 0,52

Примітка: * - $p < 0,05$ - достовірність різниці показників відносно даних контрольної групи;

** - $p < 0,05$ - достовірність різниці показників між групами хворих на АГ I стадії та АГ II стадії та їх поєднанні із ОА;

n - кількість обстежених хворих.

10 Перевагою запропонованого способу є те, що він дозволяє чітко диференціювати ступінь тяжкості стадії артеріальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом, є точним, високоінформативним завдяки використанню сертифікованих в Україні та доступних за ціною наборів реагентів виробництва ТОВ "Протеїновий контур" (РФ-СПб), більш простим у виконанні, швидким у плані проведення дослідження, дозволяє отримати достовірні дані, які сприяють адекватній та достовірній оцінці ступеня тяжкості поєднаної патології, дозволяє вчасно

15 призначити хворому необхідний курс лікування, враховуючи ступінь тяжкості захворювання. Джерела інформації:

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

2. Ковалева О.Н. Фактор некроза опухолей - α . Клиническое исследование активности при артериальной гипертензии / О.Н. Ковалева, Т.В. Ащеулова // Иммунологія та алергологія.-2002. - № 4. - С. 64-66.

3. Association between prehypertension status and inflammatory markers related to atherosclerotic disease: The ATTICA Study / C. Chrysoshoou, C. Pitsavos, D.B. Panagiotakos [et al.] // Am. J. Hypertens.-2004. - Vol. 17, № 7. - P. 568-573.

25 4. 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.

5. Simvastatin reduces interleukin-1 β secretion by peripheral blood mononuclear cells in patients with essential hypertension / S. Zhao, Q. Li, L. Liu [et al.] // Clin. Chim. Acta.-2004. - Vol. 344, № 1-2. - P. 195-200.

6. 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.

7. 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.

8. 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.

9. Ревматичні хвороби та синдроми / А.С. Свінцицький, О.Б. Яременко, О.Г. Пузанова, Н.І. Хомченкова. - К.: Книга плюс, 2006.-680с.

10. Коваленко В.Н. Остеоартроз. Практическое руководство / В.Н. Коваленко, О.П. Борткевич. - К.: Морион, 2003.-448с.
11. 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.
12. Bonnet C. S. Osteoarthritis, angiogenesis and inflammation / C. S. Bonnet, D.A. Walsh // Rheumatology. - 2005. - Vol. 44, № 1. - p. 7-16.
13. Патент № 33881, МПК(2006) G01 N33/00, 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.-6с.
14. 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" № а200511315; заявл. 29.11.2005; опубл. 10.07.2007, Бюл. №10, 2007.-4с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 20 Спосіб оцінки ступеня тяжкості стадії артеріальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом, що включає дослідження крові, який **відрізняється** тим, що в сироватці крові визначають сироватковий вміст прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β) та інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), і при збільшенні їх рівня вище норми оцінюють ступінь тяжкості стадії артеріальної гіпертензії, поєднаної з остеоартрозом.

Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

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

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