



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2006114637/15, 28.04.2006

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
28.04.2006

(43) Дата публикации заявки: 27.01.2008

(45) Опубликовано: 20.07.2008 Бюл. № 20

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: КЛУМБЕНЕ Ю. Динамика артериального давления и прогрессирование артериальной гипертензии: данные 20-летнего наблюдения детской когорты. - Кардиология. 2004, №2, с.30-34. SU 1183077 A1, 07.10.1985. RU 2266702 C2, 27.12.2005. US 6270461 B1, 07.08.2001. SIANI A. et al. Может ли предсказать противотранспорт натрия/лития в эритроцитах динамику изменений (см. прод.)

Адрес для переписки:

420034, г.Казань, ул. Декабристов, 127,
кв.65, А.Р.Садыковой

(72) Автор(ы):

Байкеев Рустем Фрунзевич (RU),
Садыкова Аида Рифгатовна (RU),
Шамкина Айгуль Робертовна (RU),
Гизятуллова Римма Ирековна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Байкеев Рустем Фрунзевич (RU),
Садыкова Аида Рифгатовна (RU),
Шамкина Айгуль Робертовна (RU),
Гизятуллова Римма Ирековна (RU)

(54) СПОСОБ ОЦЕНКИ РИСКА ПРОГРЕССИРОВАНИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ЖЕНЩИН

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, в частности к кардиологии, и может быть использовано для прогнозирования течения артериальной гипертензии (АГ). Сущность способа: готовят суспензию эритроцитов в буферном растворе и методом ³¹P-ЯМР определяют содержание аденозинтрифосфата (АТФ) и 2,3-дифосфоглицерата (ДФГ) эритроцитов в относительных единицах. В зависимости от

возраста женщин по прогностическим таблицам определяют процент риска утяжеления течения эссенциальной АГ в ближайшие 5 лет. Использование способа дает возможность регистрировать биохимические параметры энергетического метаболизма эритроцитов, что приводит к верификации медицинского прогноза. Также способ позволяет определить процент риска утяжеления течения эссенциальной АГ у женщин в ближайшие 5 лет. 1 табл., 1 ил.

(56) (продолжение):

давления крови? Семилетний срок изучения. Acta. cardiol. 1997, 52, №2, с.202-204. Найдено из БД VINITI.RU [найдено 01.11.2006]. [он-лайн]. OUWERKERK R. et al. Distribution of phosphorylated metabolites and magnesium in the red cells of a patient with hyperactive pumvate kinase. Blood. 1988, Oct; 72 (4), p.1224-1229. Найдено из БД PubMed, PMID 3167205. Найдено 01.11.2006. [он-лайн].



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

G01N 33/50 (2006.01)*G01N 33/48* (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2006114637/15, 28.04.2006**(24) Effective date for property rights: **28.04.2006**(43) Application published: **27.01.2008**(45) Date of publication: **20.07.2008 Bull. 20**

Mail address:

**420034, g.Kazan', ul. Dekabristov, 127,
kv.65, A.R.Sadykovej**

(72) Inventor(s):

**Bajkeev Rustem Frunzevich (RU),
Sadykova Aida Rifgatovna (RU),
Shamkina Ajgul' Robertovna (RU),
Gizjatullova Rimma Irekovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Bajkeev Rustem Frunzevich (RU),
Sadykova Aida Rifgatovna (RU),
Shamkina Ajgul' Robertovna (RU),
Gizjatullova Rimma Irekovna (RU)**

(54) **WAY OF RISK ESTIMATION WITHIN PROGRESSING WOMAN ARTERIAL HYPERTENSIA**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention can be used for forecasting of clinical course of arterial hypertension (AH). Erythrocyte suspension in buffer solution is made and ³¹R-nuclear magnetic resonance method is used to evaluate erythrocyte adenosine triphosphate (ATP) and 2,3-diphosphoglycerate (DPG) content in relative units. Depending on woman age, risk percentage of

severe clinical course of essential AH within next 5 years is estimated on basis of forecasting tables. Method application gives possibility to register biochemical parameters of a erythrocyte energy metabolism, that provides verification of medical forecast.

EFFECT: method enables to evaluate risk percentage of severe clinical course of essential AH within next five years.

1 tbl, 1 dwg

Изобретение относится к области медицины, в частности к кардиологии, к способам прогнозирования течения артериальной гипертензии (АГ).

Известен способ прогнозирования развития осложнений заболеваний почек при артериальной гипертензии на основании анализа факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и величины скорости натрий-литиевого противотранспорта.

При анализе с поправкой на влияние множества показателей относительный риск микроальбуминурии (экскреции альбумина с мочой 20-199 мкг/мин) составил при повышении систолического артериального давления (САД) на 18 мм рт.ст. у мужчин и женщин 2,51 и 2,10 соответственно.

Недостатком данного метода является прогнозирование риска развития осложнения АГ (почечной недостаточности), а не прогрессирования АГ у женщин (Микроальбуминурия у взрослых, не страдающих сахарным диабетом. Связь между артериальным давлением, индексом массы тела, уровнем холестерина плазмы и курением: популяционное исследование в Гьюббио. / M.Cirillo, L.Senigalliesti, M.Laurenzi, R.Alfieri et al. // JAMA, Россия - Том 2, № июль-август 1999).

Известен способ вычисления 10-летнего риска развития ССЗ у женщин на основании оценки наличия некоторых факторов риска ССЗ. Одним из важнейших факторов риска у женщин 40-65 лет признан повышенный и высокий уровень САД.

Недостатком данного метода является использование уровня артериального давления в качестве фактора риска ССЗ, а не в качестве объекта прогнозирования (Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. R.M.Conroya, K.Pyoralab, A.P.Fitzgeralda, S.Sansc et al, on behalf of the SCORE project group. // European Heart Journal, 2003, 24; 987-1003).

Наиболее близким, принятым за прототип является способ прогнозирования развития артериальной гипертензии в детской когорте на основании данных 20-летнего наблюдения, основанный на определении некоторых гемодинамических и антропометрических факторов.

Основным фактором, прогнозирующим АГ у женщин, явились уровень диастолического артериального давления (ДАД) в детстве с невысокими коэффициентами корреляции и возрастными ограничениями до 32-33 лет (в возрасте 12-13 лет - 0,24, в возрасте 25-26 лет - 0,41), а также изменения массы тела за 8 лет (с 25-26 лет до 32-33 лет).

Известный способ не может быть применен, так как исследование проводилось в молодой возрастной группе (от 12-13 до 32-33 лет), а обследуемая нами когорта женщин имеет средний возраст $45,99 \pm 6,49$ лет (Динамика артериального давления и прогнозирование артериальной гипертензии: данные 20-летнего наблюдения детской когорты / Ю.Клумбене, Ж.Милашаускене, И.Мисявичене, А.Шачкуте // Кардиология, 2004, 2, с.30-34).

Из перечисленных методов прогнозирования течения АГ можно заключить, что осуществляется либо прогнозирование риска развития осложнений АГ, либо риска возникновения АГ.

Фактически нет метода, позволяющего прогнозировать течение уже развившейся эссенциальной АГ.

Технический результат, на достижение которого направлено изобретение, заключается в регистрации биохимических параметров энергетического метаболизма эритроцитов, что приводит к верификации медицинского прогноза.

Клинический результат достигнут тем, что способ оценки 5-летнего риска прогрессирования артериальной гипертензии у женщин включает в себя определение содержания макроэргических полифосфатов аденозинтрифосфата (АТФ) и 2,3-дифосфоглицерата (ДФГ) в эритроцитах методом ^{31}P -ЯМР-спектроскопии и клинического проспективного обследования женщин через 5 лет, при этом использование предлагаемого способа не требует дополнительного проспективного обследования.

С помощью нелинейного регрессионного анализа по данным определения АТФ и ДФГ составляется прогностическая таблица, позволяющая по уровню определяемых

показателей прогнозировать риск прогрессирования АГ.

ЯМР-спектроскопия исследует переходы между магнитными энергетическими уровнями атомных ядер, вызываемыми радиочастотным излучением.

ЯМР - один из спектроскопических методов, способных давать информацию о структуре биополимеров, о взаимодействиях между молекулами и о молекулярном движении. Методом ЯМР могут быть отдельно исследованы различные атомы (^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P).

Для изучения макроэргических фосфатов и контроля pH при различных патологических состояниях широко применяется ЯМР-спектроскопия на ядрах ^{31}P , в частности, мозга (Brain death-induced alterations in myocardial workload and high-energy phosphates: a phosphorus 31 magnetic resonance spectroscopy study in the cat / G.J.Brandon Bravo Bruinsma [et al.] // J. Heart. Lung. Transplant. - 1998. - Vol.17. - N10. - P.984-990; Brain energy metabolism during hypoglycaemia in healthy and type 1 diabetic subjects / M.G.Bischof [et al.] // Diabetologia. - 2004. - Vol.47. - N4. - P.648-651), сердца (Функция и энергетическое состояние изолированного сердца крыс со спонтанной гипертензией / В.Л.Лакомкин, И.М.Студнева, О.И.Писаренко, А.Ю.Постнов, В.И.Капелько / Кардиология. - 2000. - 34 8. - С.53-61; Jeliex L.A. Intracellular free magnesium and high energy phosphates in the perfused normotensive and spontaneously hypertensive rat heart. A NMR study / L.A Jeliex, R.K.Gupta // Am. J. Hypertens. - 1991. - Vol.4. - N2. - Part 1. - P.131 -136), печени (Kokudo Y. ^{31}P -NMR study on the high energy phosphate metabolism in warm ischemic rat liver caused by hepatic artery and portal vein occlusion / Y.Kokudo, T.Maeba, S.Tanaka // Nippon. Shokakibyō. Gakkai. Zasshi. - 1991. - Vol.88. - N3. - P.698-705), скелетной мышцы (Disturbed energy balance in skeletal muscle of patient with untreated primary hypertension. / G.Ronquist, B.Soussi, G.Fritz et al. // J. Intern. Med. - 1995. - Vol.238. - P.167-174), эритроцитов (Intracellular pH in human and experimental hypertension / LM.Resnick, RK.Gupta, R.E.Sosa, M.L.Corbett // Proc. Natl. Acad. - 1987. - Vol.84. - P.7663-7667), однако данные исследования не нашли практического применения в клинической кардиологии.

На чертеже представлен типичный спектр ^{31}P ЯМР эритроцитов.

Площади сигналов ДФГ и АТФ подсчитывались с помощью специально разработанного пакета программ путем сопоставления с площадью сигнала от гексаметапола ($\text{C}_6\text{H}_{18}\text{N}_3\text{PO}$), 0,0153 мг/мл.

За 1 условную единицу принимался образец с минимальным количеством Эр ($3,76 \times 10^{12}/\text{л}$) (Эр_{st}). Содержание (С) ДФГ, АТФ определялось в 1 относительной единице (отн.ед.) Эр по формуле: $\text{C} = \text{P} / \text{Эр}_{\text{ex}} \cdot \text{Эр} / \text{Эр}_{\text{st}}$.

С целью сопоставления содержания ^{31}P (P) в различных пробах учитывалось количество Эр в пробах по формуле: $\text{C} = \text{P} : \text{Эр}_{\text{ex}} / \text{Эр}_{\text{st}}$.

Методом нелинейной множественной регрессии составляется уравнение (коэффициент детерминации - 25% при $r=0,07$):

Прогрессирование АГ = $6,45514 - 0,0755726 \cdot \text{ДФГ} - 0,172384 \cdot \text{АТФ} - 0,196156 \cdot \text{Лет} + 0,00184312 \cdot \text{ДФГ} \cdot \text{ДФГ} - 0,0162127 \cdot \text{АТФ} \cdot \text{АТФ} + 0,0015326 \cdot \text{Лет} \cdot \text{Лет} - 0,00795295 \cdot \text{ДФР} \cdot \text{АТФ} + 0,000671683 \cdot \text{ДФР} \cdot \text{Лет} + 0,0121032 \cdot \text{АТФ} \cdot \text{Лет}$.

Данные прогнозирования риска представляются в виде таблицы (табл.1) для конкретного возраста пациенток.

Практически метод осуществляется следующим образом.

Обследование больных проводилось на уровне I этапа двухэтапной схемы дифференциальной диагностики артериальных гипертензий [Г.Г.Арабидзе Симптоматические артериальные гипертонии. / В кн.: Болезни сердца и сосудов. Под ред Е.И.Чазова, М.: Медицина, 1992]. Повторное клиническое обследование проводилось через 5 лет после первичного.

Образцы эритроцитов (Эр) для ^{31}P ЯМР-спектроскопии готовились по методу R.Arkowitz с соавт. (1987). Кровь забиралась из вены самотеком в гепаринизированные тефлоновые

пробирки и тотчас центрифугировалась со скоростью 5000 оборотов в 1 мин в течение 10 минут. Надосадочная жидкость отбиралась для контроля гемолиза в пробе. Эритроциты 3 раза отмывались эквивалентным объемом изотонического 0,1М BIS-TRIS буфера (pH 7,4), содержащего 150 мМ хлорида натрия и 5 мМ глюкозы (среда А) в дистиллированной воде.

5 После этого к Эр добавлялась среда А, и объем суспензии доводился до 6 мл. Далее 1 мл суспензии отбирался в другую пробирку для подсчета Эр и контроля гемолиза, а к оставшемуся объему суспензии Эр добавлялась 1/9 часть аликвоты глицерина. Суспензия Эр с глицерином переливалась в пробирки диаметром 10 мм для ЯМР-спектроскопии, замораживалась и хранилась в жидком азоте. Перед ЯМР-спектроскопией образцы

10 размораживались.

Контроль гемолиза Эр проводился путем измерения экстинкции (Е) при длине волны $\lambda=543$ нм на спектрофотометре.

Определение АТФ и 2,3-БФГ в эритроцитах проводилось методом ^{31}P ЯМР-спектроскопии при 162 МГц на спектрометре при 310 К.

15

20

25

30

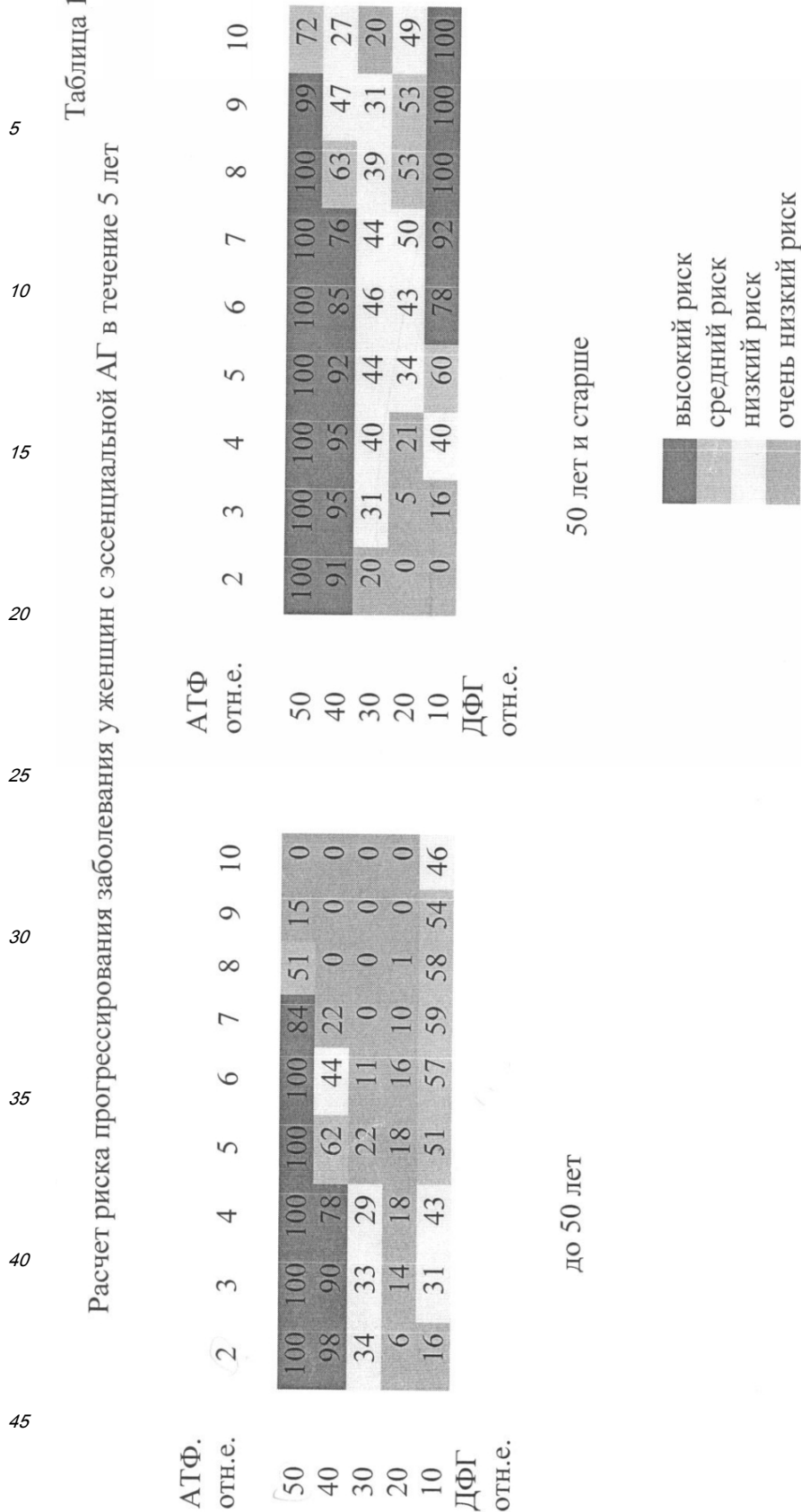
35

40

45

50

Таблица 1.
Расчет риска прогрессирования заболевания у женщин с эссенциальной АГ в течение 5 лет



Формула изобретения

Способ оценки риска прогрессирования артериальной гипертензии у женщин, отличающийся тем, что готовят суспензию эритроцитов в буферном растворе и определяют содержание макроэргических фосфатов аденозинтрифосфата (АТФ) и 2,3-

дифосфоглицерата (ДФГ) эритроцитов в относительных единицах методом ^{31}P -ЯМР, затем, в зависимости от возраста женщин, по прогностическим таблицам определяют процент риска утяжеления течения эссенциальной АГ в ближайшие 5 л.

5

10

15

20

25

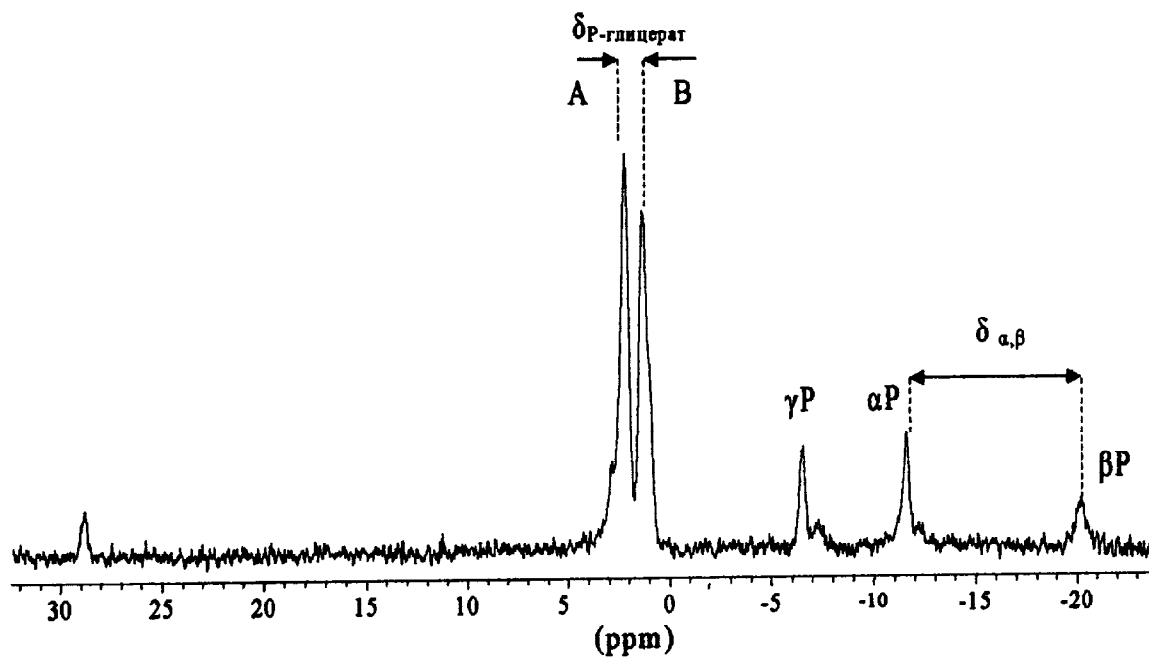
30

35

40

45

50



Типичный спектр ^{31}P ЯМР эритроцитов: А, 1-й пик ДФГ (3-Р); В, 2-й пик ДФГ (2-Р); αP , βP , γP , 3 пика АТФ; δ - химический сдвиг (ppm).