



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **120486** (13) **C2**
(51) МПК
G01N 33/50 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2018 12781</p> <p>(22) Дата подання заявки: 21.12.2018</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.12.2019</p> <p>(41) Публікація відомостей про заяву: 25.03.2019, Бюл.№ 6</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.12.2019, Бюл.№ 23</p> <p>(72) Винахідник(и): Висоцька Олена Володимирівна (UA), Немцова Валерія Данилівна (UA), Страшненко Ганна Миколаївна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ РАДІОЕЛЕКТРОНИКИ, пр. Науки, 14, м. Харків, 61166 (UA)</p>	<p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: RU 2236008 C1, 10.09.2004 Chen Yi-Chun et al. Oxidative markers in spontaneous intracerebral hemorrhage: leukocyte 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as an independent predictor of the 30-day outcome. Journal of Neurosurgery, 2011, Vol. 115, P. 1184–1190 Немцова В.Д. Стан оксидантної та антиоксидантної систем у хворих при поєднаному перебігу артеріальної гіпертензії, цукрового діабету 2 типу та гіпотиреозу. Український терапевтичний журнал, червень 2017, № 2, С. 67-72 Hata I. et al. Urinary oxidative stress markers in young patients with type 1 diabetes. Pediatrics International, 2006, Vol. 48, P. 58–61 Серік С.А. та ін. Стан антиоксидантної системи і рівень малонового діальдегіду у хворих на ішемічну хворобу серця та цукровий діабет 2 типу. ВІСНИК ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», 2016, Том 16, випуск 1 (53), С. 150-154 Немцова В. Д. та ін. Особливості змін антиоксидантного захисту в залежності від функціонального стану щитоподібної залози у пацієнтів різного віку з коморбідною патологією. Український журнал медицини, біології та спорту, 2018, Том 3, № 7 (16), С. 129-134 Немцова В.Д. Вплив гіпофункції щитовидної залози на рівень 8-гідрокси-2'-дезоксигуанозину як біомаркера окислювального ушкодження при коморбідних станах. Український терапевтичний журнал, 2018, № 3-4, С. 56-61</p>
--	--

UA 120486 C2

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ ТА СТУПЕНЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ

(57) Реферат:

Винахід стосується способу прогнозування розвитку та ступеня оксидативного стресу, який полягає в тому, що на підставі клініко-діагностичних ознак визначають рівень малонового діальдегіду та рівень тіолових груп в гемолізаті, за допомогою математичного апарата визначають рівень оксидативного стресу у пацієнтів з цукровим діабетом (ЦД), де додатково ураховують активність глутатіонпероксидази, 8-гідрокси-2'-дезоксигуанозин, інформацію щодо

вживання статинів, систолічний тиск та тиреотропний гормон, потім за регресійним рівнянням визначають у пацієнтів з артеріальною гіпертензією (АГ) та ЦД в поєднанні з субклінічним гіпотиреозом (СГ) на тлі статинотерапії ймовірність прогресування оксидативного стресу за формулою:

$$\hat{P} = [1 + \exp(4,229 X_1 - 2,530 X_2 - 0,059 X_3 + 0,871 X_4 + 3,380 X_5 - 0,149 X_6 - 0,611 X_7 + 29,490)]^{-1},$$

де \hat{P} - ймовірність прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ;

X_1 - рівень малонового діальдегіду (МДА), мкмоль/л;

X_2 - активність глутатіонпероксидази (ГПО), мккат/г Hb;

X_3 - SH-групи, мкмоль/л;

X_4 - 8-гідрокси-2-дезоксигуанозин (8-OH-dG), нг/л;

X_5 - вживання статинів (1 - не вживає; 2 - вживає);

X_6 - систолічний тиск, мм. рт. ст.;

X_7 - тиреотропний гормон, мЕд/л,

значення \hat{P} лежить в межах від 0 до 1, то чим ближче значення прогнозованої ймовірності до одиниці, тим вище ступінь оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ, якщо значення \hat{P} знаходиться в діапазоні від 0 до 0,5, робиться висновок, що у пацієнта не виражений оксидативний стрес, якщо \hat{P} перевищує 0,5 - оксидативний стрес у пацієнта з АГ та ЦД в поєднанні з СГ виражений.

Винахід належить до медицини, зокрема галузі - внутрішні хвороби, і може бути використаний для визначення прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з артеріальною гіпертензією та цукровим діабетом в поєднанні з субклінічним гіпотиреозом.

5 Однією з основних проблем в усьому світі, незважаючи на значні успіхи медицини в останні десятиліття, є захворювання серцево-судинної системи. Серед серцево-судинних захворювань (ССЗ) показники смертності та інвалідизації, що пов'язані з артеріальною гіпертензією (АГ), продовжують залишатися високими.

10 В даний час ізольована АГ є рідкістю, найчастіше доводиться стикатися з клінічною ситуацією, яка пов'язана з ендокринопатіями. Якщо поєднання АГ та цукрового діабету (ЦД) досить добре вивчено, то її поєднання з дисфункцією щитовидної залози (субклінічний гіпотиреоз (СГ)) стає предметом пильного вивчення. Неухильне зростання патології щитовидної залози, що супроводжується розвитком гіпотиреозу, і його часте поєднання з АГ все більше привертають увагу лікарів різних спеціальностей.

15 Активно розвивається концепція ендотеліальної дисфункції (НД) як одного з основних механізмів реалізації всіх факторів серцево-судинного ризику. Існує чимало робіт, які доводять, що оксидативний стрес значно стимулює прогресування ЕД. У свою чергу, оксидативний стрес бере участь в патогенезі ряду ССЗ, в тому числі АГ, а наявність додаткових факторів ризику сприяє його прогресуванню.

20 Для вивчення стану антиоксидантної системи використовують активність глутатіонпероксидази (ГПО) та рівень сульфогідрильних груп (SH-груп). Як маркер вираженості прооксидантної системи застосовують рівень малонового діальдегіду (МДА). Активність ГПО (КФ 1.11.1.9) в ЕДТА-гемолізаті проявляється в зменшенні вмісту відновленого глутатіону в процесі п'ятихвилинної інкубації дослідного зразка гемолізату в присутності окисляє субстрат фотометричним методом. SH-групи та МДА визначають в сироватці крові за допомогою фотометричного методу. Використовують наступні реактиви: тіобарбітурова кислота фірми Organika (Німеччина), дітіобіснітробензойная кислота фірми Merck (Німеччина), відновлений глутатіон фірми Sigma-Aldrich (Японія), гідроперекис кумолу фірми Merck (Німеччина).

30 Відомий спосіб виявлення біомаркерів оксидативного стресу та стану антиоксидантної системи при цукровому діабеті типу 2 [Г.И. Азизова, А.Р. Дадашова, М.Ф. Амирова Биомаркеры оксидативного стресса и состояние антиоксидантной системы при сахарном диабете типа 2 // Universum: Медицина и фармакология: электрон. научн. журн. 2014. № 6(7). URL: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/1386>], який полягає в тому, що автори проводили обстеження 97 хворих на цукровий діабет типу 2 та у крові визначали рівні біомаркерів оксидативного стресу - оксиду азоту, 3-нітротирозину, карбонілованих білків та малонового діальдегіду. Для виявлення стану антиоксидантної захисної системи були визначені рівні тіолового статусу та церулоплазміну. Залежно від рівня глюкози та глікозилизованого гемоглобіну хворі були розділені на 3 групи - компенсації, субкомпенсації та декомпенсації. Порівняльний аналіз отриманих даних показав, що на тлі зростання інтенсивності оксидативного стресу спостерігають зниження рівня компонентів антиоксидантної системи.

40 До недоліків цього способу належать обмежені функціональні можливості. Для оцінки прогресування оксидативного стресу та його прогностичного впливу при коморбідній патології, що включає на тлі ендокринопатій (цукрового діабету 2 типу та субклінічного гіпотиреозу) та захворювання, що характеризується підвищенням артеріального тиску, - артеріальну гіпертензію, цього недостатньо. Крім того, дана коморбідність також характеризується наявністю дисліпідемії, що є підставою для призначення лікарських засобів групи статинів згідно з існуючими національними та клінічними рекомендаціями, які, в свою чергу, надають неоднозначний вплив на стан оксидативного стресу. Продемонстровано, що виражена тиреоїдна недостатність призводить до формування або прогресування артеріальної гіпертензії, порушення функції ендотелію та посиленню порушень ліпідного обміну. При гіпотиреозі, в тому числі субклінічному, відбуваються зміни, що пов'язані з недоліком тиреоїдних гормонів, які впливають на антиоксидантну активність, регулюючи метаболічні процеси, вміст антиоксидантів та перекисне окислення ліпідів (ПОЛ). Приймаючи вищезазначене до уваги, при оцінці оксидативного стресу при поєднаному перебігу артеріальної гіпертензії, цукрового діабету 2 типу та субклінічного гіпотиреозу необхідно враховувати ключові детермінанти цих захворювань, а також факт прийому статинонотерапії.

55 Найбільш близьким за своїм функціональним призначенням і суттєвим ознакам до пропонуваного винаходу є спосіб діагностики оксидативного стресу організму людини (патент РФ № 2236008, МПК G01N 33/48, опубл.10.04.2004), який полягає в тому, що визначають рівень білкових та небілкових сірковмісних компонентів анти/прооксидантної системи організму та малонового альдегіду, у гемолізаті визначають рівень тіолових груп. За різницею між

показниками середньої кількості тіолових груп гемолізату практично здорових людей, рівного $0,174 \pm 0,004$ оптичних одиниць, і кількістю тіолових груп гемолізату обстежуваної людини визначають кількість дисульфідних груп. При значенні цієї різниці, яка дорівнює $0,000 \pm 0,008$ оптичних одиниць, визначають відсутність окисного стресу. При позитивному значенні цієї різниці додатково визначають кількість проміжних та мінорних продуктів окисної модифікації біомолекул: білків, ліпідів, вуглеводів, нуклеїнових кислот, що реагують з тіобарбітуровою кислотою. Додатково визначають кількість продуктів модифікації біомолекул після попередньої хімічної індукції Fe^{2+} процесів перекисного окислення. Визначають за формулою коефіцієнт окисної модифікації біомолекул еритроцитів КОМБэр. Чим вище позитивне значення КОМБэр, тим вище рівень окисного стресу організму.

Недоліком цього способу є обмежені функціональні можливості. В даному способі для оцінки балансу прооксидантно-антиоксидантної системи використовують такі показники, як МДА та тіолові групи. Для характеристики наявності оксидативного стресу цього можливо досить. Однак, для оцінки прогресування оксидативного стресу, а також його прогностичного впливу на перебіг коморбідних патологій, що включають в себе артеріальну гіпертензію, цукровий діабет 2 типу та субклінічний гіпотиреоз, цього недостатньо. Необхідно брати до уваги не тільки МДА, тіолові групи, але і 8-гідрокси-2-дезоксигуанозин (8-ОН-dG) який запропоновано до використання не тільки як маркера пошкодження ДНК, а й як одного з маркерів вільнорадикальних процесів.

Таким чином, вивчення оксидативного стресу на тлі гормонально-метаболічних показників та статинотерапії сприятиме повнішому розумінню спільності патогенетичних процесів поєданого перебігу АГ, цукрового діабету 2 типу та субклінічного гіпотиреозу, а також допоможе оцінити ступінь серцево-судинного ризику.

Технічною задачею винаходу є розширення функціональних можливостей шляхом розробки способу прогнозування розвитку та ступеня оксидативного стресу у пацієнтів з артеріальною гіпертензією та цукровим діабетом в поєднанні з субклінічним гіпотиреозом на тлі статинотерапії з урахуванням гормонально-метаболічних показників, які впливають на розвиток оксидативного стресу для запобігання серцево-судинним (СС) ускладненням, з метою підвищення ефективності профілактичних та лікувальних заходів у цього контингенту хворих.

Ця задача вирішена наступним чином. У способі прогнозування розвитку та ступеня оксидативного стресу, який полягає в тому, що на підставі клініко-діагностичних ознак таких, як рівень малонового діальдегіду і в гемолізаті визначають рівень тіолових груп, за допомогою математичного апарата визначають рівень оксидативного стресу у пацієнтів з ЦД, згідно з винаходом, додатково ураховують, активність глутатіонпероксидази, 8-гідрокси 2-дезоксигуанозин, інформацію щодо вживання статинів, систолічний тиск та тиреотропний гормон, потім за регресійним рівнянням визначають у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ на тлі статинотерапії ймовірність прогресування оксидативного стресу за формулою:

$$\hat{P} = [1 + \exp(4,229 X_1 - 2,530 X_2 - 0,059 X_3 + 0,871 X_4 + 3,380 X_5 - 0,149 X_6 - 0,611 X_7 + 29,490)]^{-1},$$

де \hat{P} - ймовірність прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ;

X_1 - рівень малонового діальдегіду (МДА), мкмоль/л;

X_2 - активність глутатіонпероксидази (ГПО), мккат/г Hb;

X_3 - SH-групи, мкмоль/л;

X_4 - 8-гідрокси-2-дезоксигуанозин (8-ОН-dG), нг/л;

X_5 - вживання статинів (1 - не вживає; 2 - вживає);

X_6 - систолічний тиск, мм. рт. ст.;

X_7 - тиреотропний гормон, мЕд/л.

Якщо значення \hat{P} лежить в межах від 0 до 1, то чим ближче значення прогнозованої ймовірності до одиниці, тим вище ступінь оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ, якщо значення \hat{P} знаходиться в діапазоні від 0 до 0,5, робиться висновок, що у пацієнта не виражений оксидативний стрес, якщо \hat{P} перевищує 0,5 - оксидативний стрес у пацієнта з АГ та ЦД в поєднанні з СГ виражений.

На фіг. 1 представлена діаграма класифікації - діаграма розподілу значень розрахованих ймовірностей \hat{P} прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ.

На фіг. 2 зображена ROC крива.

У таблиці 1 - надані коефіцієнти моделі бінарної логістичної регресії, створеної для визначення прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ.

У таблиці 2 надані характеристики моделі бінарної логістичної регресії, створеної для визначення прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з Лі та ЦД в поєднанні з СГ.

У таблиці 3 надані класифікаційні результати моделі бінарної логістичної регресії, створеної для визначення прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ.

У таблиці 4 надано критерій Хосмера-Лемешова.

У таблиці 5 надані результати ROC-аналізу.

Розглянемо більш докладніше запропонований спосіб. Реалізація цього способу здійснена наступним чином. Було обстежено 95 пацієнтів з АГ в поєднанні з ЦД2Т та СГ. Всі пацієнти були розділені на дві групи:

1-а група - невиражений (неінтенсивний) оксидативний стрес (дисбаланс між оксидантною та антиоксидантною системами не яскраво виражений) (34 пацієнти);

2-а група - виражений оксидативний стрес (явний дисбаланс між оксидантною та антиоксидантною системами) (61 пацієнт).

Кожному з пацієнтів було проведено комплексне клініко-діагностичне дослідження. Всі діагностичні ознаки були закодовані та поставлені відповідно 24-мірному вектору, який враховує відсутність, наявність, спрямованість та величину кожної ознаки.

Математична обробка результатів проводилася з використанням пакета прикладних програм SPSS 21 для Windows.

Рівняння бінарної логістичної регресії, за яким визначають ймовірність прогресування захворювання, має наступний вигляд:

$$\hat{P} = [1 + \exp(z)]^{-1},$$

де \hat{P} - ймовірність того, що захворювання прогресуватиме;

z - значення логістичної функції, яка визначається згідно з формулою:

$$z = b_1 * X_1 + b_2 * X_2 + \dots + b_n * X_n + b_0,$$

де X_i - фактор ризику прогресування захворювання,

b_i - коефіцієнти, розрахунок яких є завданням бінарної логістичної регресії.

Значення коефіцієнта b_i вказує на зміну відношення шансів при зміні X_i . Відношенням шансів є частка від ділення ймовірності того, що захворювання прогресуватиме, до ймовірності того, що воно не прогресуватиме, розраховують як $P/(1-P)$.

Метод покрокового включення предикторів, який ранжує ознаки відповідно до їхнього внеску

в модель, застосовувався при оцінці рівнянь регресії. Ймовірність \hat{P} прогресування оксидативного стресу (ОС) у пацієнтів з артеріальною гіпертензією та цукровим діабетом в поєднанні з субклінічним гіпотиреозом визначають за створеним рівнянням логістичної регресії:

$$\hat{P} = [1 + \exp(4,229 X_1 - 2,530 X_2 - 0,059 X_3 + 0,871 X_4 + 3,380 X_5 - 0,149 X_6 - 0,611 X_7 + 29,490)]^{-1},$$

де \hat{P} - ймовірність прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ;

X_1 - рівень малонового діальдегіду (МДА), мкмоль/л;

X_2 - активність глутатіонпероксидази (ГПО), мккат/г Hb;

X_3 - SH-групи, мкмоль/л;

X_4 - 8-гідрокси-2-дезоксигуанозин (8-OH-dG), нг/л;

X_5 - вживання статинів (1 - не вживає; 2 - вживає);

X_6 - систолічний тиск, мм.рт.ст;

X_7 - тиреотропний гормон, мЕд/л.

Якщо значення \hat{P} лежить в межах від 0 до 1, то чим ближче значення прогнозованої ймовірності до одиниці, тим вище ступінь оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в

поєднанні з СГ, якщо значення \hat{P} знаходиться в діапазоні від 0 до 0,5, робиться висновок, що у пацієнта не виражений оксидативний стрес, якщо \hat{P} перевищує 0,5 - оксидативний стрес у пацієнта з АГ та ЦД в поєднанні з СГ виражений.

5 Використання даних показників, нам бачиться найбільш інформативними для оцінки прогресування прогностичного значення оксидативного стресу.

Рівень малонового діальдегіду (МДА) один з найбільш інформативних маркерів активності перекисного окислення ліпідів та окисної системи організму.

10 Гутатіонпероксидази (ГПО) відіграє важливу роль у захисті біологічних клітинних мембран від окислювального ушкодження шляхом збільшення концентрації зниженого глутатіону (GSSG-R) в процесі аеробного гліколізу. Глутатіонпероксидаза каталізує процес розкладання пероксиду водню та органічних перекисів з одночасним окисленням глутатіону, що і надає цьому ферменту першочергове значення в антиоксидатному захисті організму.

15 SH-групи являють собою органічні сполуки, які містять сульфогідрильні групи. Серед всіх антиоксидантів, які доступні в організмі, вони складають основну частину антиоксидантів всього тіла, та вони відіграють значну роль у захисті від активних форм кисню.

20 Кількісне визначення 8-гідрокси-2-дезоксигуанозину (8-OH-dG) запропоновано використовувати як один з маркерів вільнорадикальних процесів, що відбуваються в організмі в нормі та при розвитку різних патологічних процесів. На відміну від інших модифікованих окислених форм гуаніну, 8-OH-dG легко проникає з клітин в кровотік. Завдяки цьому він вважається одним з кращих клініко-лабораторних маркерів пошкодження ДНК та оксидативного стресу.

25 Статини, препарати, що пригнічують активність ферменту 3-гідрокси-3-метилглутарил коензим А-редуктази (ГМГ-КоА-редуктази), мають гіполіпідемічну дію, що сприяють поліпшенню стану судинної системи у хворих з гіперліпідемією. Одним з важливих "неліпідних" механізмів дії статинів є їх вплив на систему окислення-відновлення.

30 Визначення та оцінка кардіоваскулярного ризику мають стратегічні значення для вибору системи профілактичних заходів та тактики лікування серцево-судинних захворювань). В даний час прогнозування ризику ймовірних кардіоваскулярних подій розглядається як першочерговий обов'язковий компонент лікування пацієнта з кардіоваскулярним захворюванням. З великого числа відомих факторів ризику систолічний артеріальний тиск належить до одного з найбільш значимих серед факторів ризику, які модифікуються, та входить до всіх рекомендованих шкал для підрахунку ризику розвитку кардіоваскулярних подій (SCORE, Фрамінгемська шкала та інші).

35 Дослідження стратифікації факторів ризику серцево-судинних захворювань в останні роки дали можливість припустити, що поєднання гіпотиреозу та серцево-судинних захворювань за ступенем впливу на кардіоваскулярний ризик порівняно з впливом таких чинників ризику, як цукровий діабет, гіперліпідемія, артеріальна гіпертензія. На сьогоднішній день цукровий діабет 2-го типу та патологія щитовидної залози є найбільш поширеними ендокринними захворюваннями в популяції. Роботи останніх років вказують в цілому на високу частоту поєднання ЦД 2-го типу та дисфункції щитовидної залози, яка спостерігається у 17-30 % хворих. При цьому до 80 % випадків гіпотиреоз протікає в субклінічній формі. Діагностичним маркером субклінічного гіпотиреозу є підвищення рівня тиреотропного гормону. При дисфункції щитовидної залози змінюється рівень продуктів перекисного окислення ліпідів, виникає дисбаланс в системі про-/антиоксиданти, що супроводжується розвитком або посиленням оксидативного стресу, сполученого з мінімізацією тиреоїдної функції при субклінічному гіпотиреозі.

45 Розраховані коефіцієнти регресійної функції та результати перевірки їх значущості наведені в табл. 1. Всі змінні, згідно зі статистикою Вальда, (табл. 1), значущі ($p < 0,05$) та підібрані правильно.

50 Якість наближення регресійної моделі оцінюється за допомогою функції подібності. У дослідженні, $G=20,055$ при $p=0,001$ (табл. 2), що вказує на те, що в цілому незалежні змінні мають значний вклад щодо прогнозування залежної змінної.

55 Показник Нейджелкерка, який варіюється від 0 до 1 є мірою визначеності. Згідно зі значенням розрахованого показника R^2 Нейджелкерка, частина дисперсії, поясненої за допомогою отриманої логістичної функції становить 91,2 % (табл. 2).

На фіг. 1 представлена діаграма розподілу значень розрахованих імовірностей \hat{P} прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ. По горизонтальній осі відкладені значення передбаченої ймовірності прогресування оксидативного стресу, обчислені за розробленим рівнянням бінарної логістичної регресії, по вертикалі - кількість

пацієнтів з відповідним значенням \hat{P} . Чим ближче значення прогнозованої ймовірності до одиниці, тим вище ступінь оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ.

Класифікаційна таблиця (табл. 3) дозволяє судити про кількість правильних та неправильних прогнозів. З таблиці можна зробити висновок про те, що із загального числа пацієнтів з невираженим (неінтенсивним) ОС, рівного 34, тестом були визначені всі вірно. Із загальної кількості пацієнтів з вираженим ОС, рівного 61, тестом були визнані 60 та 1 помилково віднесений до групи з невираженим ОС. Загалом, правильно були розпізнані 94 випадку з 95, це становить 98,9 %.

Загальна оцінка згоди між впливом виявлених факторів прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ та реально зафіксованим настанням несприятливого результату проводилася з використанням тесту згоди Хосмера-Лемешова (H_L) (табл. 4). Отримане значення - 6,184, при рівні значущості $p > 0,05$ ($p = 0,518$), свідчить про високу якість підбраної моделі.

Для оцінки ефективності моделі використовувався також ROC-аналіз (фіг. 2, таблиця 5), який виявив її характеристики, що є показником відмінної якості. Значення площі під кривою AUC (Area Under Curve) склало 0,992.

ROC-аналіз отриманої моделі (рис. 3, таблиця 1) виявив її характеристики, які є показником відмінної якості досліджуваної моделі.

Наступ позитивної та негативної події ("невиражений ОС" та "виражений ОС") визначався за допомогою порогу відсікання.

Критерієм вибору оптимального порогу відсікання (optimal cut-off value) виступала вимога максимальної сумарної чутливості і специфічності моделі:

$$\text{Cutt_off} = \max \{Se + Sp\}.$$

Таким чином, згідно з координатами ROC-кривої точкою відсікання є значення 0,530, якій відповідає чутливість, рівна 0,984 (98,4 %), та специфічність - 1 (100 %). Точкою балансу, в якій чутливість та специфічність приблизно збігаються, є 0,433.

Корисність математичної моделі була перевірена на практиці при визначенні ступеня оксидативного стресу у хворих на артеріальну гіпертензію у поєднанні з цукровим діабетом 2 типу та субклінічним гіпотиреозом, які знаходилися на амбулаторному або стаціонарному спостереженні у ДУ "Національний Інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України".

Було обстежено 25 пацієнтів з АГ в поєднанні з ЦД2Т та СІ. Кожному з пацієнтів було проведено комплексне клініко-діагностичне дослідження з додатковим визначенням рівня малонового діальдегіду (МДА), активності глутатіонпероксидази, тіолових груп (SH-груп), 8-гідрокси-2-деоксигуанозину (8-OH-dG) в сироватці крові, систолічного тиску та тиреотропного гормону, інформації щодо вживання статинів. 15 хворих приймали статини (аторвастатин 20 мг/добу. або розувастатин 10 мг/добу.) що найменше 1 рік до обстеження, 10 хворих не приймали статини. Усім пацієнтам був поставлений правильний прогноз.

Приводимо два клінічних приклади.

Приклад 1. Хвора А., 63 років, історія хвороби № 683, 2016 р., звернулася зі скаргами слабкості, періодичні головні болі або відчуття важкості в потилиці, періодичне відчуття прискореного серцебиття, підвищення маси тіла протягом останнього року на 4 кг, іноді підвищену спрагу.

Проводять загальноприйняті методи обстеження: анамнез захворювання та анамнез життя, об'єктивне обстеження.

Анамнез захворювання: вважає себе хворою більш 10 років, коли вперше зафіксовано підвищення артеріального тиску та діагностовано АГ II ст., цукровий діабет 2 типу було діагностовано 6 роки тому. При плановому обстеженні 1,5 роки тому було виявлено ознаки субклінічного гіпотиреозу; виявлено значення ТТГ - 4,8 мОд/л, Т4 вільний - 12,8 пмоль/л. Також було досліджено: цукор крові - 6,83 ммоль/л, глікований гемоглобін - 7,10 %, загальний холестерин - 6,97 ммоль/л, ХСЛПВЩ - 0,76 ммоль/л, ХСЛПНЩ - 3,7 ммоль/л, ТГ-2,2 ммоль/л; АТ=165/95 мм.рт.ст. При УЗД щитовидної залози - ознаки аутоімунного тиреоїдиту без вузлуотворення, органів черевної порожнини - без патологічних змін, при проведенні ехокардіографії - гіпертрофія лівого шлуночка. На ЕКГ - синусовий ритм, ознаки гіпертрофії міокарда лівого шлуночка. Рекомендована гіпотензивна терапія, яка включає ІАПФ та діуретик, антидіабетична терапія - метформін 1000 мг/добу, статини - аторвастатин 20 мг/добу, дієта, дозовані фізичні навантаження, регулярний контроль функції щитовидної залози. Більш не обстежувалась, рекомендовану терапію приймала регулярно, дієти практично не дотримувалась. В сімейному анамнезі - у матері ішемічна хвороба серця.

Об'єктивне обстеження: загальний стан відносно задовільний. Шкіряні покрови звичайного кольору, сухі. Над легеньми везикулярне дихання. Межі відносної серцевої тупості в межах

фізіологічної норми. Серцева діяльність ритмічна, тони приглушені. ЧСС - 62 уд. за хв. АТ-152/97 мм. рт. ст. Периферійні набряки відсутні. Стул та діурез без відмінностей.

Оцінюють антропометричні показники: маса тіла 83 кг, зріст 164 см; вимірюють індекс маси тіла (ІМТ) 30,86 кг/м², що перевищує норму (25 кг/м²) та свідчить про наявність надлишкової маси тіла.

При пальпації живіт збільшений у розмірах за рахунок надлишкової жирової тканини, м'який, безболісний. Печінка не збільшена в розмірах. Хворому поряд з загальноприйнятим комплексом досліджень проводять додаткові дослідження (дослідження 8-ОН-dG, МДА, ГПО, SH-груп в сироватці крові).

Результати досліджень:

У сироватці крові: загальний холестерин (ХС) 5,20 ммоль/л, тригліцериди - 1,96 ммоль/л, ХС ЛПНЩ - 3,3 ммоль/л; значення ХС ЛПВЩ -0,90 ммоль/л, глюкоза - 7,02 ммоль/л, глікований гемоглобін -7,73 %, інсулін крові - 24,63 мкОд/мл, НОМА - IR=7,68, що свідчить про наявність помірної дисліпідемії, гіперглікемії та інсулінорезистентності.

Рівень ТТГ склав 6,3 мОд/л, Т4 вільний - 12,08 ммоль/л, що свідчить про наявність субклінічного гіпотиреозу. Вимірювання ТКІМ сонних артерій виявило збільшення ТКІМ = до 1,0 мм, атеросклеротичних бляшок не було виявлено.

Хворої додатково проводять дослідження з визначенням показників оксидантної та антиоксидантної систем: рівень 8-ОН-dG в сироватці крові дорівнює 15,15 нг/л, що більш ніж в два рази перевищує контрольні значення та свідчить не тільки про активацію антиоксидантної системи, але й про виражене окислювальне пошкодження ДНК; рівні МДА -6,46 мкмоль/л, SH-груп - 487,25 мкмоль/л, ГПО - 4,86 мккат/гНв, які значно та достовірно відрізняються від контролю. Виразене підвищення МДА, 8-ОН-dG та зниження рівня SH-груп та ГПО свідчать про наявність вираженого оксидативного стресу у даного хворого.

АГ та СД2Т на тлі СГ, незважаючи на терапію, у даної хворої супроводжується прогресуванням кардіометаболічних порушень, про що свідчить наявність вираженого оксидативного стресу в сукупності з наявністю гіперглікемії, вираженої інсулінорезистентності та дисліпідемії, що може значно вплинути на перебіг захворювань, та прогноз, оскільки підвищує загальний кардіоваскулярний ризик.

Таким чином, у хворого визначені наступні значення прогностичних критеріїв: МДА (X₁) - 6,46 мкмоль/л, ГПО (X₂) - 4,86 мккат/гНв, SH-групи (X₃) - 487,25 мкмоль/л, 8-ОН-dG (X₄) - 15,15 нг/л, вживання статинів (X₅) - вживає, систолічний артеріальний тиск (X₆) - 152 мм.рт.ст., ТТГ (X₇) - 6,3 мОд/л.

Хворому здійснюють індивідуальну кількісну оцінку прогностичних критеріїв та розраховують в автоматичному режимі в Excel прогностичний індекс за розробленою формулою:

$$P = [1 + \exp(4,229 * 6,46 - 2,530 * 4,86 - 0,059 * 487,25 + 0,871 * 15,15 + 3,380 * 2 - 0,149 * 152 - 0,611 * 6,3 + 29,490)]^{-1}.$$

Ймовірність прогресування оксидативного стресу $\hat{P} = 0,999$.

Висновок: у даної хворої має місце виражений оксидативний стрес, що у поєднанні з СГ надає негативного поглиблюючого впливу на порушення обміну, які мають місце, (гіперглікемія, дисліпідемія, ознаки інсулінорезистентності) та буде сприяти подальшому прогресуванню АГ та ЦД2Т та звеличуванню загального кардіоваскулярного ризику. Вживання статинів в даному випадку призвело до зниження ознак дисліпідемії, деякі ознаки набули цільових значень (ХС ЛПВЩ, тригліцериди), але спостерігаються виражений оксидативний стрес та інсулінорезистентність, що за даними літератури останніх років можуть зростати під впливом статинотерапії, що потребує корекції комплексної схеми терапії. Вважається, що дисліпідемія при субклінічному гіпотиреозі носить не тільки атерогенний характер, а й розвивається під впливом тиреоїдної дисфункції, тому для корекції дисліпідемії в даному клінічному випадку доцільним буде розглянути можливість призначення L-тироксину в індивідуально підібраній дозі.

Рекомендовано: корекція терапії з обов'язковим впливом на окислювально-антиоксидантні процеси з постійним спостереженням та моніторингом вищезгаданих лабораторно-інструментальних показників. Це необхідно для зменшення темпів прогресування АГ у поєднанні з ЦД2Т та СГ та для профілактики ускладнень шляхом зниження загального кардіоваскулярного ризику, що має не тільки медичний, але і соціально-економічний ефект. Вважається, що дисліпідемія при субклінічному гіпотиреозі носить не тільки атерогенний характер, а й розвивається під впливом тиреоїдної дисфункції, тому для корекції дисліпідемії в даному клінічному випадку доцільним буде розглянути можливість призначення на фоні статинотерапії L-тироксину в індивідуально підібраній дозі. Оскільки раніш призначена

гіпотензивна терапія не призвела до значного контролю артеріального тиску, перед усім систолічного, необхідна корекція дози або всієї схеми гіпотензивної терапії.

Приклад 2. Хвора І., 61 рік, № амбулаторної картки 311, 2016 р., звернулась в поліклініку Інституту терапії до кардіолога зі скаргами на помірну слабкість, періодичні головні болі або відчуття важкості в потилиці на тлі підвищення артеріального тиску, погіршення сну.

Проводять загальноприйняті методи обстеження: анамнез захворювання та анамнез життя, об'єктивне обстеження.

Анамнез захворювання: вважає себе хворою протягом 8 років, коли вперше біла діагностовано АГ II ступеня, цукровий діабет 2 типу був виявлений 3 роки тому. При плановому обстеженні було виявлено значення ТТГ, що відповідало контрольному та дорівнювало 3,1 мОд/л. Так було виявлено: цукор крові - 6,78 ммоль/л, глікований гемоглобін -7,15 %, загальний холестерин - 5,93 ммоль/л, ХСЛПВЩ-0,91 ммоль/л, ХСЛПНЩ- 3,4 ммоль/л, ТГ-2,7 ммоль/л; АТ=150/100 мм.рт.ст. При УЗД щитовидної залози - без патологічних змін, ехокардіографія - ознаки гіпертрофії міокарда лівого шлуночка, органів черевної порожнини - без патологічних змін. Рекомендовано дієта, дозовани фізичні навантаження. В сімейному анамнезі - без особливостей з боку захворювань серцево-судинної системи.

Далі не обстежувалась, лікування проводилось ІАПФ та діуретиком та метформіном, розувастатин 10 мг незважаючи на призначення приймала тільки перші 6 місяців, в подальшому не приймала, дієтичних рекомендацій намагалася дотримуватися. В сімейному анамнезі - без особливостей з боку захворювань серцево-судинної системи.

Об'єктивне обстеження: загальний стан відносно задовільний. Шкіряні покриви звичайного кольору, сухі. Над легеньми везикулярне дихання. Серцева діяльність ритмічна, ЧСС 68 уд. за хв АТ 130/79 мм. рт. ст. При пальпації живіт не збільшений у розмірах, м'який, безболісний. Печінка не збільшена в розмірах. Периферійні набряки відсутні. Стул та діурез без відмінностей.

Оцінюють антропометричні показники: маса тіла 76 кг, зріст 168 см; вимірюють ІМТ 26,93 кг/м², що свідчать про наявність надлишкової ваги.

Хворій, поряд з загальноприйнятим комплексом досліджень, проводять дослідження метаболічних показників та маркерів оксидативного стресу, визначення ТКІМ сонних артерій, вміст ТТГ.

Результати інструментальних досліджень:

За даними УЗД сонних артерій ТКІМ = 0,7 мм, без наявності атеросклеротичних бляшок.

При УЗД щитовидної залози, органів черевної порожнини - без патологічних змін, при проведенні ехокардіографії - гіпертрофія лівого шлуночка. На ЕКГ - синусовий ритм, ознаки гіпертрофії міокарда лівого шлуночка.

Результати лабораторних досліджень:

У сироватці крові: загальний холестерин (ХС) - 6,2 ммоль/л, тригліцериди - 2,8 ммоль/л, ХСЛПВЩ 1,01 ммоль/л ХС ЛПНЩ 3,2 ммоль/л. Рівень ТТГ склав 4,3 мОд/л, Т4 вільний - 10,6 ммоль/л, що свідчить про наявність субклінічного гіпотиреозу. Рівень інсуліну - 19,8 мкОд/мл, глюкози крові - 6,7ммоль/л, глікований гемоглобін - 6,5 %, НОМА -1R-5,90.

Хворій додатково проводять дослідження з визначенням показників оксидантної та антиоксидантної систем: рівень 8-OH-dG в сироватці крові дорівнює 9,63 нг/л, що незначно перевищує контрольні значення та свідчить про помірну активацію антиоксидантної системи; рівні МДА - 5,23 мкмоль/л, SH-груп-529,18 мкмоль/л, ГПО - 5,27 мккат/гНв, що незначно відрізняються від контрольних значень та свідчить про наявність оксидатного стресу, але помірно вираженого.

Таким чином, у хворій визначені наступні значення прогностичних критеріїв: МДА (X₁) - 5,23 мкмоль/л, ГПО (X₂) - 5,27 мккат/гНв, SH-групи (X₃) - 529,18 мкмоль/л, 8-OH-dG (X₄)- 9,63 нг/л, вживання статинів (X₅) - не вживає, систолічний артеріальний тиск (X₆)- 143 мм.рт.ст., ТТГ (X₇)- 4,3 мОд/л.

Хворій здійснюють індивідуальну кількісну оцінку прогностичних критеріїв та розраховують в автоматичному режимі в Excel прогностичний індекс за розробленою формулою:

$$P = [1 + \exp(4,229 * 5,23 - 2,530 * 5,27 - 0,059 * 529,18 + 0,871 * 9,63 + 3,380 * 1 - 0,149 * 143 - 0,611 * 4,3 + 29,490)]^{-1}.$$

Ймовірність прогресування оксидативного стресу $\hat{P} = 0,001$.

Результати: незважаючи на наявність ознак дисліпідемії, гіперглікемії та інсулінорезистентності, пацієнтка має невиражений оксидативний стрес, який проявляється незначним дисбалансом оксидантної та антиоксидантної систем та окислювальним пошкодженням ДНК, що у сукупності з нормальними значеннями систолічного артеріального тиску та ТКІМ віддзеркалює мінімальний додатковий негативний вплив на перебіг АГ з ЦД2Т у поєднанні з СГ та прогресування захворювань, незначно підвищуючи загальний

кардіоваскулярний ризик більшою мірою за рахунок дисліпідемії, прогресування якої можливо є наслідком розвиненої гіпофункції щитовидної залози. Призначення статинотерапії в даному випадку необхідно під пильним контролем показників оксидантно-антиоксидантної системи для запобігання погіршенню кардіоваскулярного ризику.

5 Таким чином, запропонований спосіб дозволяє визначати розвиток та прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ на тлі статинотерапії на основі клініко-діагностичних показників. Застосування запропонованого способу в клінічній практиці дозволяє досягати підвищення якості визначення оксидативного стресу за рахунок виявлення факторів, що впливають на прогресування АГ та ЦД2Т саме у пацієнтів з СГ, що допоможе

10 лікареві призначити адекватні лікувально-профілактичні заходи та покращити якість надання медичних послуг.

Спосіб прогнозування розвитку та ступеня оксидативного стресу

Таблиця 1

Коефіцієнти моделі бінарної логістичної регресії, створеної для визначення прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ

Ознаки, AS	Коефіцієнти	Стандартні похибки	Критерії Вальда	Значущість (p)
X ₁	4,229	1,647	6,592	0,010
X ₂	-2,530	1,001	6,390	0,011
X ₃	-0,059	0,023	6,607	0,010
X ₄	0,871	0,428	4,141	0,042
X ₅	3,380	1,625	4,328	0,037
X ₆	-0,149	0,076	3,882	0,049
X ₇	-0,611	0,309	3,917	0,048
Константа	29,490	12,993	5,151	0,023

Таблиця 2

Характеристики моделі бінарної логістичної регресії, створеної для визначення прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ

Результати заключного кроку аналізу	-2 Log Правдоподібність(G)	R ² Нейджелкерка	χ^2	Значущість (p)
	20,055	0,912	103,862	0,001

15

Таблиця 3

Класифікаційні результати моделі бінарної логістичної регресії, створеної для визначення прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ

Дійсні групи		Спрогнозовані групи		
		ОС		% вірно спрогнозованих
	не інтенсивний	виражений		
ОС	не інтенсивний	34	0	100,0
	виражений	1	60	98,4
Загальний процент				98,9

Таблиця 4

Критерій Хосмера-Лемешова

Н _L	Ступінь свободи	Значущість (p)
6,184	8	0,518

Таблиця 5

Результати ROC-аналізу

Характеристики ROC Кривої			95 % Довірчий інтервал	
Площа	Стандартна похибка	Значущість (p)	Нижня межа	Верхня межа
0,992	0,008	0,001	0,977	1,000

5

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб прогнозування розвитку та ступеня оксидативного стресу, який полягає в тому, що на підставі клініко-діагностичних ознак визначають рівень малонового діальдегіду та рівень тіолових груп в гемолізаті, за допомогою математичного апарата визначають рівень оксидативного стресу у пацієнтів з цукровим діабетом (ЦД), який **відрізняється** тим, що додатково визначають активність глутатіонпероксидази, 8-гідрокси-2-дезоксигуанозин, інформацію щодо вживання статинів, систолічний тиск та тиреотропний гормон, потім за регресійним рівнянням визначають у пацієнтів з артеріальною гіпертензією (АГ) та ЦД в поєднанні з субклінічним гіпотиреозом (СГ) на тлі статинотерапії ймовірність прогресування оксидативного стресу за формулою:

$$P = [1 + \exp(4,229 X_1 - 2,530 X_2 - 0,059 X_3 + 0,871 X_4 + 3,380 X_5 - 0,149 X_6 - 0,611 X_7 + 29,490)]^{-1}$$

де \hat{P} - ймовірність прогресування оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ;

X_1 - рівень малонового діальдегіду (МДА), мкмоль/л;

X_2 - активність глутатіонпероксидази (ГПО), мккат/г Нв;

20 X_3 - SH-групи, мкмоль/л;

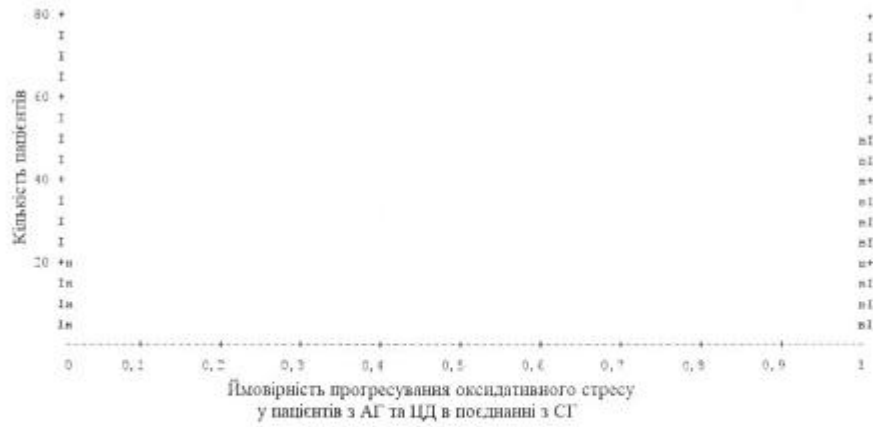
X_4 - 8-гідрокси-2-дезоксигуанозин (8-OH-dG), нг/л;

X_5 - вживання статинів, де 1 - не вживає; 2 - вживає;

X_6 - систолічний тиск, мм. рт. ст.;

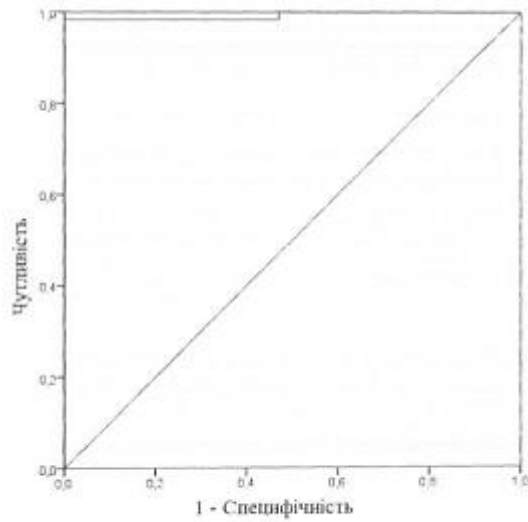
X_7 - тиреотропний гормон, мЕд/л,

25 значення \hat{P} лежить в межах від 0 до 1, то чим ближче значення прогнозованої ймовірності до одиниці, тим вище ступінь оксидативного стресу у пацієнтів з АГ та ЦД в поєднанні з СГ, якщо значення \hat{P} знаходиться в діапазоні від 0 до 0,5, робиться висновок, що у пацієнта не виражений оксидативний стрес, якщо \hat{P} перевищує 0,5 - оксидативний стрес у пацієнта з АГ та ЦД в поєднанні з СГ виражений.



Діаграма класифікації. Символи: n – пацієнти з помірним кардіоваскулярним ризиком; v – пацієнти з високим кардіоваскулярним ризиком

Фіг. 1



ROC Крива

Фіг. 2

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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