



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **108449** (13) **C2**
(51) МПК (2015.01)
A61B 10/00
G01N 33/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2014 03551	(72) Винахідник(и): Самура Борис Борисович (UA)
(22) Дата подання заявки: 07.04.2014	(73) Власник(и): ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 27.04.2015	пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035 (UA), Самура Борис Борисович,
(41) Публікація відомостей про заявку: 27.10.2014, Бюл.№ 20	вул. Грязнова, 88-б, кв. 13, м. Запоріжжя, 69068 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 27.04.2015, Бюл.№ 8	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: US 7919084 B2, 05.04.2011 UA 56187 U, 10.01.2011 UA 55271 U, 10.12.2010

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ КАРДІОВАСКУЛЯРНИХ ПОДІЙ ПРОТЯГОМ ОДНОГО РОКУ ПІСЛЯ РЕГРЕСІЇ ЛІМФОПРОЛІФЕРАТИВНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

(57) Реферат:

Винахід стосується способу прогнозування кардіоваскулярних подій протягом одного року після регресії лімфопрولیферативних захворювань, за яким імуноферментним аналізом крові визначають рівень VE-кадгерину.

UA 108449 C2

Винахід стосується медицини, а саме - гематології і кардіології, і може бути використаним для прогнозування стану хворих, а саме вірогідності розвитку смерті, серцевих аритмій, кардіальних ішемічних подій, інсульту, хронічної серцевої недостатності та госпіталізацій, пов'язаних з кардіоваскулярними причинами, після регресії лімфопроліферативних захворювань.

Серцево-судинні події є обмежуючим фактором в лікуванні онкогематологічних захворювань. Успіхи сучасної терапії хронічних лімфопроліферативних захворювань (хронічна лімфоцитарна лейкемія, лімфоми, множинна мієлома) привели до значного збільшення тривалості життя пацієнтів, що обумовило збільшення значущості кардіоваскулярних подій як причин зниження якості життя, смерті пацієнтів після регресії лімфопроліферативних захворювань. Проблема прогнозування виникнення кардіоваскулярних подій у хворих після регресії лімфопроліферативних захворювань залишається не вирішеною, що робить розробку нових, більш достовірних способів прогнозування таких станів актуальною.

Відомий спосіб прогнозування кардіоваскулярних подій у хворих після гострого інфаркту міокарда, який полягає у дослідженні венозної крові у хворих через 2 місяці після гострого інфаркту міокарда на амбулаторно-поліклінічному етапі реабілітації. У крові в день звернення визначають коефіцієнт коагуляції і при величині його більше 2,8 прогнозують несприятливий перебіг післяінфарктного періоду (післяінфарктна стенокардія, повторний інфаркт міокарда, раптова смерть), при значенні коефіцієнта менше 2,7 прогнозують неускладнений перебіг реабілітаційного періоду протягом 1 року спостереження (Патент РФ 2115126, МПК G01N 33/86 Спосіб прогнозування течення постінфарктного періода. - Опубл. 10.07.1998).

Спільною суттєвою ознакою аналога та способу, що заявляється, є проведення імуноферментного аналізу крові для прогнозування виникнення несприятливих кардіоваскулярних подій.

Цей спосіб є недостатньо ефективним, тому що, по-перше, коефіцієнт коагуляції не є загальноприйнятим дослідженням у зв'язку з великою похибкою у результатах дослідження та низьким кореляційним зв'язком між коефіцієнтом коагуляції та частотою несприятливого прогнозу післяінфарктного періоду. По-друге, визначення показника через 2 місяці збільшує вірогідність розкиду результатів в зв'язку тим, що інфаркт міокарда не єдиний з факторів, що можуть впливати на коефіцієнт коагуляції протягом такого тривалого періоду.

Відомий спосіб прогнозування фібриляції передсердь, який полягає у проведенні імуноферментного аналізу крові на наявність *Chlamydia pneumoniae* та визначенні кількісного рівня запальних маркерів: С-реактивного протеїну, фактора некрозу пухлини альфа. У разі сіропозитивного результату, рівня С-реактивного протеїну вище за 1,8 мг/л та фактора некрозу пухлини альфа вище 2,4 пг/дл прогнозують виникнення фібриляції передсердь у хворих на ішемічну хворобу серця (Патент № 2303266 РФ МПК G01N 33/68. Спосіб прогнозування фібриляції передсердь у больных ишемической болезнью сердца // Изобретения. Полезные модели. - 2005.12.01.)

Спільною суттєвою ознакою аналога та способу, що заявляється, є проведення імуноферментного аналізу крові.

Цей спосіб є недостатньо ефективним, тому що визначення *Chlamydia pneumoniae* не є специфічним щодо ішемічної хвороби серця (в основі якої є процес атеросклеротичного ураження коронарних артерій). Є досить суперечливі дані щодо етіологічного зв'язку *C. pneumoniae* з атеросклерозом. Так, по-перше, *C. pneumoniae* була знайдена у макроскопічно незмінній аортальній стінці, по-друге, недостатня ефективність антибіотиків в профілактиці атеросклерозу ставлять під деякий сумнів ідею щодо ролі *C. pneumoniae* в етіології цього захворювання.

Найбільш близьким за технічною суттю та результатом є спосіб прогнозування виникнення кардіоваскулярних захворювань, який включає проведення імуноферментного аналізу крові і визначення рівня макрофагального інгібіторного цитокіну в плазмі крові. При його збільшенні понад 600 пг/мл констатують наявність кардіоваскулярного захворювання і/або ризик виникнення кардіоваскулярної події (інфаркт міокарда, тромбоемолічний інсульт, кардіоваскулярна смерть). (Publication number: 7919084B2 Classification: A61K 39/395. Methods of diagnosis, prognosis and treatment of cardiovascular disease. - Publication date: 2011-04-05 // <http://patft.uspto.gov>).

Спільною суттєвою ознакою прототипу та способу, що заявляється, є проведення імуноферментного аналізу крові для визначення прогнозу виникнення кардіоваскулярних подій.

Цей спосіб є недостатньо ефективним, тому що, по-перше, макрофагальний інгібіторний цитокін знаходиться не тільки в активованих макрофагах, а і в нирках, підшлунковій залозі, простаті, плаценті. Тому визначення макрофагального інгібіторного цитокіну не є специфічним

щодо кардіоваскулярних подій. По-друге, є досить суперечливі дані щодо зв'язку макрофагального інгібіторного цитокіну з онкологічними захворюваннями. Так, виявлені високі концентрації макрофагального інгібіторного цитокіну у хворих на рак молочної залози, прямої кишки, простати, що, безумовно, знижує специфічність цього способу діагностики і прогнозу кардіоваскулярного захворювання.

В основу винаходу поставлено задачу удосконалення способу прогнозування кардіоваскулярних подій протягом одного року після регресії лімфопрولیферативних захворювань шляхом визначення плазмового рівня кадгерину, що забезпечить підвищення достовірності прогнозу.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі, який включає проведення імуноферментного аналізу крові, новим є те, що визначають рівень VE-кадгерину, і якщо показник складає 0,88 нг/мл та більше, то прогнозують виникнення кардіоваскулярних подій, а саме раптової серцевої смерті, фатальних і нефатальних аритмій, фатального і нефатального інфаркту міокарда, фатального і нефатального інсульту, серцевої недостатності протягом року після досягнення регресії лімфопрولیферативного захворювання.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, за технічним результатом полягає у такому.

За останні десятиріччя успіхи сучасної терапії хронічних лімфопрولیферативних захворювань привели до значного збільшення тривалості життя пацієнтів, що обумовило збільшення значущості кардіоваскулярних подій як причин зниження якості життя, смерті пацієнтів.

Кардіоваскулярні події після досягнення регресії лімфопрولیферативних захворювань включають раптову серцеву смерть, фатальні та нефатальні аритмії, фатальний та нефатальний інфаркт міокарда, фатальний та нефатальний інсульт, серцеву недостатність.

Що стосується факторів ризику виникнення кардіоваскулярних захворювань, то крім віку, захворювань серця в анамнезі, артеріальної гіпертензії, цукрового діабету, тютюнопаління, ожиріння, дисліпідемії, які відносяться до популяції в цілому, у хворих на лімфопрولیферативні захворювання з'являються додаткові фактори ризику, а саме порушення функції серцево-судинної системи внаслідок інфільтрації патологічним клоном лімфоцитів, пошкодження ендотеліоцитів внаслідок впливу на транспортні системи мітохондріальних електронів вільних радикалів, які утворюються після хіміотерапії та променевої терапії. Мають значення активація сигнальних шляхів, викид прозапальних цитокінів, порушення процесів ангиогенезу.

Визначення прогностичних факторів виникнення кардіоваскулярних подій у хворих після досягнення регресії лімфопрولیферативних захворювань є важливою і до кінця не з'ясованою задачею. Зрозуміло, що для прогнозування виникнення кардіоваскулярних подій у хворих на лімфопрولیферативні захворювання необхідно застосовувати специфічні маркери, які пов'язані зі всіма факторами ризику на механізми виникнення кардіоваскулярних подій в цій популяції. До таких маркерів відноситься VE-кадгерин.

VE-кадгерин є молекулою міжклітинної адгезії ендотеліоцитів та грає важливу роль в регулюванні ендотеліального бар'єру та пригнічує непомірний ріст судин. При залученні в запальний процес ангиогенез стимулюється регулюванням проникливості ендотеліоцитів через експресію VE-кадгерину на їх поверхні. Встановлено, що в гладеньком'язових клітинах артеріальної стінки VE-кадгерин забезпечує сигнальні ефекти ліпопротеїнів низької щільності. Експресія VE-кадгерину в ендотеліальних клітинах, гладеньком'язових клітинах і перичитах артеріальної стінки збільшується при атеросклерозі та неоангиогенезі, що свідчить про роль VE-кадгерину як одного з регуляторів патологічного ангиогенезу при розвитку кардіоваскулярних подій.

Екстравазальна інфільтрація клітинами запалення та клітинами патологічного клону при онкологічних захворюваннях змінюючи судинну проникливість впливають на туморзалежний ангиогенез. Хоча в процесі туморзалежного ангиогенезу беруть участь багато різноманітних молекул, всі вони пов'язані з ключовою дією VE-кадгерину, а саме впливом на стабілізацію ендотеліального бар'єру і гомеостазу завдяки його адгезивним і сигнальним властивостям.

Значення розділення концентрації циркулюючого VE-кадгерину для використання у прогностичних моделях з метою стратифікації хворих в групи високого ризику виникнення кардіоваскулярних подій у хворих після регресії лімфопрولیферативних захворювань не з'ясовані.

Таким чином, запропонована методика дозволить визначити пацієнтів групи високого ризику виникнення серцево-судинних подій у хворих після регресії лімфопрولیферативних захворювань протягом року, що, свою чергу, дозволить своєчасно провести профілактику цих подій.

Спосіб здійснюють таким чином. Хворому після досягнення регресії лімфопроліферативного захворювання натщесерце беруть кров з ліктьової вени одноразовою голкою (діаметр 0,8-1,1 мм) в одноразовий шприц об'ємом 5 мл. Під час забору крові в шприц кров з нього обережно (без утворення піни) переноситься в одноразову пробірку. Відділяють плазму як можна швидше для уникнення гемолізу, використовуються тільки негемолізовані зразки. Пробірку з кров'ю центрифугують протягом 15 хвилин при 3000 обертів за хвилину для відділення плазми. Пробу плазми з пробірки переміщують безпосередньо у мікропланшети для проведення імуноферментного аналізу. Визначення VE-кадгерину проводять методом імуноферментного аналізу при кімнатній температурі одразу після того, як був взятий зразок крові. Отримані результати інтерпретуються таким чином: якщо показник і якщо рівень VE-кадгерину складає 0,88 нг/мл та більше, то прогнозують виникнення кардіоваскулярних подій, а саме, раптової серцевої смерті, фатальних і нефатальних аритмій, фатального і нефатального інфаркту міокарда, фатального і нефатального інсульту, серцевої протягом року після досягнення регресії лімфопроліферативного захворювання.

Приклад 1. Хвора, П., 1947 р.н., була госпіталізована КУ "Запорізька обласна клінічна лікарня" ЗОР, історія хвороби № 9412, якій на підставі клінічної картини, гемограми та мієлограми зафіксовано регресію хронічної лімфоцитарної лейкемії. У пацієнта натщесерце взяли з ліктьової вени кров одноразовою голкою діаметр 1,1 мм в одноразовий шприц об'ємом 5 мл. Кров в шприц обережно (без утворення піни) перенесли в одноразову пробірку. Відділили плазму, а саме пробірку з кров'ю центрифугували протягом 15 хвилин при 3000 обертів за хвилину для відділення плазми. Пробу плазми з пробірки перемістили безпосередньо у мікропланшети для проведення імуноферментного аналізу. Визначили VE-кадгерин методом імуноферментного аналізу при кімнатній температурі одразу після того, як був взятий зразок крові. Результат склав 0,15 нг/мл. Отриманий показник свідчить про низьку вірогідність розвитку кардіоваскулярних подій, тобто немає необхідності посилення моніторингу стану пацієнта та призначення більш агресивного лікування або альтернативної стратегії терапії для попередження розвитку кардіоваскулярних подій.

Приклад 2. Хворий, Р., 1948 р.н., був госпіталізований КУ "Запорізька обласна клінічна лікарня" ЗОР, історія хвороби № 5127, якому на підставі клінічної картини, гемограми та мієлограми зафіксовано регресію хронічної лімфоїдної лейкемії. У пацієнта натщесерце взяли з ліктьової вени кров одноразовою голкою діаметр 1,1 мм в одноразовий шприц об'ємом 5 мл. Кров в шприц обережно (без утворення піни) перенесли в одноразову пробірку. Відділили плазму, а саме пробірку з кров'ю центрифугували на протязі 15 хвилин при 3000 обертів за хвилину для відділення плазми. Пробу плазми з пробірки перемістили безпосередньо у мікропланшети для проведення імуноферментного аналізу. Визначили VE-кадгерин методом імуноферментного аналізу при кімнатній температурі одразу після того, як був взятий зразок крові. Результат склав 4,25 нг/мл. Отриманий показник свідчить про високу вірогідність розвитку кардіоваскулярних подій, а саме раптової серцевої смерті, фатальних і нефатальних аритмій, фатального і нефатального інфаркту міокарда, фатального і нефатального інсульту, серцевої недостатності, що виникла вперше.

Необхідно відповідним чином посилити моніторинг стану пацієнта та за необхідності призначити більш агресивне лікування або альтернативну стратегію терапії для попередження розвитку кардіоваскулярних подій.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб прогнозування кардіоваскулярних подій протягом одного року після регресії лімфопроліферативних захворювань шляхом проведення імуноферментного аналізу крові, який **відрізняється** тим, що визначають VE-кадгерин, і якщо рівень VE-кадгерину складає 0,88 нг/мл та більше, то прогнозують виникнення кардіоваскулярних подій, а саме раптової серцевої смерті, фатальних і нефатальних аритмій, фатального і нефатального інфаркту міокарда, фатального і нефатального інсульту, серцевої недостатності протягом року після досягнення регресії лімфопроліферативного захворювання.

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

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

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