



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 99828

(13) U

(51) МПК

G01N 33/49 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 14206**

(22) Дата подання заявки: **31.12.2014**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.06.2015**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.06.2015, Бюл.№ 12**

(72) Винахідник(и):

**Колесник Юрій Михайлович (UA),
Самура Борис Борисович (UA)**

(73) Власник(и):

**ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,**

пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035
(UA),

Колесник Юрій Михайлович,

вул. Бородинська, 3, кв. 42, м. Запоріжжя,
69121 (UA),

Самура Борис Борисович,

вул. Грязнова, 88-б, кв. 13, м. Запоріжжя,
69068 (UA)

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ СЕРЦЕВО-СУДИННИХ ПОДІЙ ПРОТЯГОМ ОДНОГО РОКУ ПІСЛЯ ДОСЯГНЕННЯ РЕГРЕСІЇ ХРОНІЧНОЇ ЛІМФОЦИТАРНОЇ ЛЕЙКЕМІЇ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування серцево-судинних подій протягом одного року після досягнення регресії хронічної лімфоцитарної лейкемії шляхом проведення імуноферментного аналізу крові, причому визначають галектин-3 та NT-pro-BNP, і якщо рівень галектину-3 складає 10,8 нг/мл та більше і NT-pro-BNP 15,3 фмоль/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 регресії хронічної лімфоцитарної лейкемії.

UA 99828 U

Корисна модель стосується медицини, а саме - гематології і кардіології, і може бути використаною для прогнозування стану хворих, а саме вірогідності розвитку смерті, серцевих аритмій, кардіальних ішемічних подій, інсульту, хронічної серцевої недостатності та госпіталізацій, пов'язаних з серцево-судинними причинами, після досягнення регресії хронічної

лімфоцитарної лейкемії.

Серцево-судинні події є обмежуючим фактором в лікуванні онкогематологічних захворювань. Успіхи сучасної терапії хронічної лімфоцитарної лейкемії привели до значного збільшення тривалості життя пацієнтів, що обумовило збільшення значущості серцево-судинних подій як причин зниження якості життя, смерті пацієнтів після досягнення регресії хронічної лімфоцитарної лейкемії. Проблема прогнозування виникнення кардіоваскулярних подій у хворих після досягнення регресії хронічної лімфоцитарної лейкемії залишається невирішеною, що робить розробку нових, більш достовірних способів прогнозування таких станів актуальною.

Відомий спосіб прогнозування серцево-судинних 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 G01N33/86 Спосіб прогнозування течення постінфарктного періоду. - Опубл. 10.07.1998).

Спільною суттєвою ознакою аналога та способу, що заявляється, є проведення імуноферментного аналізу крові для прогнозування виникнення несприятливих серцево-судинних 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 G01N33/68. Спосіб прогнозування фібриляції передсердий 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 серцево-судинних 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 серцево-судинної події (інфаркт міокарда, тромбоемолічний інсульт, кардіоваскулярна смерть). (Publication number: 7919084B2 Classification: A61K39/395. 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 серцево-судинного захворювання.

5 В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу прогнозування серцево-судинних подій протягом одного року після досягнення регресії хронічної лімфоцитарної лейкемії шляхом визначення плазмового рівня галектину-3 і N-термінального фрагмента мозкового натрійуретичного пептиду (NT-pro-BNP), що забезпечить підвищення достовірності прогнозу.

10 Поставлена задача вирішується тим, що у способі, який включає проведення імуноферментного аналізу крові, новим є те, що визначають рівень галектину-3 і NT-pro-BNP, і якщо рівень галектину-3 складає 10,8 нг/мл та більше і NT-pro-BNP 15,3 фмоль/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 регресії хронічної лімфоцитарної лейкемії.

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

20 За останні десятиріччя успіхи сучасної терапії хронічної лімфоцитарної лейкемії привели до значного збільшення тривалості життя пацієнтів, що обумовило збільшення значущості серцево-судинних подій як причин зниження якості життя, смерті пацієнтів.

Серцево-судинні події після досягнення регресії хронічної лімфоцитарної лейкемії включають раптову серцеву смерть, фатальні та не фатальні аритмії, фатальний та нефатальний інфаркт міокарда, фатальний та нефатальний інсульт, серцеву недостатність.

25 Що стосується факторів ризику виникнення серцево-судинних захворювань, то крім віку, захворювань серця в анамнезі, артеріальної гіпертензії, цукрового діабету, тютюнопаління, ожиріння, дисліпідемії, які відносяться до популяції в цілому, у хворих на хронічну лімфоцитарну лейкемію 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. Мають значення активація сигнальних шляхів, викид прозапальних цитокінів, порушення процесів ангиогенезу.

30 Визначення прогностичних факторів виникнення серцево-судинних подій у хворих після регресії хронічної лімфоцитарної лейкемії є важливою і до кінця нез'ясованою задачею. Зрозуміло, що для прогнозування виникнення серцево-судинних подій у хворих на хронічну лімфоцитарну лейкемію необхідно застосовувати специфічні маркери, які пов'язані зі всіма факторами ризику на механізми виникнення кардіоваскулярних подій в цій популяції.

35 Традиційно варіабельність плазмової концентрації NT-pro-BNP розглядалась як прогностичний маркер маніфестації хронічної серцевої недостатності та виникнення несприятливих клінічних наслідків. В той самий час, за відсутності клінічних проявів серцевої недостатності прогностична цінність елевації NT-pro-BNP не достатньо висока. Враховуючи той факт, що у пацієнтів з регресією хронічної лімфоцитарної лейкемії рівень NT-pro-BNP, що є маркером біомеханічного стресу, може збільшуватися без безпосереднього зв'язку із важкістю систолічної дисфункції, існує необхідність використання додаткових біомаркерів з метою підвищення прогностичної моделі. Одним з таких біомаркерів є циркулюючий галектин-3.

40 Галектин-3 відноситься до сімейства β -галактозидзв'язуючих лектинів, який розпізнає специфічний олігосахарид, лігандні глікопротеїди або гліколіпіди на мембранах сусідніх клітин або в екстрацелюлярному матриксі. Галектин-3 утворюється активованими макрофагами і переважно експресується при субклінічному атеросклерозі, ішемічній хворобі серця, серцевій недостатності. Галектин-3 має не тільки ключову роль у запаленні, а і в прогресії пухлини завдяки відображенню внутрішньоклітинної та позаклітинної активності.

Тому NT-pro-BNP та галектин-3 є найбільш достовірними та специфічними маркерами розвитку несприятливих клінічних подій у хворих з регресією хронічної лімфоцитарної лейкемії.

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

60 Спосіб здійснюють таким чином. Хворому після хіміотерапії 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 галектину-3 проводять методом імуноферментного аналізу при кімнатній температурі одразу після того, як був взятий зразок крові. Отримані результати інтерпретуються таким чином: якщо рівень галектину-3 складає 10,8 нг/мл та більше і NT-pro-BNP 15,3 фмоль/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 регресії хронічної лімфоцитарної лейкемії.

Приклад 1. Хворий, П., 1948 р. н., був госпіталізований в КУ "Запорізька обласна клінічна лікарня" ЗОР, історія хвороби № 8076, у якого після 6 курсів хіміотерапії (доксорубіцин, вінкристин, циклофосфамід, преднізолон) була встановлена регресія 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. Одразу після того, як був взятий зразок крові, визначили галектин-3 методом імуноферментного аналізу при кімнатній температурі. Результат склав 4,44 нг/мл. Одразу після того, як був взятий зразок крові, визначили NT-pro-BNP методом імуноферментного аналізу при кімнатній температурі. Результат склав 12,16 фмоль/мл. Отриманий показник свідчить про низьку вірогідність розвитку серцево-судинних подій, тобто немає необхідності посилення моніторингу стану пацієнта та призначення більш агресивного лікування або альтернативної стратегії терапії для попередження розвитку серцево-судинних подій.

Приклад 2. Хворий, Р., 1951 р. н., був госпіталізований в КУ "Запорізька обласна клінічна лікарня" ЗОР, історія хвороби № 18366, у якого після 6 курсів хіміотерапії (доксорубіцин, вінкристин, циклофосфамід, преднізолон) була встановлена регресія 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. Одразу після того, як був взятий зразок крові, визначили галектин-3 методом імуноферментного аналізу при кімнатній температурі. Результат склав 16,51 нг/мл. Одразу після того, як був взятий зразок крові, визначили NT-pro-BNP методом імуноферментного аналізу при кімнатній температурі. Результат склав 19,87 фмоль/мл. Отриманий показник свідчить про високу вірогідність розвитку серцево-судинних 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 серцево-судинних подій.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування серцево-судинних подій протягом одного року після досягнення регресії хронічної лімфоцитарної лейкемії шляхом проведення імуноферментного аналізу крові, який **відрізняється** тим, що визначають галектин-3 та NT-pro-BNP, і якщо рівень галектину-3 складає 10,8 нг/мл та більше і NT-pro-BNP 15,3 фмоль/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 регресії хронічної лімфоцитарної лейкемії.

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