



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **114456** (13) **U**

(51) МПК

A61K 31/34 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 09249	(72) Винахідник(и): Казаков Юрій Михайлович (UA), Чекаліна Наталія Ігорівна (UA), Бурмак Юрій Григорович (UA), Петров Євген Євгенович (UA), Мануша Юлія Іванівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 05.09.2016	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.03.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.03.2017, Бюл.№ 5	(73) Власник(и): ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ "УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ", вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36011 (UA)

(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ СИСТЕМНОГО ЗАПАЛЕННЯ ПРИ ІШЕМІЧНІЙ ХВОРОБІ СЕРЦЯ

(57) Реферат:

Спосіб корекції хронічного системного запалення при ішемічній хворобі серця включає застосування дієти для попередження або зменшення системного запалення. З раціону виключають тваринні жири, вуглеводи, що легко засвоюються, та збільшують вживання овочів і фруктів, й додатково призначають кверцетин у дозі 120 мг на добу протягом двох місяців.

UA 114456 U

Корисна модель, що заявляється, належить до галузі медицини, а саме до терапії, кардіології, та може також бути використана при лікуванні різних хвороб, у патогенезі яких має місце хронічне системне запалення.

Хронічне системне запалення (ХСЗ) є одним з головних патогенетичних компонентів атеросклерозу (АС). В умовах запальної активації утворюється велика кількість реактивних молекул, що призводить до окислення ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), особливо за умов гіперхолестеринемії. Окислені ЛПНЩ набувають аутоантигенних властивостей, утворюючи циркулюючі імунні комплекси з аутоантитілами. При АС порушується генерація Т-регуляторних лімфоцитів $CD4^+CD25^+$, що зумовлює недостатню супресію запалення [Hedrick C.C. Lymphocytes in Atherosclerosis /C.C. Hedrick //Arterioscler. Thromb. Vase. Biol. - 2015/ -Vol. 35, № 2. - P. 253-257]. У атеромі виявлені цитокіни (ЦК), що активують Т1-хелпери та сприяють їх диференціюванню у Т1-ефектори. Це, насамперед, інтерферон-індукований протеїн-10 (IIP-10), що продукують Т-клітини $CD4^+$. IIP-10 рекрутує Т1-хелпери, посилюючи активність запальної реакції. $CD4^+$ Т-клітини, що накопичуються в ділянках атеросклеротичних уражень, сприяють прогресуванню АС, підвищуючи експресію рецепторів для окислених ЛПНЩ, рецепторів хемокінів та опосередковану ядерним фактором каппа В (NF-kB) продукцію прозапальних ЦК - фактору некрозу пухлини (TNF- α), інтерлейкіну 1β (IL- 1β), та інших, які активують ендотеліюцити [Lin P.J. Endothelium dysfunction in cardiovascular diseases /P.J. Lin, C.H. Chang //Changcheng Yi Xue Za Zhi. -1994. -Vol. 17, № 3. - P. 198-210].

Наведені дані обґрунтовують доцільність активного пошуку шляхів корекції ХСЗ при АС, що є морфологічним субстратом ішемічної хвороби серця (ІХС), з метою підвищення ефективності лікувальних заходів.

Існує спосіб корекції системного запалення шляхом застосування інгібітора ІкВ-кінази [Патент RU № 2 320 338]. Спосіб забезпечує високу протизапальну та протибільову ефективність за рахунок гальмування NF-kB-опосередкованої сигналізації. Недоліком способу є відсутність розробленого препарату за заявленою формулою для клінічної практики.

Запропоновано спосіб зниження або попередження запального компонента захворювання у хворого, який полягає в тому, що вводять фармацевтичну композицію з терапевтично ефективною кількістю піримідинілсульфонамідного з'єднання [Патент US № 017110 B1]. Недоліком способу є відсутність визначеного лікарського засобу, який відповідає зазначеній формулі, що є обмеженням щодо клінічного впровадження.

Найближчим аналогом до способу, що заявляється, є спосіб лікування системного запалення, що полягає у застосуванні дієти для попередження або зменшення системного запалення з використанням харчової композиції, яка містить інактивовані лактобацили, що забезпечує зниження рівня прозапальних цитокінів [Патент RU № 2 468 808]. Недоліком способу є відсутність верифікації дози лактобацил та орієнтація, переважно, на немовлят.

В основу корисної моделі поставлена задача розробки способу корекції системного запалення шляхом вдосконалення існуючого способу. Запропонована корисна модель дозволяє розширити арсенал способів корекції системного запалення, що є актуальним при ІХС, а також за умов різних патологічних станів, в основі яких лежить ХСЗ.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб корекції хронічного системного запалення, що включає застосування дієти для попередження або зменшення системного запалення, в якому згідно корисної моделі з раціону виключають тваринні жири, вуглеводи, що легко засвоюються, та збільшують вживання овочів та фруктів й додатково призначають кверцетин (Кверцетин®, ЗАТ НВЦ "Борщагівський ХФЗ", Україна), у дозі 120 мг на добу протягом двох місяців.

Кверцетин отримують у промисловості шляхом гідролізу рутину, який одержують з гречки або Софори японської [Флавоноїд кверцетин: фармакологічні властивості та клінічне використання /Ватутін М.Т., Гончаренко Т.С., Склянна О.В., Закхама С. //Ліки. - 2005. - № 3-4. - С.19-27].

Кверцетин нормалізує жировий обмін, знижує окислення ліпідів, гальмує утворення гідроперекисів, що забезпечує мембранопротекторну дію. Кардіопротекторні властивості кверцетину пов'язані з його антиоксидантними та протизапальними властивостями, що сприяє покращенню метаболізму кардіоміоцитів та поліпшенню кровообігу [Росул М.М. Ефективність застосування антиоксиданту кверцетину в комплексній терапії хворих на ішемічну хворобу серця та супутнім цукровим діабетом II типу //Галицький лікарський вісник. -2004. -№ 1. -С. 96-98; Потапович А.И. Функциональные нарушения в эндотелиальных клетках при воздействии окислений ЛПНП и их коррекция растительными поли фенолами /А.И. Потапович, Т.О. Сухан, Т.В. Костюк [и др.] //Вестник БГУ. Серия 2, Химия. Биология. География. - 2010. - № 3. - С. 43-47].

Спосіб виконують наступним чином. Хворим на ІХС, що перебувають стандартній терапії β-блокаторами, статинами, аспірин), застосовують дієту з виключенням з раціону тваринних жирів, вуглеводів, які легко засвоюються, зі збільшенням вживання овочів та фруктів, та додатково призначають кверцетин (Кверцетин®, ЗАТ НВЦ "Борщагівський ХФЗ", Україна), у дозі 120 мг на добу.

При здійсненні заявленого способу досягається зниження активності системного запалення у термін 2 місяці від початку терапії.

Для досягнення заявленого результату здійснено наступний об'єм заходів.

Проведено обстеження 85 пацієнтів обох статей (33 жінки та 52 чоловіки) віком від 48 до 70 років з верифікованою за допомогою тесту з дозованим фізичним навантаженням (велоергометрія) ГХС (стенокардія напруги стабільна, ІІ ФК). Шляхом випадкової вибірки сформовано групу дослідження (30 осіб) та групу порівняння (55 осіб).

Здійснення заявленого способу відбувалося наступним чином. Усім залученим до дослідження хворим проведено попереднє лабораторне обстеження: визначали рівень ЦК - TNFα, IL-1β та IL-10 у сироватці крові імуноферментним методом та експресію гену матричної рибонуклеїнової кислоти (mRNA) інгібітору каппа В (IκB) NF-κB методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу (Real-time PCR) з застосуванням відносного St методу. Додатково визначали вміст холестерину (ХС) та ХС ЛПНЩ у сироватці крові.

Після попереднього обстеження усім хворим призначено стандартну терапію (бета-блокатори, аспірин, статини). Хворим групи дослідження призначено дієту з виключенням з раціону тваринних жирів, вуглеводів, які легко засвоюються, зі збільшенням вживання овочів та фруктів, та, додатково, кверцетин у дозі 120 мг (3 г гранул) на добу у 3 прийоми, розчиняючи у 100 мл води, per os за 30 хвилин перед їжею протягом двох місяців. Наприкінці курсу терапії проведено повторне обстеження у вищезазначеному обсязі. Під час проведення лікування ускладнень, алергічних реакцій, індивідуальної непереносимості лікувальних засобів у пацієнтів обох груп дослідження не виявлено.

У хворих обох груп дослідження виявлено підвищений вміст IL-1β (8,96±3,05 пг/мл) (у здорових осіб - 1,6 (процентильний інтервал - 0-11 пг/мл), TNFα (7,92±2,87 пг/мл) (у здорових - 0,5 (0-6) пг/мл), вміст IL-10 дорівнював 10,21±3,71 пг/мл (у здорових - 5 (0-31) пг/мл). Експресія mRNA IκB (2^{-ΔΔC_t}) у групах вірогідно не відрізнялася. Відмічалось підвищення ХС сироватки крові та ХС ЛПНЩ у хворих обох груп дослідження (p<0,01), міжгрупових відмінностей не виявлено.

За даними таблиці 1, через 2 місяці стандартної терапії, попри твердження про вплив статинів на рівень системного запалення, у хворих на ІХС суттєвих відмінностей вмісту ЦК у крові не відбулося (p>0,05). Вміст ХС та ХС ЛПНЩ знизився в обох групах (p<0,01), вірогідної між групової різниці значень показників не виявлено.

Таблиця 1

Концентрація цитокінів у сироватці крові хворих груп дослідження

Група/Показник	Стат. показник	TNFα, пг/мл		IL-1β, пг/мл		IL-10, пг/мл	
		Перед лікуван.	Після лікування	Перед лікуван.	Після лікування	Перед лікуван.	Після лікування
Група Порівняння	X σ	8,53±3,24	8,34±2,17	9,46±2,98	7,16±2,98	10,51±3,33	8,72±3,51
		p=0,866		p=0	127	p=0	134
Група дослідження (кверцетин)	X σ	7,32±2,50	5,74±1,77	8,46±3,12	6,14±2,44	9,92±4,08	6,16±3,98
		p=0,060		p=0,008		p=0,064	

Примітки: X - середнє значення, σ - середнє квадратичне відхилення, p - вірогідність.

Таблиця 2

Рівень експресії mRNA IκB у мононуклеарах периферичної крові хворих груп дослідження

Група/ Показник	Статистичний показник	Група Порівняння			Група дослідження (кверцетин)		
		Перед ліку- ванням	Після лікування	$2^{-\Delta\Delta Ct}$ (min- max)	Перед ліку- ванням	Після лікування	$2^{-\Delta\Delta Ct}$ (min- max)
Експресія mRNA IκB, $2^{-\Delta Ct}$	$\bar{X} \pm \sigma$	0,0234 $\pm 0,0198$	0,0253 $\pm 0,0155$	0,120 (-2,64 - +2,83)	0,0261 $\pm 0,0166$	0,0092* $\pm 0,0033$	-2,817* (-5,66- -1,07)

Примітки: 1. \bar{X} - середнє значення, σ - середнє квадратичне відхилення, p - вірогідність

2. * - вірогідна різниця з показниками обох груп дослідження перед та після лікування (p<0,01)

Під впливом дієти та кверцетину вірогідно знизився вміст IL-1 β (p=0,008), вміст TNF α та IL-10 мав тенденцію до зниження (p=0,060 та p=0,064 відповідно) (табл. 1).

5 У групі порівняння експресія mRNA IκB вірогідно не змінилася (p=0,570), проте, при застосуванні дієти та кверцетину експресія mRNA IκB знизилася (p=0,0029), за методом $2^{-\Delta\Delta Ct}$ - у 2,82 \pm 1,39 рази, що свідчить про ефективність кверцетину у сполученні з дієтою, що застосовувалася, в умовах атерогенезу як блокатору активації NF-κB (табл. 2).

10 Таким чином, у хворих на ІХС кверцетин виявляє протизапальний ефект: знижує у крові вміст прозапальних ЦК та викликає зменшення експресії mRNA IκB, що свідчить про зниження NF-κB-опосередкованої сигналізації, і, вірогідно, зумовлює його протизапальну активність. За даними численних наукових досліджень, кверцетин виявляє властивості потужного антиоксиданту [Панкин В.З. Антиоксиданти в комплексной терапии атеросклероза: pro et contra /В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, Ю.Н. Беленков //Кардиология. - 2004. -№ 2. -С. 72-79]. Збільшення у

15 раціоні рослинних антиоксидантів та виключення тваринних жирів, також, зменшує ліпопероксидацію та сприяє розвитку протизапального ефекту. Кверцетин блокує 5-ліпоксигеназу - ключовий фермент біотрансформації арахідонової кислоти за ліпоксигеназним шляхом, гальмуючи утворення лейкотриєнів, які обумовлюють хемотаксис поліморфноядерних лейкоцитів й підвищення проникливості судинної стінки [Волощук Н.І. Флавоноїди та ізофлавоноїди в лікуванні запальних захворювань [Текст] /Н.І. Волощук //Вісн. Вінниц. нац. мед. ун-ту ім. М.І. Пирогова. - 2013. - Т. 17, № 1. - С. 228-235]. Вплив на метаболізм лейкотриєнів є важливим ефектом кверцетину, що забезпечує протизапальні властивості.

Виявлено властивість кверцетину активувати білок сіртуїн-1, який забезпечує щільність гістонного каркаса і попереджає транскрипцію генів запалення, що, можливо, також робить внесок у механізм його дії [Hung C.H. Quercetin is a potent anti-atherosclerotic compound by activation of SIRT1 signaling under oxLDL stimulation /C.H. Hung, S.H. Chan, P.M. Chu [et al.] //Mol. Nutr. Food Res. -2015. - Vol. 59, № 10. -P. 1905-1917].

Отримані дані обґрунтовують доцільність активного застосування кверцетину як засобу, що зменшує ХСЗ, у комплексній терапії ІХС.

30 Приклад 1

Хворий У., 58 років. Діагноз: ІХС: стенокардія напруги стабільна, II ФК, СН I, без значущого порушення систолічної функції, ризик середній. Лабораторні дані: рівень ХС - 5,8 ммоль/л, рівень ХС ЛПНЩ - 3,49 ммоль/л, TNF α -13,1 пг/мл, IL-1 β -12,3 пг/мл, IL-10-11,5 пг/мл, експресія mRNA IκB-0,0277 ($2^{-\Delta Ct}$).

35 Хворому призначено дієту з виключенням з раціону тваринних жирів, вуглеводів, які легко засвоюються, зі збільшенням вживання овочів та фруктів, стандартну терапію (бісопролол 5 мг на добу, аторвастатин 10 мг на добу, ацетилсаліцилова кислота 75 мг на добу, нітрати короткої дії за вимогою) та додатково призначено кверцетин у дозі 120 мг на добу протягом 2 місяців.

40 По закінченні курсу терапії відмічалось покращення загального стану хворого, підвищення фізичної активності та працездатності. Результати лабораторних досліджень: рівень ХС - 4,3 ммоль/л, рівень ХС - ЛПНЩ 2,37 ммоль/л, TNF α -8,8 пг/мл, IL-1 β -7,9 пг/мл, IL-10-11,2 пг/мл, експресія mRNA IκB 0,0393 ($2^{-\Delta Ct}$), $2^{-\Delta\Delta Ct}$ -1,44.

Приклад 2

45 Хворий С., 67 років. Діагноз: ІХС: стенокардія напруги стабільна, II ФК, СН I, ризик високий, атеросклероз сонних артерій, гемодинамічно не значущий. Має обтяжливу спадковість за ССЗ.

Лабораторні дані: рівень ХС-6,7 ммоль/л, рівень ХС ЛПНЩ - 3,96 ммоль/л, $\text{TNF}\alpha$ -10,9 пг/мл, IL-1 β -9,4 пг/мл, IL-10-9,3 пг/мл, експресія mRNA IkB 0,0197 ($2^{-\Delta\text{Ct}}$). Хворому призначено дієту з виключенням з раціону тваринних жирів, вуглеводів, які легко засвоюються, зі збільшенням вживання овочів та фруктів, стандартну терапію (бісопролол 5 мг на добу, аторвастатин 10 мг на добу, ацетилсаліцилова кислота 75 мг на добу, нітрати короткої дії за вимогою) та додатково - кверцетин у дозі 120 мг на добу протягом 2 місяців.

Наприкінці курсу лікування хворий відмічав покращення загального самопочуття, настрою, підвищення фізичної активності. Результати лабораторних досліджень: рівень ХС 5,1 ммоль/л, рівень ХС ЛПНЩ 3,29 ммоль/л, $\text{TNF}\alpha$ -6,4 пг/мл, IL-1 β -5,8 пг/мл, IL-10-9,0 пг/мл, експресія mRNA IkB 0,0372 ($2^{-\Delta\text{Ct}}$), $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ -1,94.

Приклад 3

Хвора В., 60 років. Діагноз: ІХС: стенокардія напруги стабільна, ІІ ФК, СН 0, ризик середній, атеросклероз сонних артерій, гемодинамічно не значущий. Лабораторні дані: загальний ХС - 5,2 ммоль/л, ХС ЛПНЩ - 3,3 ммоль/л, $\text{TNF}\alpha$ -10,6 пг/мл, IL-1 β -12,5 пг/мл, IL-10-13,0 пг/мл, експресія mRNA IkB 0,0235 ($2^{-\Delta\text{Ct}}$).

Хворій призначено дієту з виключенням з раціону тваринних жирів, вуглеводів, які легко засвоюються, зі збільшенням вживання овочів та фруктів, стандартну терапію (бісопролол 5 мг на добу, аторвастатин 10 мг на добу, ацетилсаліцилова кислота 75 мг на добу, нітрати короткої дії за вимогою) та додатково призначено кверцетин у дозі 120 мг на добу протягом 2 місяців.

Після закінчення курсу лікування хвора відмічала покращення загального самопочуття, зменшення сонливості, млявості, підвищення настрою та фізичної активності. Результати лабораторних досліджень: рівень ХС - 4,0 ммоль/л, рівень ХС ЛПНЩ - 4,12 ммоль/л, $\text{TNF}\alpha$ -10,0 пг/мл, IL-1 β -8,4 пг/мл, IL-10-11,0 пг/мл, експресія mRNA IkB 0,0375 ($2^{-\Delta\text{Ct}}$), $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ складало -1,75.

Отримані позитивні зміни клініко-лабораторних даних свідчать про зменшення активності ХСЗ при ІХС вже через 2 місяці від початку лікування під впливом дієти з виключенням з раціону тваринних жирів, вуглеводів, що швидко засвоюються, збільшенням вживання овочем та фруктів та додаванням кверцетину. Запропонований комплекс при ІХС може потенціювати плейотропні ефекти статинів.

Враховуючи отримані результати дослідження, кверцетин у дозі 120 мг на добу курсом 2 місяці у сполученні з дієтою з виключенням з раціону тваринних жирів, вуглеводів, що швидко засвоюються, збільшенням вживання овочем та фруктів може бути запропонований для застосування у терапії ІХС, АС, а також, для використання у комплексному лікуванні різних захворювань, в основі яких лежить хронічне системне запалення.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб корекції хронічного системного запалення при ішемічній хворобі серця, що включає застосування дієти для попередження або зменшення системного запалення, який **відрізняється** тим, що з раціону виключають тваринні жири, вуглеводи, що легко засвоюються, та збільшують вживання овочів і фруктів, й додатково призначають кверцетин у дозі 120 мг на добу протягом двох місяців.

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

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