



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **114464**

(13) **U**

(51) МПК

A61K 36/704 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 09270**

(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**

(72) Винахідник(и):

**Чекаліна Наталія Ігорівна (UA),
Казakov Юрій Михайлович (UA),
Кайдашев Ігор Петрович (UA),
Весніна Людмила Едуардівна (UA),
Шликова Оксана Анатоліївна (UA),
Микитюк Марина Володимирівна (UA),
Мамонтова Тетяна Василівна (UA),
Ізмайлова Ольга Віталіївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ
ЗАКЛАД УКРАЇНИ "УКРАЇНСЬКА
МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА
АКАДЕМІЯ",
вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36011 (UA)**

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ АТЕРОСКЛЕРОЗУ

(57) Реферат:

Спосіб лікування атеросклерозу полягає у призначенні пацієнтам натурального комплексу у вигляді капсул. При цьому як активний компонент використовують ресвератрол у дозі 50 мг по 2 капсули на день протягом двох місяців.

UA 114464 U

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

Проблема атеросклерозу (АС) залишається важливою і досі невирішеною задачею клінічної медицини. Ішемічна хвороба серця (ІХС), морфологічною основою якої є АС, очолює список 10 провідних причин смертності в світі і становить 12,8 %. ІХС лідирує серед причин серцево-судинної смертності в Україні (68,8 %) [Коваленко В.М. Стрес і хвороби системи кровообігу: [посібник] / В.М. Коваленко, В.М. Корнацький // К.: ДУ "ННЦ "Інститут кардіології імені акад. М.Д. Стражеска", 2015. - 354 с.].

Хронічне системне запалення (ХСЗ) є важливим патогенетичним компонентом АС. В умовах атерогенезу макрофаги проліферують в субендотелії артерій, активно синтезуючи прозапальні цитокіни (ЦК) - фактор некрозу пухлини (TNF α), інтерлейкін 1 β (IL-1J3), та інші, які активують ендотеліоцити [Lin P.J. Endothelium dysfunction in cardiovascular diseases / P.J. Lin, C.H. Chang // Changgeng Yi Xue Za Zhi. - 1994. - Vol. 17, № 3. - P. 198-210]. Це викликає активацію факторів транскрипції, насамперед, ядерного фактора каппа В (NF-kB), з підвищенням експресії генів запалення та секрецією молекул адгезії, хемокинів, ЦК, факторів росту, тощо [Herbein G. Tumor necrosis factor (TNF) α and TNF receptors in viral pathogenesis / G. Herbein, W. A. Cbrein // Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. - 2000. - Vol. 223. - P. 241-257]. В умовах запальної активації утворюється значна 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 (Treg) 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].

Наведені дані обґрунтовують доцільність активного пошуку засобів корекції ХСЗ при АС з метою підвищення ефективності лікувальних заходів.

Існує спосіб лікування атеросклерозу, при якому на тлі терапії статинами, теветеном, поліоксидонієм, призначають 5 сеансів плазмаферезу з додатковим введенням імунофану та флуімуцилу. Спосіб забезпечує модуляцію функціональної активності лейкоцитів та дегенерацію атерогенних ліпопротеїдів посередництвом зміни цитокінового профілю. Суттєвим недоліком способу є неоднозначний вплив плазмаферезу на організм з можливістю розвитку ускладнень, таких як алергічні реакції, порушення реологічних властивостей крові, інфікування через катетер та інші. Також обтяжливим для пацієнта є суттєве фармакологічне навантаження при використанні заявленого способу.

Запропоновано спосіб лікування АС та інших серцево-судинних захворювань, що полягає у застосуванні антиоксидантів - N-ацетилцистеїну й піролідін дитіокарбамату, які інгібують активацію NF-kB у ендотеліальних клітинах судин, що виникає під впливом дії різних патогенних стимулів [Патент US № 07/969934]. Недоліком способу є відсутність в Україні ліцензованого препарату піролідін дитіокарбамату, а також вузька спрямованість рекомендацій щодо застосування N-ацетилцистеїну, що використовують при захворюваннях верхніх та нижніх дихальних шляхів, через особливості його накопичення.

Існує спосіб профілактики атеросклерозу, що полягає у призначенні хворим препарату, активною речовиною якого є компонент часнику, який виявляє свій ефект на рівні клітин судинної стінки [Патент RU № 2082427]. Препарат перешкоджає накопиченню ліпідів в клітинах судини, має протизапальний ефект, знижує згортання крові, покращує розсмоктування гострих тромбів. Недоліком відомого способу профілактики і лікування атеросклерозу є утруднення його використання щодо хворих, які не переносять компоненти часнику, а також відсутність визначення точної формули діючої речовини, що утруднює верифікацію механізму дії та дозування.

Найбільш близьким до способу, що пропонується, є спосіб лікування АС, який полягає у призначенні пацієнтам натурального комплексу у вигляді капсул, у склад активних компонентів яких входять квітки бузини чорної, квітки календули та трава фіалки у певних кількісних співвідношеннях. Спосіб забезпечує ефективну профілактику та лікування АС за рахунок зниження експресії прозапальних ЦК та зменшення атерогенності сироватки крові [Патент RU № 2455016]. Недоліком способу є неможливість точної верифікації хімічних компонентів суміші, що утруднює індивідуальний підбір дози та об'єктивізацію ефективності дії.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб лікування атеросклерозу, що базується на корекції системного запалення шляхом вдосконалення існуючого способу.

Запропонована корисна модель дозволяє розширити арсенал способів патогенетично обґрунтованого лікування АС з можливістю використання щодо різних патологічних станів, в основі яких лежить ХСЗ.

Поставлена задача вирішується застосуванням розробленого способу лікування, який полягає у призначенні пацієнтам натурального комплексу у вигляді капсул, у якому, згідно з корисною моделлю, як активний компонент використовують ресвератрол (Евелор®, "Medochemie Ltd", Кіпр) у дозі 50 мг по 2 капсули на день протягом 2 місяців.

Ресвератрол є природною речовиною - фітоалексином з відомою хімічною формулою (3,4,5-тригідрокси-транс-стільбен), можливістю хімічного синтезу, що дозволяє чітко верифікувати його вміст у лікарській формі й стандартизувати лікувальні підходи при його використанні.

Ресвератрол має пряму антирадикальну дію за рахунок трьох гідроксильних груп у його хімічній формулі, регулює активність ферментів циклооксигенази та ліпоксигенази, має протизапальну активність - гальмує патогенну дію ключового фактора активації процесу запалення NF-κB шляхом інгібіції IκB-кінази, має ендотеліопротекторну дію за рахунок активації ендотеліальної синтетики оксиду азоту (eNOS) [Imamura G. Pharmacologic preconditioning with resveratrol: An insight with iNOS knockout mice / G. Imamura, A.A. Bertelli, A. Bertelli et // Am. J. Physiol. - 2002. - Vol. 282. - P. 1996-2003; Vernon W. Resveratrol prevents the prohypertrophic effects of oxidative stress on LKB1 / W. Vernon, Ph.D. Dolinsky, Y.M. Anita // Circulation. - 2009. - V. 119, № 12. - P. 1643-1652].

Спосіб виконують наступним чином. Хворим на АС (верифікований АС сонних артерій у сполученні з ІХС) на тлі стандартної терапії β-блокаторами, статинами, аспірином призначають додатково ресвератрол у дозі 100 мг на добу протягом двох місяців per os.

При використанні 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 наявністю ознак атеросклеротичного ураження судин шляхом визначення за допомогою ультразвукового дослідження потовщення комплексу "інтима-медіа" (KIM) загальних сонних артерій 0,9 мм і більше (з урахуванням віку) або, додатково, з наявністю атеросклеротичних бляшок (АБ), та доведеної за допомогою тесту з дозованим фізичним навантаженням (велоергометрія) ІХС (стенокардія напруги стабільна, I-II 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, вміст фібриногену (ФГ) у плазмі крові ваговим методом, вміст циркулюючих ендотеліальних мікрочастинок (ЦЕМ) з поверхневими антигенами CD32 та CD40 методом проточної цитофлуориметрії з використанням моноклональних антитіл та експресію гена матричної рибонуклеїнової кислоти (mRNA) інгібітора каппа В (IκB) ядерного фактора транскрипції каппа В (NF-κB) методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу (Real-time PCR) з застосуванням відносного Ct методу.

Після попереднього обстеження усім хворим призначено стандартну терапію (бета-блокатори, аспірин, статини). Хворим групи дослідження додатково призначено ресвератрол в дозі 100 мг на добу per os у один прийом після сніданку. Результати терапії оцінювали через 2 місяці шляхом проведення повторного 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 (9,76±3,33 пг/мл) (у здорових осіб - 1,6 (процентильний інтервал - 0-11 пг/мл), TNFα (9,11±2,43 пг/мл) (у здорових - 0,5 (0-6) пг/мл), вміст IL-10 дорівнював 10,97±2,97 пг/мл (у здорових - 5 (0-31) пг/мл). У 34 % хворих на ІХС був підвищений вміст ФГ в плазмі крові (див. таблицю).

Вміст ЦЕМ CD32⁺CD40⁺ у хворих на ІХС був також збільшений (p<0,05), дані здорових осіб - 1,3 (1,05-2,11)×10⁷/л. Експресія mRNA IκB (2") у групах вірогідно не відрізнялася. Під впливом ресвератролу знизився вміст IL-1β (6,98±2,52 пг/мл; p=0,0022), TNFα (7,28±2,18 пг/мл; p=0,013), відмічалася тенденція до зниження вмісту IL-10 (p=0,0546). У групі порівняння вірогідних змін вмісту ЦК не відмічалася. У хворих, що приймали ресвератрол, як і у групі порівняння, експресія mRNA IκB вірогідно не змінилася (p=0,441 та p=0,570 відповідно). В обох групах дослідження вірогідно зменшився вміст ФГ у плазмі крові (p<0,01) (див. таблицю).

Таблиця

Концентрація ЦЕМ CD32⁺CD40⁺ та фібриногену у сироватці крові хворих груп дослідження

Група/ Показник	Стат. показник	Фібриноген, г/л		ЦЕМ CD32 ⁺ CD40 ⁺ , ×10 ⁷ /л		Стат. показник.
		Перед лікуванням	Після лікування	Перед лікуванням	Після лікування	
Група порівняння	Х σ	3,78±0,91	3,17±0,35	1,73±0,23 (0,97-4,00)	1,85±0,19 (0,94-3,56)	Me _S Me Q1-Q3
		p=0,002		p=0,547*		
Група дослідження 1 (ресвератрол)	Х σ	4,06±0,85	2,92±0,41	1,93±0,20 (1,25-4,55)	1,40±0,13 (1,09-2,59)	Me _S Me Q1-Q3
		p=0,0001		p=0,038*		

Примітки:

1. Х - середнє значення, σ - середнє квадратичне відхилення, р - вірогідність, Me - медіана, Q1-Q3 - квартальний інтервал.

2. * - визначено вірогідність за критерієм Уїлкоксона.

У хворих, які приймали ресвератрол, відбулося вірогідне зниження ЦЕМ CD32⁺CD40⁺ (р=0,038) (див. таблицю). В групі порівняння зміни вмісту ЦЕМ CD32⁺CD40⁺ не відбулося (р=0,547).

- 5 Зниження ЦЕМ CD32⁺CD40⁺ під впливом ресвератролу свідчить про його ендотеліопротекторну та протизапальну активність. CD32 (FCγRIIB) - рецептор з суперсімейства імуноглобулінів, експресується на активованих лейкоцитах та ендотеліоцитах судин, патогенетичні ефекти якого - експресія молекул адгезії, зниження eNOS, простагліну тощо [Dermal microvascular endothelial cells express CD32 receptors in vivo and in vitro / M. Gröger, G. Sarmay, E. Fiebiger [et al.] // J. Immunol. - 1996. - Vol. 156, № 4. - P. 1549-1556]. CD40 -
- 10 рецептор, що належить до суперсімейства TNFα, експресується на імунних та неімунних клітинах. CD40/CD40L(CD154) каскад бере активну участь у формуванні та зростанні атеросклеротичної бляшки. Контакт між CD40L(CD154) Т-лімфоцитів та CD40 ендотеліоцитів, викликає активацію ендотелію, що призводить до синтезу і секреції ним численних ЦК, молекул
- 15 клітинної адгезії, ферментів, хемоаттрактантів тощо [Coronary artery disease progression is associated with C-reactive protein and conventional risk factors but not soluble CD40 ligand / K.W. Liang, W.H. Sheu, W.L. Lee [et al.] // Can. J. Cardiol. - 2006. - Vol. 22, № 8. - P. 691-696].

Таким чином, у хворих з верифікованим атеросклеротичним ураженням судин - сонних та коронарних артерій (ІХС) - ресвератрол виявляє протизапальний та ендотеліопротекторний ефекти: знижує у крові вміст прозапальних ЦК та ЦЕМ CD32⁺CD40⁺. Також, ресвератрол має пряму та опосередковану антирадикальну активність, що може робити внесок у виявлений механізм його дії. Результати дослідження можуть свідчити, що ефективність ресвератролу відносно зменшення рівню ХСЗ при АС пов'язана, також, з його здатністю активувати сіртуїн-1, який забезпечує щільність гістонного каркаса і попереджає транскрипцію генів запалення.

- 25 Отримані дані обґрунтовують доцільність застосування ресвератролу у комплексній терапії АС як ефективний засіб ендотеліопротекції та корекції системного запалення.

Приклад 1.

30 Хворий С, 60 років. Діагноз: ІХС: стенокардія напруги стабільна, ІІ ФК, СН І, без значущого порушення систолічної функції, ризик високий, атеросклероз сонних артерій, гемодинамічно не значущий. Лабораторні дані: рівень ХС - 5,6 ммоль/л, рівень ХС ЛПНЩ - 3,32 ммоль/л, ФГ - 3,9 г/л, TNFα - 14,3 пг/мл, IL-1β - 11,8 пг/мл, IL-10 - 11,4 пг/мл, експресія mRNA IκB-0,0237 (2^{-ΔCt}), ЦЕМ CD32⁺CD40⁺ - 4,8×10⁷/л.

35 Хворому призначено стандартну терапію (бісопролол 5 мг на добу, аторвастатин 10 мг на добу, ацетилсаліцилова кислота 75 мг на добу, нітрати короткої дії за вимогою). Додатково призначено ресвератрол у дозі 100 мг на добу протягом 2 місяців.

По закінченні курсу терапії відмічалось покращення загального стану хворого, підвищення фізичної активності та працездатності. Результати лабораторних досліджень: рівень ХС 4,1 ммоль/л, рівень ХС ЛПНЩ - 2,34 ммоль/л, ФГ - 2,8 г/л, TNFα - 9,3 пг/мл, IL-1β - 7,1 пг/мл, IL-10 - 10,2 пг/мл, експресія mRNA IκB 0,0345 (2^{-ΔCt}), 2^{-ΔΔCt}-1,42, ЦЕМ CD32⁺CD40⁺ - 1,8×10⁷/л.

Приклад 2.

Хворий П., 56 років. Діагноз: ІХС: стенокардія напруги стабільна, ІІ ФК, СН 0, ризик середній, атеросклероз сонних артерій, гемодинамічно не значущий. Має обтяжливу спадковість за ССЗ. Лабораторні дані: рівень ХС - 6,1 ммоль/л, рівень ХС ЛПНЩ - 3,86 ммоль/л, ФГ - 4,20 г/л, TNFα - 9,2 пг/мл, IL-1β - 8,7 пг/мл, IL-10 - 11,1 пг/мл, експресія mRNA ІкВ ІкВ 0,0339 ($2^{-\Delta Ct}$), ЦЕМ CD32⁺CD40⁺ - $5,7 \times 10^7$ /л. Хворому проводилося стандартне лікування (бісопролол 5 мг на добу, аторвастатин 10 мг на добу, ацетилсаліцилова кислота 75 мг на добу, нітрати короткої дії за вимогою). Додатково було призначено ресвератрол у дозі 100 мг на добу протягом 2 місяців.

Наприкінці курсу лікування хворий відмічав покращення загального самопочуття, настрою, підвищення фізичної активності. Результати лабораторних досліджень: рівень ХС - 5,0 ммоль/л, рівень ХС ЛПНЩ - 3,43 ммоль/л, ФГ - 2,5 г/л, TNFα - 6,7 пг/мл, IL-1β - 6,1 пг/мл, IL-10 - 9,5 пг/мл, експресія mRNA ІкВ 0,0276 ($2^{-\Delta Ct}$) $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 1,20, ЦЕМ CD32⁺CD40⁺ - $1,8 \times 10^7$ /л.

Приклад 3.

Хвора М., 60 років. Діагноз: ІХС: стенокардія напруги стабільна, ІІ ФК, СН 0, ризик середній, атеросклероз сонних артерій, гемодинамічно не значущий. Лабораторні дані: загальний ХС - 6,6 ммоль/л, ХС ЛПНЩ - 4,3 ммоль/л, ФГ - 3,6 г/л, TNFα - 13,2 пг/мл, IL-1β - 14,1 пг/мл, IL-10 - 12,5 пг/мл, експресія mRNA ІкВ 0,0183 ($2^{-\Delta Ct}$), ЦЕМ CD32⁺CD40⁺ - $4,1 \times 10^7$ /л.

Хворій проводилося стандартне лікування (бісопролол 5 мг на добу, аторвастатин 10 мг на добу, ацетилсаліцилова кислота 75 мг на добу, нітрати короткої дії за вимогою). Додатково було призначено ресвератрол у дозі 100 мг на добу протягом 2 місяців.

Після закінчення курсу лікування ресвератролом, хвора відмічала покращення загального самопочуття, зменшення сонливості, млявості, апатії, підвищення настрою та фізичної активності. Результати лабораторних досліджень: рівень ХС - 5,2 ммоль/л, рівень ХС ЛПНЩ - 3,18 ммоль/л, ФГ - 2,6 г/л, TNFα - 10,0 пг/мл, IL-1β - 8,1 пг/мл, IL-10 - 10,7 пг/мл, експресія mRNA ІкВ 0,0154 ($2^{-\Delta Ct}$), $2^{-\Delta\Delta Ct}$ складало -1,82, ЦЕМ CD32⁺CD40⁺ - $2,6 \times 10^7$ /л.

Позитивні зміни клініко-лабораторних даних свідчать про покращення функції ендотелію та зменшення активності хронічного системного запалення під впливом ресвератролу при АС (ІХС та АС сонних артерій) вже через 2 місяці від початку лікування. Додавання ресвератролу до базисної терапії при АС може потенціювати плейотропні ефекти статинів.

Враховуючи отримані результати дослідження, ресвератрол у дозі 100 мг на добу курсом 2 місяці може бути запропонований для застосування у терапії АС, ІХС, а також, для використання у комплексному лікуванні різних захворювань, в основі яких лежить хронічне системне запалення.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб лікування атеросклерозу, який полягає у призначенні пацієнтам натурального комплексу у вигляді капсул, який **відрізняється** тим, що як активний компонент використовують ресвератрол у дозі 50 мг по 2 капсули на день протягом двох місяців.