



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **78581** (13) **U**
(51) МПК

A61B 5/02 (2006.01)
A61P 9/02 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01)
G01N 33/49 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2012 10509</p> <p>(22) Дата подання заявки: 05.09.2012</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.03.2013</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.03.2013, Бюл.№ 6</p>	<p>(72) Винахідник(и): Деміхова Надія Володимирівна (UA), Попов Сергій Віталійович (UA), Власенко Ольга Олександрівна (UA), Вільхова Ірина Володимирівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007 (UA)</p>
---	--

(54) СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІЙОВАНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ХВОРОБІ НИРОК

(57) Реферат:

Спосіб диференційованого лікування хворих на артеріальну гіпертензію при хронічній хворобі нирок включає призначення фозиноприлу в залежності від рівня концентрації фактора некрозу пухлин- α в сироватці крові. При цьому концентрацію фактора некрозу визначають методом твердофазного імуноферментного аналізу із використанням пероксидази хрину зі стрептавідином як індикаторного ферменту.

UA 78581 U

Корисна модель належить до галузі медицини, зокрема до нефрології та кардіології, і може бути використана у практичній діяльності в лікуванні хворих на артеріальну гіпертензію при хронічній хворобі нирок.

5 Розвиток артеріальної гіпертензії (АГ) у хворих при хронічній хворобі нирок (ХХН) значно погіршує прогноз захворювання, сприяючи прогресуванню склеротичних змін та прискорюючи тим самим термін настання хронічної ниркової недостатності. Патогенез АГ у хворих на ХХН характеризується запаленням, що включає як імунні, так і суто запальні механізми. Здійснення запального процесу, початок та основні етапи розвитку запальної відповіді відбуваються за участю імунокомпетентних клітин і цитокінів, які продукуються клітинами імунної системи у

10 відповідь на стимуляцію бактеріальними антигенами та мають патогенетичну роль у багатьох патологічних процесах. Одним з можливих патогенетичних механізмів розвитку АГ при ХХН є участь цитокінів як медіаторів запалення. Можливий вплив цитокінів на основні фактори патогенезу ниркової АГ: затримку натрію та води, дисрегуляцію пресорних і депресорних гормонів, підвищення утворення вільних радикалів, ішемію нирки, генні порушення. Оскільки цитокіни активують клітини запальної та імунної системи та модифікують запальну відповідь, то за їх рівнем з певною долею вірогідності можна судити про перебіг запального процесу.

Цитокіни, в тому числі фактор некрозу пухлин- α (ФНП- α), які несуть відповідь за індукцію імунних реакцій, одночасно являються індукторами запальної відповіді, що дозволяє називати їх прозапальними цитокінами. Вони відіграють мобілізаційну роль та забезпечують

20 рекрутування до вогнища інфекції ефektorних клітин (макрофагів, нейтрофілів, лімфоцитів та ін.), стимулюють їх фагоцитарну, бактерицидну активність та індують запуск антигенспецифічної імунної відповіді, що в сукупності сприяє елімінації патогену. Захисна роль прозапальних цитокінів здійснюється тоді, коли ці медіатори працюють локально, у вогнищах запалення, сприяючи деструкції патогену та наступному відновленню структури органа.

25 Гіперпродукція таких цитокінів носить пошкоджуючий характер, призводить до розвитку дисфункції органів та може служити причиною розвитку низки патологічних станів. Так, ФНП- α гальмує скоротливість міокарда, що може бути зумовлено блокуванням β -адренергічних сигналів, збільшенням вмісту оксиду азоту в серці чи змінами гомеостазу внутрішньоклітинного кальцію. ФНП- α може визивати структурні зміни в міокарді, такі як гіпертрофія кардіоміоцитів та інтерстиціальний фіброз. Крім того, ФНП- α сприяє апоптозу кардіоміоцитів, активує металопротеїнази й порушує експресію їх інгібіторів, сприяючи ремоделюванню серця. Тому актуальним залишається питання запровадження методів лікування в аспекті впливу на рівень ФНП- α у хворих на АГ при ХХН.

Так, відомий спосіб діагностики захворювань внутрішніх органів шляхом виявлення активності цитокінової ланки патогенезу, за яким визначають рівень прозапальних цитокінів, а саме ФНП- α (див. Feldman A. M. TNF alpha-still a therapeutic target / A. M. Feldman // Clin. Transl. Sci. - 2008. - № 1(2). - P. 145). В зазначеному джерелі демонструється значимість фактора імунного запалення, ФНП- α , в розвитку і прогресуванні хронічної серцевої недостатності при серцево-судинних захворюваннях, а також хронічної ниркової недостатності при ХХН.

40 Відображено залежність клінічної активності, а саме стадії серцевої недостатності, від концентрації ФНП- α в сироватці крові. Проте даний спосіб не висвітлює вплив інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ) за схемою диференційованої терапії згідно з концентрацією цитокінів в сироватці крові, що є актуальним у хворих на АГ при ХХН.

Найближчим аналогом способу лікування, що заявляється, є використання інгібіторів АПФ у хворих з ХХН та серцево-судинними захворюваннями, ускладненими хронічною серцевою недостатністю, на фоні загальноприйнятої схеми лікування (див. Lim S. Blockade of renin-angiotensin-aldosterone system in kidney and heart disease: how much do we need? / S. Lim // Acta Med. Indones. - 2008. - Vol. 40, № 1. - P. 34-37).

У зазначеному джерелі показаний позитивний ефект застосування різних інгібіторів АПФ, у т. ч. фозиноприлу, на коронарний кровотік та покращення функції міокарда лівого шлуночка серця. Проте зазначений спосіб охоплює тільки гемодинамічні показники, не висвітлює вплив на цитокінову ланку патогенезу захворювання, тому не вдається значно покращити клінічний стан хворих, скоротити термін їх стаціонарного лікування.

В основу корисної моделі поставлена задача створити спосіб лікування АГ у хворих при ХХН в аспекті впливу на імунозапальну ланку шляхом використання інгібітору АПФ фозиноприлу в стандартних схемах лікування в залежності від концентрації ФНП- α в сироватці крові таких хворих, що дозволяє досягти покращення показників системної та внутрішньосерцевої гемодинаміки, покращити клінічний стан, віддалити терміни розвитку та прогресування хронічної ниркової недостатності, скоротити терміни стаціонарного лікування, покращити якість життя пацієнтів, зменшуючи економічні збитки.

60

Поставлена задача вирішується тим, що в стандартних схемах гіпотензивної терапії хворих на АГ при ХХН, в залежності від концентрації ФНП- α в сироватці крові, призначається інгібітор АПФ фозиноприл в дозі 10-20 мг на добу. Причому концентрацію ФНП- α визначають кількісно у сироватці крові хворого, в інтервалі концентрації 20-2000 пг/мл, методом твердофазного імуоферментного аналізу із використанням пероксидази хрину зі стрептавідином як індикаторного ферменту.

Застосування способу, що заявляється, наряду з усіма суттєвими ознаками, включаючи відмінні, дозволяє зменшити виникнення гострих гемодинамічних порушень, досягти регресу гіпертрофії лівого шлуночка та регресу ремоделювання крупних судин, зменшити частоту виникнення та прогресування хронічної ниркової недостатності, позитивно вплинути на тривалість та якість життя хворих.

Препарат фозиноприл використовується в формі таблеток - 10 мг та 20 мг при лікуванні АГ. Цей препарат відноситься до групи інгібіторів АПФ довготривалої дії. Клінічна ефективність фозиноприлу супроводжується доведеною 24-годинною дією. Доведено, що доза призначення інгібітору АПФ залежить від тяжкості стану хворого, а саме від стадії АГ, стадії хронічної ниркової недостатності, ступеня вираженості порушення систолічної та діастолічної функцій міокарда лівого шлуночка серця, а також від рівня концентрації прозапальних цитокінів у сироватці крові (наприклад, ФНП- α) як показника активності ланки патогенезу АГ у хворих на ХХН.

Спосіб здійснюють таким чином.

Хворих на АГ при ХХН обстежують загальноклінічними, лабораторними та інструментальними методами. З метою оцінки імунологічного статусу хворих на АГ при ХХН визначають концентрацію прозапального цитокіну - ФНП- α , методом твердофазного імуоферментного аналізу з використанням наборів реактивів TNF- α ТОВ "Укрмедсервіс" (Донецьк).

Для визначення рівня ФНП- α 5 мл крові з кубітальної вени обстежених в скляних пробірках центрифугують зі швидкістю 2000 оборотів за хвилину протягом 15 хвилин. Матеріал відбирають у пластикові пробірки та зберігають при температурі мінус 20 °С до проведення аналізу. Використовують набір реагентів ООО "Укрмедсервіс" (Донецьк) для кількісного визначення ФНП- α людини у сироватці крові в інтервалі концентрацій 20-2000 пг/мл. У наборі використовують твердофазний імуоферментний метод з використанням пероксидази хрину як індикаторного ферменту. Один тип моноклональних антитіл іммобілізують на внутрішній поверхні чашок планшетів для мікротитрування. Інший тип моноклональних антитіл до незалежного епігону молекули ФНП знаходиться у наборі у вигляді кон'югата з біотином. Індикаторним компонентом є кон'югат пероксидази хрину зі стрептавідином, який має високу спорідненість до біотину. Після інкубації та промивок до чашок вносять кон'югат пероксидази зі стрептавідином, знов інкубують, промивають, вносять субстрат та вимірюють активність пов'язаної пероксидази з використанням автоматичного фотометра для мікропланшетів. До чашок планшета А1 - В1 вносять по 100 мкг буфера С (нульова проба), до чашок А2 - А5 і В2 - В5 вносять по 100 мкл стандартів ФНП. У комплекті поставки знаходяться 4 флакони стандартних взірців ФНП: А - 50 пг/мл; В - 250 пг/мл; С - 500 пг/мл; Д - 1000 пг/мл. До чашок мікропланшета, що залишилися, вносять досліджувані взірці у об'ємі 100 мкл та інкубують 1 годину при температурі +37 °С, постійно перемішуючи. Видаляють рідину з чашок та тричі промивають їх буфером В та один раз дистильованою водою (300 мл на одну чашку). Проводять нову аспірацію рідини та залишають. Вносять до кожної лунки по 100 мл розчину інших антитіл та інкубують 2 години при температурі +18 - +20 °С, постійно помішуючи. Видаляють рідину з чашок, тричі промивають їх буфером В та один раз дистильованою водою (300 мл на одну чашку). Проводять повну аспірацію рідини, яка залишилась. Розводять 1:10 необхідну для аналізу кількість кон'югату стрептавідину з пероксидазою хрина буфером С та вносять по 100 мкл розчину до кожної чашки мікропланшета. Інкубують 30 хвилин при температурі +18 - +20 °С, постійно помішуючи. За 10-15 хвилин до закінчення інкубації готують розчин субстрату з барвником. Для цього змішують у рівних відношеннях розчини з маркуванням "Субстрат" та "Реагент", враховуючи, що на один стрип потрібно 1,6 мл готового розчину. Готовий розчин є стабільним протягом 1 години після приготування. Видаляють рідину з чашок та тричі промивають їх буфером В (300 мкл на одну чашку). Проводять повну аспірацію рідини, яка залишилась. Двічі промивають чашки планшета дистильованою водою. Висушують планшет шляхом стукання по поверхні лабораторного стола, вкритого фільтрувальним папером. Вносять у всі лунки по 100 мкл розчину субстрату з барвником. Інкубують по 10-20 хвилин при кімнатній температурі у захищеному від сонячних променів місці та спостерігають появу забарвлення. Зупиняють реакцію додаванням 50 мкл розчину сірчаної кислоти до кожної

лунки. Проводять облік результатів з використанням автоматизованого фотометра для мікропланшетів при довжині хвилі 450 нм, встановлюючи нульове поглинання на лунці зі стандартом 0. Концентрацію ФНП у взірцях визначають графічно за калібрувальною кривою "оптична густина - концентрація", використовуючи дані по концентраціях, в інтервалі

5 концентрацій 20-2000 пг/мл, що вказані для розчинів стандартів.

В залежності від концентрації ФНП- α призначають різну добову дозу фозиноприлу. Так, при концентрації менше 25 пг/мл фозиноприл призначають в добовій дозі 10 мг один раз; при концентрації більше 25 пг/мл фозиноприл призначають в добовій дозі 20 мг один раз.

Ефективність способу ілюструється такими клінічними прикладами.

10 В терапевтичному відділенні Сумського обласного клінічного госпіталю для інвалідів Вітчизняної війни були обстежені:

Приклад 1 (виписка з історії хвороби № 52). Хвора К.Т.Є., 72 роки. Знаходилась на стаціонарному лікуванні в терапевтичному відділенні Сумського обласного клінічного госпіталю для інвалідів Вітчизняної війни з діагнозом: ХХН II. Хронічний пієлонефрит у фазі загострення. Симптоматична артеріальна гіпертензія, II ступеня, II стадії, дуже високий ризик. Госпіталізована зі скаргами на ниючий біль в поперековій ділянці, мутний колір сечі. Діагноз підтверджений на основі даних клініко-лабораторного та інструментального дослідження. Було проведено визначення рівня концентрації ФНП- α в сироватці крові на 1 та 18 добу лікування. Концентрація ФНП- α (пг/мл) на 1 добу склала 32,4 пг/мл, тобто більше ніж 25 пг/мл. В нормі цей показник дорівнює 0. На фоні базового лікування (норфлуксацин, фурагін, урлесан, но-шпа, кальцію глюконат, аскорутин, нирковий чай) хворій було призначено фозиноприл в дозі 20 мг один раз на добу. Стан хворої покращився, що проявлялося в нормалізації як клінічних проявів захворювання, так і лабораторних. Так, на 18 добу концентрація ФНП- α в сироватці крові знизилася до 23,1 пг/мл. Таким чином, отримані результати лікування з використанням фозиноприлу свідчать про зменшення концентрації прозапального цитокіну ФНП- α на 28,7 % у хворої 1, що асоціювалося з покращенням клінічного стану та нормалізацією цитокінової ланки патогенезу АГ при ХХН.

Приклад 2 (виписка з історії хвороби № 493). Хворий П.С.М., 49 років. Знаходився на стаціонарному лікуванні в терапевтичному відділенні Сумського обласного клінічного госпіталю для інвалідів Вітчизняної війни з діагнозом: ХХН II. Хронічний пієлонефрит у фазі загострення. Симптоматична артеріальна гіпертензія, I ступеня, I стадії, високий ризик. Госпіталізований зі скаргами на ниючий біль в поперековій ділянці, набряки повік, почашчене сечопускання, загальну слабкість. Діагноз підтверджений на основі даних клініко-лабораторного та інструментального дослідження. Було проведено визначення рівня концентрації ФНП- α в сироватці крові на 1 та 18 добу лікування. Концентрація ФНП- α на 1 добу склала 18,1 пг/мл, тобто менше ніж 25 пг/мл. На тлі загально прийнятої терапії (ампліокс, 5-НОК, но-шпа, імунал, нирковий чай) хворому було призначено фозиноприл в дозі 10 мг один раз на добу. Після проведеного лікування стан хворого покращився, що проявлялося в нормалізації як клінічних проявів захворювання, так і лабораторних. На 18 добу концентрація ФНП- α в сироватці крові знизилася до 12,6 пг/мл. Так, отримані результати лікування з використанням фозиноприлу свідчать про зменшення концентрації прозапального цитокіну ФНП- α на 30,4 % у хворого 2, що асоціювалося з покращенням клінічного стану та нормалізацією цитокінової ланки патогенезу АГ при ХХН.

З наведених клінічних прикладів видно, що запропонований спосіб дозволяє підійти диференційовано до вибору антигіпертензивної терапії, враховуючи концентрацію прозапального цитокіну ФНП- α , покращити ефективність лікування хворих на АГ при ХХН.

Таким чином, при підвищенні рівня ФНП- α у сироватці крові до 25 пг/мл при наявності АГ при ХХН рекомендовано призначення інгібітору АПФ фозиноприлу в добовій дозі 10 мг, тоді як при підвищенні рівня ФНП- α вище 25 пг/мл рекомендованою є доза фозиноприлу 20 мг на добу. Підтверджено ефективність фозиноприлу відносно нормалізації цитокінової ланки патогенезу у хворих на АГ при ХХН, що дозволяє досягти покращення клінічних і гемодинамічних ефектів та нормалізації цитокінової ланки патогенезу АГ при ХХН. Метод підвищує ефективність стандартних схем лікування, зменшує економічні витрати і може бути використаний у лікувальних закладах.

55 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб диференційованого лікування хворих на артеріальну гіпертензію при хронічній хворобі нирок, що включає призначення інгібітору ангіотензинперетворюючого ферменту фозиноприлу на фоні загальноприйнятої схеми терапії, який **відрізняється** тим, що фозиноприл призначають в залежності від рівня концентрації фактора некрозу пухлин- α (ФНП- α) в сироватці крові, який

визначають кількісно в інтервалі концентрацій 20-2000 пг/мл, методом твердофазного імуноферментного аналізу із використанням пероксидази хрину зі стрептавідином як індикаторного ферменту, причому при концентрації ФНП- α до 25 пг/мл доза фозиноприлу становить 10 мг на добу, при підвищенні рівня ФНП- α вище за 25 пг/мл - 20 мг на добу.

5

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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

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