



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 33/68 (2015.12)

(21)(22) Заявка: 2014145259, 11.04.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
11.04.2013

Дата регистрации:
16.11.2018

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
12.04.2012 EP 12163921.5

(43) Дата публикации заявки: 10.06.2016 Бюл. № 16

(45) Опубликовано: 16.11.2018 Бюл. № 32

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 12.11.2014

(86) Заявка РСТ:
EP 2013/057626 (11.04.2013)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2013/153177 (17.10.2013)

Адрес для переписки:
105082, Москва, Спартаковский пер., д. 2, стр.
1, секция 1, этаж 3, ЕВРОМАРКПАТ

(72) Автор(ы):

ШТРУК Йоахим (DE),
КЛЕЛЕНД Джон ГФ (GB)

(73) Патентообладатель(и):
Б.Р.А.Х.М.С ГМБХ (DE)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: WO 2010118855 A1, 21.10.2010. WO
2009112307 A1, 17.09.2009. RU 2357250 C1,
27.05.2009.

(54) ПРОГНОЗИРОВАНИЕ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ ЯВЛЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С
ПРЕДПОЛАГАЕМЫМ ДИАГНОЗОМ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области клинической
диагностики и касается применения
прокальцитонина в способе прогнозирования
риска развития нежелательного явления у
пациента с диагнозом стабильной хронической
сердечной недостаточности или с
предполагаемым диагнозом стабильной
хронической недостаточности. Способ включает:
определение уровня прокальцитонина или его
фрагментов с длиной цепи, составляющей по
меньшей мере 12 аминокислотных остатков, в

образце жидкости организма указанного
пациента; корреляцию указанного уровня
прокальцитонина или его фрагментов с риском
развития нежелательного явления у указанного
пациента, причем указанная стадия корреляции
включает сравнение указанного уровня
прокальцитонина или его фрагментов с
пороговым уровнем. Если указанный уровень
прокальцитонина или его фрагментов превышает
указанный уровень, у указанного пациента
существует повышенный риск развития

R U 2 6 7 2 5 6 1 C 2

R U 2 6 7 2 5 6 1 C 2

R U 2 6 7 2 5 6 1 C 2

нежелательного явления, при этом значение указанного порогового уровня находится в

диапазоне между 0,015 нг/мл и 0,03 нг/мл. 2 н. и 8 з.п. ф-лы, 2 пр., 7 табл., 9 ил.

R U 2 6 7 2 5 6 1 C 2

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
G01N 33/68 (2015.12)

(21)(22) Application: 2014145259, 11.04.2013

(24) Effective date for property rights:
11.04.2013Registration date:
16.11.2018

Priority:

(30) Convention priority:
12.04.2012 EP 12163921.5

(43) Application published: 10.06.2016 Bull. № 16

(45) Date of publication: 16.11.2018 Bull. № 32

(85) Commencement of national phase: 12.11.2014

(86) PCT application:
EP 2013/057626 (11.04.2013)(87) PCT publication:
WO 2013/153177 (17.10.2013)

Mail address:

105082, Moskva, Spartakovskij per., d. 2, str. 1,
sektsiya 1, etazh 3, EVROMARKPAT

(72) Inventor(s):

SHTRUK Joakhim (DE),
KLELEND Dzhon GF (GB)

(73) Proprietor(s):

B.R.A.KH.M.S GMBKH (DE)

R U 2 6 7 2 5 6 1 C 2

R U 2 6 7 2 5 6 1 C 2

(54) PROGNOSIS OF ADVERSE EVENTS IN PATIENTS WITH SUSPECTED CHRONIC HEART FAILURE

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to the field of clinical diagnosis and relates to the use of procalcitonin in a method for predicting the risk of developing an adverse event in a patient with stable chronic heart failure or suspected stable chronic heart failure. This method comprises: determining the level of procalcitonin or fragments thereof with a chain length of at least 12 amino acids in a bodily fluid sample of said patient; correlation of said level of procalcitonin or its fragments with the risk of developing an adverse

event in this patient, wherein said correlation step comprises comparing said level of procalcitonin or fragments thereof with a threshold level. If this level of procalcitonin or its fragments exceeds the threshold level, this patient has an increased risk of getting an adverse event, wherein the value of said threshold level is in the range between 0.015 ng/ml and 0.03 ng/ml.

EFFECT: prognosis of adverse events in patients with suspected chronic heart failure is suggested.

10 cl, 2 ex, 7 tbl, 9 dwg

Область техники, к которой относится настоящее изобретение

Настоящее изобретение относится к области клинической диагностики. Прежде всего, настоящее изобретение относится к прогнозированию нежелательных явлений (например, смертности) у пациентов с диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности по результатам определения уровня прокальцитонина (ПКТ).

Предпосылки создания настоящего изобретения

Прокальцитонин (ПКТ) является общепринятым биомаркером для диагностики сепсиса. ПКТ отражает степень тяжести бактериальной инфекции, и его, прежде всего, используют для контроля прогрессирования инфекции в сепсисе, острый сепсис или септический шок. ПКТ можно использовать для определения активности системной воспалительной ответной реакции, связанной с сепсисом, для контроля эффективности противобактериального лечения и для оценки прогнозирования (Assicot и др., Lancet, 341, сс. 515-518 (1993), Clec'h C. и др., Crit. Care Med., 32, сс. 1166-1169 (2004), Lee и др., Yonsei Med. J., 45, сс. 29-37 (2004), Meisner и др., Curr. Opin. Crit. Care, 11, сс. 473-480 (2005), Wunder и др., Inflamm. Res., 53, сс. 158-163 (2004)). Повышение уровней ПКТ у пациентов с диагнозом сепсиса коррелирует с уровнем смертности (Oberhoffer и др., Clin. Chem. Lab. Med., 37, сс. 363-368 (1999)).

При бактериальных инфекциях концентрации ПКТ в плазме обычно превышают

0,25 нг/мл. Недавно было установлено, что при некоторых неинфекционных заболеваниях, таких как болезнь коронарных артерий или острые коронарные синдромы, концентрации ПКТ могут превышать диапазон нормальных значений, но оставаться ниже концентраций, которые в настоящее время связывают с бактериальными инфекциями, требующими противобактериальное лечение, и такие концентрации ПКТ связывают с прогнозированием нежелательных явлений у указанных пациентов (Sinnig и др., Circ. J., 75, сс. 1184-1191 (2011), Kelly и др., Biomarkers, 15, сс. 325-331 (2010)).

В заявках на выдачу патента EP 07015271.5 и EP 09719129.0 описано применение ПКТ для выделения групп риска пациентов, страдающих от стабильной болезни коронарных артерий и острых коронарных синдромов, соответственно.

Сердечная недостаточность (СН), также называемая застойной сердечной недостаточностью (ЗСН), представляет собой состояние сердечно-сосудистой системы, которое возникает, если проблема со структурой или функцией сердца нарушает способность сердца обеспечивать достаточный кровоток, чтобы удовлетворить потребности организма. Такая проблема может вызвать множество симптомов, прежде всего, одышку в состоянии покоя или при выполнении упражнений и/или утомляемость, признаки задержки жидкости, такие как застой крови в легких или припухлость голеностопного сустава, а также объективное доказательство аномальности структуры или функции сердца в состоянии покоя. Однако у некоторых пациентов симптомы могут полностью отсутствовать, при этом бессимптомные аномальности структуры или функции сердца в настоящее время считают предшественниками симптоматической сердечной недостаточности и связывают с высоким уровнем смертности (Wang и др., Circulation, 108, сс. 977-982 (2003)). Сердечная недостаточность является распространенным заболеванием: более 2% населения США, или почти 5 миллионов человек, страдают от сердечной недостаточности, при этом от 30% до 40% пациентов умирают от сердечной недостаточности в течение 1 года после установления диагноза (McMurry J.J., Pfeffer M.A., Lancet., 365, сс. 1877-1889 (2005)). Сердечная недостаточность часто не диагностируется из-за отсутствия общепринятых критериев установления диагноза и проблем при определении диагноза, прежде всего на ранней стадии. При

соответствующем лечении сердечную недостаточность можно контролировать у большинства пациентов, однако сердечная недостаточность является потенциально опасным для жизни состоянием, и прогрессирующее заболевание связывают с 10% общим уровнем ежегодной смертности. Сердечная недостаточность является основной

5 причиной госпитализации людей старше 65 лет (Haldemann G.A. и др., Am. Heart. J., 137, сс. 352-360 (1999)). Как следствие, в европейских странах на лечение сердечной недостаточности расходуется 1-2% всех средств, выделяемых на здравоохранение (Berry и др., Eur. J. Heart Fail., 3, сс. 749-753 (2001)).

Хроническая сердечная недостаточность (хроническая СН) является

10 продолжительным состоянием, развивающимся на протяжении месяцев и лет, обычно характеризующимся стабильной поддающейся лечению симптоматологией. Указанное состояние связано с лежащими в основе деятельности сердечно-сосудистой системы адаптационными ответными реакциями, которые, однако, могут оказывать

15 отрицательное действие в течение продолжительного периода времени и приводить к ухудшению состояния. Острая сердечная недостаточность (ОСН) является термином, используемым для описания обостренной или декомпенсационной сердечной недостаточности, относящейся к эпизодам, при которых у пациента могут наблюдаться изменения признаков и симптомов сердечной недостаточности, требующие неотложное лечение или госпитализацию. ОСН развивается быстро, в течение нескольких часов

20 или дней, и мгновенно может представлять угрозу для жизни, так как для сердца недостаточно времени для компенсационной адаптации. Хроническая СН также может вызвать декомпенсационное состояние, которое в большинстве случаев развивается в результате сопутствующего заболевания (такого как пневмония), инфаркта миокарда, аритмии, неконтролируемой гипертензии, или неспособности пациента соблюдать

25 рекомендации по ограничению приема жидкости, диете или проводить медикаментозное лечение.

В статье Miller и др., J. Cardiovasc. Trans. Res., 2, сс. 526-535 (2009) исследовали применение ПКТ для среднесрочного прогнозирования после-госпитальной смертности (среднее значение на протяжении 10 месяцев после госпитализации) от сердечно-30 сосудистых заболеваний в когорте пациентов с диагнозом хронической СН, госпитализированных из-за декомпенсации СН. Однако уровни ПКТ у не выживших и выживших пациентов не отличались. Напротив, наблюдалась тенденция увеличения уровней ПКТ у выживших пациентов по сравнению с уровнями ПКТ у не выживших пациентов.

35 В статье Maisel и др., Eur. J. Heart Fail., 14., сс. 278-286 (2012) сообщается, что уровень ПКТ в значительной степени связан с краткосрочным прогнозированием (90-дневным) общей смертности у пациентов с диагнозом острой сердечной недостаточности.

В заявке ЕР 07817601.3 описан способ диагностики инфекций дыхательных путей и легких, связанных с сердечной недостаточностью.

40 Однако не известно, можно ли связывать относительно высокие концентрации ПКТ у пациентов с диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или у пациентов с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности с прогнозированием нежелательного явления (например, смертности). Возможность предсказания нежелательных явлений при обследовании пациента имеет 45 большое значение, так как раннее выявление риска является необходимым условием для начала проведения мер, чтобы предотвратить развитие нежелательных явлений.

В связи с этим, цель настоящего изобретения заключалась в исследовании взаимосвязи уровней ПКТ у пациентов с диагнозом стабильной хронической сердечной

недостаточности или у пациентов с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности и прогнозирования нежелательных явлений (например, смертности).

Краткое описание сущности изобретения

- 5 Настоящее изобретение относится к способу прогнозирования *in vitro* нежелательных явлений (например, смертности) у пациента с диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности, который заключается в определении уровня ПКТ или его фрагментов в образце, полученном от указанного пациента, и в корреляции уровня 10 ПКТ или его фрагментов с риском развития нежелательного явления (например, смертности). Краткое описание фигур

На фиг. 1 показаны кривые выживаемости Каплана-Мейера по квинтилям ПКТ для пациентов с диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности 15 (прогнозирование смертности).

На фиг. 2 показаны кривые выживаемости Каплана-Мейера для прогнозирования состояния пациентов с диагнозом систолической дисфункции левого желудочка (СДЛЖ) в соответствии с квартилями ПКТ (общая смертность).

- На фиг. 3 показаны кривые выживаемости Каплана-Мейера для прогнозирования состояния пациентов с диагнозом СДЛЖ в соответствии с квартилями ПКТ (смертность от сердечно-сосудистых заболеваний).

На фиг. 4 показаны кривые выживаемости Каплана-Мейера для прогнозирования состояния пациентов с диагнозом обширного структурного заболевания сердца (ОСЗС) в соответствии с квартилями ПКТ (общая смертность).

- 25 На фиг. 5 показаны кривые выживаемости Каплана-Мейера для прогнозирования состояния пациентов с диагнозом ОСЗС в соответствии с квартилями ПКТ (смертность от сердечно-сосудистых заболеваний).

На фиг. 6 показаны кривые выживаемости Каплана-Мейера для прогнозирования состояния пациентов без диагноза ОСЗС, но с диагнозом мерцательной аритмии или с 30 уровнем мозгового натрийуретического пептида NT-proBNP>400 нг/л в соответствии с квартилями ПКТ (общая смертность).

- На фиг. 7 показаны кривые выживаемости Каплана-Мейера для прогнозирования состояния пациентов без диагноза ОСЗС, но с диагнозом мерцательной аритмии или с уровнем NT-proBNP>400 нг/л в соответствии с квартилями ПКТ (смертность от сердечно- 35 сосудистых заболеваний).

На фиг. 8 показаны кривые выживаемости Каплана-Мейера для прогнозирования состояния пациентов с синусным ритмом и уровнем NT-proBNP<400 нг/л в соответствии с квартилями ПКТ (общая смертность).

- На фиг. 9 показаны кривые выживаемости Каплана-Мейера для прогнозирования состояния пациентов с синусным ритмом и уровнем NT-proBNP<400 нг/л в соответствии 40 с квартилями ПКТ (смертность от сердечно-сосудистых заболеваний).

Подробное описание изобретения

- Настоящее изобретение относится к способу прогнозирования *in vitro* нежелательных явлений (например, смертности) у пациента с диагнозом стабильной хронической 45 сердечной недостаточности или с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности, который заключается в определении уровня ПКТ или его фрагментов в образце, полученном от указанного пациента, и в корреляции уровня ПКТ или его фрагментов с риском развития нежелательного явления (например,

смертности).

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения определяют уровень ПКТ, содержащего аминокислотные остатки 1-116 или 2-116 или 3-116 последовательности SEQ ID NO: 1.

5 Другой вариант осуществления настоящего изобретения включает определение уровня одного или более дополнительных прогностических маркеров в образце, полученном от указанного пациента, и комбинирование указанного уровня ПКТ или его фрагментов и указанного уровня одного или более дополнительного прогностического маркера указанной предрасположенности к развитию нежелательного 10 явления, при этом комбинирование указанного уровня ПКТ или его фрагментов с указанным уровнем одного или более дополнительных прогностических маркеров повышает прогностическую значимость указанного уровня ПКТ или его фрагментов для прогнозирования нежелательный явлений.

Другие маркеры, которые можно использовать в качестве дополнительного 15 прогностического маркера(ов), можно выбрать из группы, включающей тропонин, миелопироксидазу, С-реактивный белок, неоптерин, GDF-15, ST2, цистатин-С, а также следующие пептиды в их зрелой форме, в форме их предшественников, прогормонов и ассоциированных фрагментов прогормонов: предсердный натрийуретический пептид, адреномедуллин, эндотелины, вазопрессин.

20 В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения одним из указанных дополнительных прогностических маркеров(а) является pre-proBNP или его фрагменты (указанные фрагменты могут включать proBNP или его производные, т.е. BNP или NT-proBNP, как описано выше) в образце, полученном от указанного пациента.

25 В еще одном более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения указанным фрагментом pre-proBNP является NT pro-BNP (SEQ ID NO: 2).

В другом более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения указанным фрагментом pre-proBNP является BNP (SEQ ID NO: 3).

30 В другом варианте способ прогнозирования *in vitro* развития нежелательного явления у пациента с диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности дополнительно включает математическое комбинирование указанного уровня ПКТ или его фрагментов с указанным уровнем одного или более дополнительного прогностического маркера, при этом комбинирование указанного уровня ПКТ или 35 его фрагментов с указанным уровнем дополнительного прогностического маркера(ов) повышает прогностическую значимость указанного уровня ПКТ или его фрагментов или уровня указанного родственного маркера развития нежелательного явления.

Математическое комбинирование может представлять собой, например, алгоритм деления пациентов на категории в соответствии с тем, находится ли их уровень ПКТ 40 выше или ниже определенного порогового значения, и в соответствии с тем, находится ли их уровень маркера X (и Y, Z...) выше или ниже определенного порогового значения.

Другим объектом настоящего изобретения является применение сверхчувствительного метода анализа ПКТ, характеризующегося нижним пределом определения $<0,045$ ($+/- 0,010$) нг/мл, для определения предрасположенности к нежелательному явлению у 45 пациента с диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности.

Термин "прогнозирование" относится к предсказанию нежелательного явления (например, смертности) для пациента с диагнозом стабильной хронической сердечной

недостаточности или с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности. Указанное предсказание может включать оценку шанса излечения или шанса летального исхода для указанного пациента.

Нежелательное явление определяют как ухудшающуюся сердечную недостаточность

или декомпенсацию сердечной недостаточности, цереброваскулярное явление, сердечно-сосудистое явление и летальный исход.

Цереброваскулярное явление определяют как ишемический инсульт, геморрагический инсульт или преходящую ишемическую атаку.

Сердечно-сосудистое явление определяют как острый коронарный синдром, включая

инфаркт миокарда.

Смертность определяют как летальный исход от сердечно-сосудистых заболеваний (связанный, например, с ишемией и инфарктом миокарда, сердечной недостаточностью, остановкой сердца или цереброваскулярным явлением) и смертность, не связанную с сердечно-сосудистыми заболеваниями (включая все другие причины смертности, например, инфекцию, опухолевые заболевания).

Сердечная недостаточность (СН), также называемая застойной сердечной недостаточностью, представляет собой состояние сердечно-сосудистой системы, которое возникает, если проблема со структурой или функцией сердца нарушает способность сердца обеспечивать достаточный кровоток, чтобы удовлетворить потребности

организма. Хроническая сердечная недостаточность является продолжительным состоянием (месяцы/годы), обычно характеризующимся стабильной поддающейся лечению симптоматологией, которая связана с лежащими в основе деятельности сердечно-сосудистой системы адаптационными ответными реакциями (например, дилатация, гипертрофия) на провоцирующий фактор. Однако указанные адаптационные

ответные реакции могут оказывать отрицательное действие в течение продолжительного времени и приводить к ухудшению состояния.

Пациентов с диагнозом хронической СН можно разделить на группы стабильной, ухудшающейся и декомпенсационной хронической СН (см. табл. 1, приведенную согласно руководству европейского общества кардиологов (ESC) (Dickstein и др., Eur.

Heart J., 29, сс.2388-2442 (2008))). Острую сердечную недостаточность (ОСН) определяют как быстрое развитие вторичных симптомов и признаков аномальной функции сердца. ОСН может развиваться в виде острого первичного заболевания (новый эпизод острой сердечной недостаточности у пациента, у которого ранее дисфункция сердца не была установлена) или в виде острой декомпенсации хронической сердечной недостаточности.

Декомпенсация у пациентов с диагнозом хронической СН наиболее часто происходит в результате сопутствующих заболеваний (таких как пневмония), инфаркта миокарда, аритмии, неконтролируемой гипертензии, или неспособности пациента соблюдать рекомендации по ограничению приема жидкости, диете или проводить медикаментозное лечение. Хроническая сердечная недостаточность, которая ухудшается или переходит

в декомпенсационное состояние, также как и ОСН, характеризуется изменениями признаков и симптомов СН, приводящими к необходимости неотложного лечения или корректировки лечения, а также к необходимости госпитализации (Jessup и др., Circulation, 119, сс. 1977-2016 (2009)). Указанные пациенты характеризуются тремя

клиническими характеристиками: 1) перегрузка сердца объемом, проявляющаяся застоем крови в легких и/или системным застоем, в большинстве случаев провоцируемая резким увеличением объема сердца при хронической гипертензии, 2) выраженное снижение минутного сердечного выброса, проявляющееся гипотензией, почечной недостаточностью и/или шоковым синдромом, и 3) признаки и симптомы гиперволемии

и шока (Jessup и др., Circulation, 119, сс. 1977-2016 (2009)). После лечения у пациентов с диагнозом ОСН или острой декомпенсационной хронической СН может восстанавливаться хроническое стабильное компенсационное состояние. Сравнение признаков острой и хронической стабильной сердечной недостаточности приведены в табл.2.

Пациент с диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или пациент с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности характеризуется следующими признаками:

- наличие структурной или функциональной недостаточности сердечно-сосудистой системы, которая нарушает способность сердца обеспечивать достаточный кровоток, чтобы удовлетворить потребности организма,

- отсутствие перегрузки сердца объемом (проявляющейся застоем крови в легких и/или системным застоем) и/или выраженного снижения минутного сердечного выброса (проявляющегося гипотензией, почечной недостаточностью и/или шоковым синдромом),

и при этом пациент не нуждается в неотложном лечении или в корректировке лечения, а также в госпитализации.

Распространенными факторами, приводящими к госпитализации из-за сердечной недостаточности, являются, например, острая ишемия миокарда, несоблюдение курса медикаментозного лечения (ограничения приема соли и/или жидкости),

неккорректированное высокое кровяное давление, мерцательная аритмия и другие виды аритмии, легочная эмболия или сопутствующие инфекции (Jessup и др., Circulation, 119, сс. 1977-2016 (2009)).

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения прогнозируют нежелательное явление в течение 7 лет, предпочтительно в течение 5 лет, более предпочтительно в течение 4 лет, наиболее предпочтительно в течение 2 лет.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения уровень ПКТ или его фрагментов коррелирует с одним или более клинических показателей, выбранных из группы, включающей возраст, пол, диабет, хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ), симптомы, качество жизни, функциональную классификацию хронической сердечной недостаточности Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA), индекс массы тела, частоту сердечных сокращений и ритм сердца, систолическое и диастолическое кровяное давление, отек и тяжелую степень дисфункции желудочка.

Использованный в данном контексте термин "пациент" относится к живому организму человека или животного, который проходит или будет проходить курс медикаментозного лечения в связи с заболеванием. Указанный термин включает индивидуумов, у которых заболевание не установлено, и которых обследуют с целью выявления признаков патологии. Таким образом, способы и методы анализов, описанные в данном контексте, можно использовать в медицине и ветеринарии.

Использованный в данном контексте в отношении применения ПКТ в качестве прогностического маркера термин "корреляция" относится к сравнению присутствия или количества маркера у пациента с его присутствием или количеством у индивидуумов, для которых известно, что они страдают от указанного состояния или подвержены риску развития указанного состояния. Уровень маркера в образце пациента можно сравнивать с известным уровнем, который связан с конкретным прогнозированием.

Считается, что уровень маркера в образце коррелирует с прогнозированием, т.е. специалист в данной области может использовать уровень маркера для определения наличия у пациента особого риска развития нежелательного явления и для принятия

соответствующих мер. В другом варианте уровень маркера в образце можно сравнивать с известным уровнем маркера, который связан с положительным исходом (например, низкий риск развития нежелательного явления).

Использованный в данном контексте термин "образец" обозначает образец жидкости

- 5 тела, полученный в целях диагностики, прогнозирования или обследования исследуемого субъекта, такого как пациент. Предпочтительные исследуемые образцы включают кровь, сыворотку, плазму, спинномозговую жидкость, мочу, слюну, мокроту и плевральные экссудаты. Кроме того, специалисту в данной области техники представляется очевидным, что некоторые исследуемые образцы можно более
- 10 эффективно проанализировать после фракционирования или очистки, например, разделения цельной крови на компоненты сыворотки или плазмы.

Таким образом, в предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения образец выбирают из группы, включающей образец крови, образец сыворотки, образец плазмы, образец спинномозговой жидкости, образец слюны и образец мочи или экстракт 15 любого из упомянутых выше образцов. Предпочтительно, образцом является образец крови, наиболее предпочтительно образец сыворотки или образец плазмы.

Согласно способу у пациента с диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности существует повышенный риск развития нежелательного явления

- 20 (например, смертности), если указанный определенный уровень ПКТ составляет величину выше предварительно определенного порогового уровня. Предпочтительно, предварительно определенный пороговый уровень составляет от 0,015 нг/мл до 0,05 нг/мл, более предпочтительно от 0,015 нг/мл до 0,035 нг/мл, еще более предпочтительно от 0,015 нг/мл до 0,03 нг/мл и еще более предпочтительно от 0,015 нг/мл до 0,025 нг/мл,
- 25 наиболее предпочтительно от 0,02 нг/мл до 0,015 нг/мл (ниже). В предпочтительном варианте у пациента с диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности существует повышенный риск развития нежелательного явления (например, смертности), если указанный определенный уровень ПКТ составляет величину выше 0,05 нг/мл,
- 30 предпочтительно выше 0,035 нг/мл, более предпочтительно выше 0,03 нг/мл, еще более предпочтительно выше 0,025 нг/мл и еще более предпочтительно выше 0,02 нг/мл, наиболее предпочтительно выше 0,015 нг/мл.

Уровни ПКТ по настоящему изобретению определяют в формате анализа ПКТ (ПКТ-чувствительный анализ BRAHMS KRYPTOR), который характеризуется

- 35 калибровкой в диапазоне количественных измерений, аналогичной калибровке более чувствительного анализа ПКТ (ПКТ LIA-чувствительный анализ BRAHMS), который позволяет количественно определять уровни ПКТ у нормальной популяции, при этом получают средние уровни ПКТ, как описано в заявке EP 09011073.5 ("Procalcitonin for the prognosis of adverse events in the asymptomatic population"). Упомянутые выше значения
- 40 могут отличаться от значений, полученных по результатам других анализов ПКТ, если их калибровка отличается от калибровки ПКТ-чувствительного анализа BRAHMS KRYPTOR. Упомянутые выше значения следует использовать для анализов ПКТ с отличающейся калибровкой соответствующим образом, с учетом этих различий в калибровке. Одна возможность количественного определения различия в калибровке
- 45 включает способ сравнительного анализа (корреляции) данных используемого анализа ПКТ и ПКТ-чувствительного анализа BRAHMS KRYPTOR при измерении ПКТ в образцах с использованием обоих способов. Другая возможность включает определение используемым методом анализа ПКТ при условии, что указанный анализ

характеризуется достаточной аналитической чувствительностью, среднего уровня ПКТ у типичной нормальной популяции, сравнение результатов со средними уровнями ПКТ, как описано в заявке EP 09011073.5 ("Procalcitonin for the prognosis of adverse events in the asymptomatic population"), и пересчет калибровки на основе различия, полученного при 5 указанном сравнении.

Чувствительность и специфичность диагностического и/или прогностического теста зависит не только от аналитического "качества" теста, они также зависят от выявления составляющих аномального результата. На практике рабочие характеристические 10 кривые (ROC-кривые), как правило, рассчитывают при построении зависимости значения переменной от ее относительной частоты в "нормальной" (т.е. клинически здоровые субъекты) и "больной" (т.е. пациенты страдают от диабета, резистентности к инсулину и/или метаболического синдрома) популяциях. Для любого конкретного маркера 15 распределение уровней маркера для здоровых и больных субъектов, вероятно, будет перекрываться. В указанных условиях тест не обеспечивает абсолютное различие между здоровыми и больными субъектами со 100% точностью, при этом площадь перекрывания 20 указывает, где результаты теста для здоровых и больных субъектов не различаются. Затем выбирают пороговый уровень, выше которого (или ниже которого, в зависимости от того, как изменяется уровень маркера при заболевании) результаты теста считаются аномальными, а ниже которого результаты теста считаются нормальными. Площадь 25 под ROC-кривой является мерой вероятности, с которой полученный результат измерения обеспечивает корректную идентификацию состояния. ROC-кривые можно использовать, даже если результаты теста необязательно представляют точное число. Если можно оценивать результаты, можно строить ROC-кривую. Например, результаты теста на вероятность "заболевания" в образцах можно оценивать по степени вероятности 30 заболевания (например, 1 обозначает низкую вероятность, 2 обозначает нормальную вероятность, а 3 обозначает высокую вероятность заболевания). Указанную оценку можно коррелировать с результатами оценки для "нормальной" популяции и получить ROC-кривую. Указанные способы широко известны в данной области техники (см., например, статью Hanley и др., Radiology, 143, сс. 29-36 (1982)). Предпочтительно, 35 пороговый уровень выбирают таким образом, чтобы получить площадь под ROC-кривой, равную приблизительно более 0,5, более предпочтительно приблизительно более 0,7, еще более предпочтительно приблизительно более 0,8, и еще более предпочтительно приблизительно более 0,85, а наиболее предпочтительно приблизительно более 0,9. В данном контексте термин "приблизительно" обозначает отклонение +1-5% от данной величины.

Горизонтальная ось ROC-кривой представляет (специфичность 1), которая 40 повышается при увеличении доли ложно-положительных результатов. Вертикальная ось кривой представляет чувствительность, которая повышается при увеличении доли истинно-положительных результатов. Таким образом, для выбранного конкретного уровня отсечения можно определить значение (специфичности 1) и получить 45 соответствующее значение чувствительности. Площадь под ROC-кривой является мерой вероятности, с которой измеренный уровень маркера позволяет корректно идентифицировать заболевание или состояние (например, прогнозирование). Таким образом, площадь под ROC-кривой можно использовать для определения эффективности теста.

В некоторых вариантах маркеры и/или панели маркеров выбирают таким образом, чтобы обеспечить чувствительность, по крайней мере, на уровне приблизительно 70%, более предпочтительно чувствительность, по крайней мере, на уровне приблизительно

80%, еще более предпочтительно чувствительность, по крайней мере, на уровне приблизительно 85% и еще более предпочтительно чувствительность, по крайней мере, на уровне приблизительно 90%, а наиболее предпочтительно чувствительность, по крайней мере, на уровне приблизительно 95% и при этом обеспечить специфичность, по крайней мере, на уровне приблизительно 70%, более предпочтительно специфичность, по крайней мере, на уровне приблизительно 80%, еще более предпочтительно специфичность, по крайней мере, на уровне приблизительно 85% и еще более предпочтительно специфичность, по крайней мере, на уровне приблизительно 90%, а наиболее предпочтительно специфичность, по крайней мере, на уровне приблизительно 95%. Прежде всего, в предпочтительных вариантах оба параметра, чувствительность и специфичность, составляют, по крайней мере, приблизительно 75%, более предпочтительно, по крайней мере, приблизительно 80%, еще более предпочтительно, по крайней мере, приблизительно 85% и еще более предпочтительно, по крайней мере, приблизительно 90%, а наиболее предпочтительно, по крайней мере, приблизительно 95%. В данном контексте термин "приблизительно" обозначает отклонение +/-5% от данной величины.

Пороговые уровни можно определить, например, методом анализа Каплана-Мейера, где наличие заболевания или вероятность нежелательного явления и/или летального исхода коррелируют, например, с квинтилями соответствующего маркера в популяции. Согласно указанному методу анализа, субъекты, у которых уровни маркера превышают 80-ый квинтиль, характеризуются значительно повышенным риском развития нежелательного явления по настоящему изобретению. Указанный результат, кроме того, подтверждают методом анализа с использованием регрессионной модели Кокса с учетом классических факторов риска. Наивысший quartиль по сравнению с другими субъектами в наибольшей степени ассоциирован с повышенным риском развития заболевания или с вероятностью нежелательного явления и/или летального исхода по настоящему изобретению.

Другими предпочтительными значениями отсечения являются, например, 90-ый, 95-ый или 99-ый перцентили эталонной популяции. При использовании перцентиля выше 80-го перцентиля уменьшается число субъектов с ложно-положительными результатами, однако при этом можно не идентифицировать субъектов, которые находятся в группе среднего, хотя все еще повышенного риска. В связи с этим, необходимо подбирать значение отсечения в зависимости от требуемой цели: если требуется идентифицировать большинство субъектов с риском, при этом допуская также возможность получения ложно-положительных результатов, или если требуется идентифицировать главным образом субъектов с высоким риском, допуская, что при этом не будут идентифицированы некоторые субъекты со средним риском.

Другие математические возможности расчета индивидуальных рисков с использованием индивидуальных уровней маркера, а также другие прогностические лабораторные и клинические параметры включают, например, остаточный индекс реклассификации (NRI) или интегрированный индекс дискриминации (IDI). Индексы можно рассчитать, как описано в статье Pencina M.J. и др., «Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond», Stat. Med., 27, cc. 157-172 (2008).

Предпочтительные способы идентификации включают иммунохимические методы анализа в различных форматах, такие как, например, радиоиммуноанализ (РИА), хемилюминесцентный и флуоресцентный иммуноанализы, иммуноферментный анализ (ИФА), анализ с использованием наборов на основе гранул Luminex, анализы с

использованием белковых микроматриц, а также форматы экспресс-анализов, такие как, например, иммунохроматографические тест-методики (с использованием индикаторных полосок).

Можно проводить гомогенные или гетерогенные, конкурентные и не конкурентные 5 анализы. Прежде всего, в предпочтительном варианте проводят сэндвич-анализ, который представляет собой не конкурентный иммуноанализ, где молекула, которую необходимо детектировать и/или количественно определить, связывается с первым антителом и со вторым антителом. Первое антитело может быть связано с твердой фазой, например, с гранулой, с поверхностью лунки или другого контейнера, с чипом или полоской, а 10 вторым антителом является антитело, которое содержит метку, например, краситель, радиоизотоп или реакционноспособный или каталитический активный фрагмент. Затем количество меченного антитела, связанного с анализируемым соединением, измеряют соответствующим способом. Основной состав и методики, используемые в "сэндвич-анализах" общепризнаны и известны специалисту в данной области техники ("The 15 Immunoassay Handbook", ред. David Wild, Elsevier LTD, Оксфорд, 3е изд. (май 2005), ISBN-13: 978-0080445267, Hultschig C. и др., Curr. Opin. Chem. Biol., 10, 1, сс. 4-10 (февраль 2006), PMID: 16376134, содержание указанных статей включено в настоящее описание в качестве ссылок).

Прежде всего, в предпочтительном варианте в анализе используют два связывающих 20 вещества, предпочтительно антитела, которые оба присутствуют в виде дисперсий в жидкой реакционной смеси, при этом первый компонент для введения метки присоединен к первому антителу, и указанный первый компонент для введения метки является частью системы для введения метки на основе флуоресцентного или хемилюминесцентного тушения или амплификации, а второй компонент для введения метки указанной системы 25 маркирования присоединен ко второму связывающему веществу, таким образом, при связывании обоих связывающих веществ с анализируемым соединением генерируется измеряемый сигнал, который позволяет регистрировать образовавшиеся сэндвич-комpleксы в растворе, содержащем образец.

Еще более предпочтительно указанная система для введения метки включает 30 криптаты редкоземельных металлов или хелаты редкоземельных металлов в комбинации с флуоресцентным красителем или хемилюминесцентным красителем, прежде всего, с красителем цианинового типа.

В контексте настоящего изобретения флуоресцентной анализ включает применение красителей, которые, например, можно выбрать из группы, включающей FAM (5-или 35 6-карбокстифлуоресцеин), VIC, NED, флуоресцеин, флуоресцеинизотиоционат (FITC), IRD-700/800, цианиновые красители, такие как CY3, CY5, CY3.5, CY5.5, Cy7, ксантен (Xanthen), 6-карбокси-2',4',7',4,7-гексахлорфлуоресцеин (HEX), TET, 6-карбокси-4',5'-дихлор-2',7'-диметоксифлуоресцеин (JOE), N,N,N',N'-тетраметил-6-карбоксиродамин (TAMRA), 6-карбокси-X-родамин (ROX), 5-карбоксиродамин-6G (R6G5), 6-40 карбоксиродамин-6G (RG6), родамин, родамин зеленый, родамин красный, родамин 110, красители BODIPY, такие как BODIPY TMR, Орегон зеленый (Oregon Green), кумарины, такие как умбеллиферон, бензимиды, такие как Hoechst 33258, фенантридины, такие как Texas Red, Yakima Yellow, Alexa Fluor, PET, бромид этидич, акридиновые красители, карбазоловые красители, феноксазиновые красители, порфириновые 45 красители, полиметиновые красители и т.п.

В контексте настоящего изобретения хемилюминесцентные анализы включают применение красителей и основаны на физических принципах, описанных для хемилюминесцентных материалов в книге Kirk-Othmer, "Encyclopedia of chemical

technology", 4ое изд., вып. ред. Kroschwitz J.I., ред. Howe-Grant M., John Wiley & Sons, т. 15, сс. 518-562 (1993), содержание которой включено в настоящее описание в качестве ссылки, включая цитаты, приведенные на сс.551-562. Предпочтительными хемилюминесцентными красителями являются акридиновые сложные эфиры.

- 5 Как указано в данном контексте, термин "анализ" или "диагностический анализ" может относиться к анализу любого типа, используемому в данной области диагностики. Такой анализ может основываться на связывании анализируемого соединения, которое необходимо детектировать, с одним или более связывающих зондов с определенной аффинностью. Что касается взаимодействия между связывающими веществами и 10 веществами-мишениями или анализируемыми веществами, то константа аффинности предпочтительно составляет более 10^8 M^{-1} .

В контексте настоящего изобретения к "связывающим веществам" относятся вещества, которые можно использовать для связывания веществ-мишней или 15 анализируемых веществ, т.е. анализируемых соединений (т.е. в контексте настоящего изобретения ПКТ и его фрагменты) в образце. Связывающие вещества должны характеризоваться соответствующей формой, как пространственной формой, так и поверхностью характеристиками, такими как поверхностный заряд, гидрофобность, гидрофильность, присутствие или отсутствие оснований и/или кислот Льюиса, чтобы 20 специфично связываться с веществами-мишениями или анализируемыми веществами. Таким образом, связывание может быть опосредовано, например, ионными, ван-дер-ваальсовыми, π - π , σ - π , гидрофобными или водородными взаимодействиями или 25 комбинацией двух или более упомянутых выше взаимодействий между связывающими веществами и веществами-мишениями или анализируемыми веществами. В контексте настоящего изобретения связывающие вещества можно, например, выбрать из группы, включающей нуклеиновую кислоту, углевод, пептиднуклеиновую кислоту, белок, 30 антитело, пептид или гликопротеин. Предпочтительно, связывающими веществами являются антитела, включая их фрагменты, характеризующиеся достаточной аффинностью к веществу-мишени или к анализируемому веществу, и включая рекомбинантные антитела или фрагменты рекомбинантных антител, а также химически 35 и/или биохимически модифицированные производные указанных антител или их фрагментов, полученные из их вариантов с длиной цепи, составляющей, по крайней мере, 12 аминокислотных остатков.

В предпочтительно варианте осуществления настоящего изобретения ПКТ или его фрагменты с длиной цепи, составляющей, по крайней мере, 12 аминокислотных остатков, 35 используют в качестве показания для лечения антибиотиком пациентам с диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или пациентам с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности, включенных в группу повышенного риска развития нежелательного явления.

Еще более предпочтительно антибиотик вводят, когда уровень ПКТ или его 40 фрагментов с длиной цепи, составляющей, по крайней мере, 12 аминокислотных остатков, в образце жидкости организма пациента с диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности составляет от 0,015 нг/мл до 0,05 нг/мл, более 45 предпочтительно от 0,015 нг/мл до 0,035 нг/мл, еще более предпочтительно от 0,015 нг/мл до 0,03 нг/мл и еще более предпочтительно от 0,015 нг/мл до 0,025 нг/мл, наиболее предпочтительно от 0,02 нг/мл до 0,015 нг/мл (ниже).

Еще более предпочтительно антибиотик вводят, когда уровень ПКТ или его фрагментов с длиной цепи, составляющей, по крайней мере, 12 аминокислотных

остатков, в образце жидкости организма пациента с диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности составляет выше 0,05 нг/мл, предпочтительно выше 0,035 нг/мл, более предпочтительно выше 0,03 нг/мл, еще более предпочтительно выше 0,025 нг/мл и еще более предпочтительно выше 0,02 нг/мл, наиболее предпочтительно выше 0,015 нг/мл.

Примеры

Пример 1

Исследования популяции и методики

Пациентами, включенными в исследование, являлись пациенты, отобранные врачами-специалистами для участия в муниципальной программе CHF в городах Kingston-upon-Hull и East Riding в Йоркшире (Великобритания), которую осуществляли при участии популяции численностью 600000 человек в период август 2001 - июнь 2009. Пациентов с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности направляли из местного учреждения в специализированную клинику для диагностики и лечения предполагаемой стабильной хронической сердечной недостаточности, а также предлагали принять участие в программе. Пациенты, давшие согласие, проходили систематическое обследование, которое включало изучение предшествующей амбулаторной карты пациента, медикаментозного лечения, симптомов, признаков, электро- и эхокардиограмм, стандартных гематологических и биохимических анализов, а также определение уровней ПКТ и N-концевого предшественника натрийуретического пептида головного мозга (NT-proBNP).

Результаты

Средний возраст 1891 пациентов, принимавших участие в исследовании, составлял 72 года (интерквартильный диапазон (ИКД) составлял от 64 до 78), участвовали 669 женщин, у 807 пациентов был поставлен диагноз систолической дисфункции левого желудочка (СДЛЖ), у 400 пациентов не наблюдалось значительных отклонений на эхокардиограмме за исключением СДЛЖ, у 192 пациентов не наблюдалось значительных отклонений на эхокардиограмме, однако уровень NT-proBNP составлял >400 нг/л (среди указанных пациентов у 65 наблюдалась мерцательная аритмия, а у 15 расчетная скорость клубочковой фильтрации (eGFR) составляла <30 мл/мин), при этом у 492 пациентов отсутствовали перечисленные выше патологические отклонения. Средний общий уровень ПКТ (в скобках указан интерквартильный диапазон (ИКД)) составлял 0,022 (0,017-0,047) нг/мл и для каждой из четырех подгрупп составлял 0,023 (0,018-0,032), 0,022 (0,017-0,031), 0,024 (0,019-0,035) и 0,020 (0,016-0,025) нг/мл, соответственно. На протяжении в среднем 5,0 (ИКД: 3,4-7,1) последующих лет 783 (41,8%) пациентов скончались, а 447 пациентов в результате сердечно-сосудистых заболеваний. При проведении инвариантного анализа логарифм концентрации ПКТ ($\log(\text{ПКТ})$) в значительной степени коррелировал с общей смертностью, смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний и смертностью по другим причинам (соотношение рисков (СР): 1,91 при 95% доверительном интервале (ДИ): (1,73-2,11), СР: 1,94 (1,71-2,21) и СР: 1,89 (1,61-2,22) соответственно, $p<0,001$ для всех случаев). Значения СР для общей смертности, полученные по квинтилям ПКТ по данным инвариантного анализа с использованием регрессионной модели Кокса (некорректированные и скорректированные с учетом возраста и пола), представлены в табл.3. В многовариантной регрессионной модели Кокса уровни ПКТ обеспечивали дополнительную прогностическую информацию для 17 стандартных клинических переменных (возраст, пол, этиология, диабет, хроническое обструктивное заболевание

легких (ХОЗЛ), симптомы, качество жизни, классификация NYHA, индекс массы тела, частота сердечных сокращений и ритм сердца, систолическое кровяное давление, отек, степень тяжести дисфункции желудочка, уровни гемоглобина (НЬ) и креатинина, а также NT-proBNP) для общей смертности.

5 Пример 2

Исследования популяции и методики

Кроме пациентов, включенных в исследование, описанное в примере 1, в исследование включали еще 651 дополнительных пациентов с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности. В этом случае также указанные пациенты,

10 подписавшие согласие для участия в исследовании, проходили систематическое обследование, включающее изучение предшествующей амбулаторной карты пациента, медикаментозного лечения, симптомов, признаков, электро- и эхокардиограмм, стандартных гематологических и биохимических анализов, а также определение уровней ПКТ и NT-proBN.

15 Результаты

Из 2542 пациентов, включенных в исследование в целом, у 1100 был поставлен диагноз СДЛЖ. Из общего числа 1442 пациентов без диагноза СДЛЖ у 415 (n=415) пациентов был установлен диагноз обширного структурного заболевания сердца (ОСЗС).

Состояние пациентов оценивали с использованием квартилей ПКТ в плазме (табл. 4),
20 а также верхнего и нижнего дециля, чтобы продемонстрировать влияние предельных значений. Переменные представляли в виде процентов или среднего и интерквартильного диапазона (ИКД). Для идентификации независимых переменных, связанных с методом обратного преобразования ПКТ (табл. 5), использовали модели простой и множественной линейной регрессии. Прогностические факторы для общей смертности
25 (включая или не включая ПКТ) представлены в табл. 6. Данные для пациентов, у которых были зарегистрированы явления, т.е. СР для наивысшего и наименьшего квартиля ПКТ и С-статистика приведены в табл. 7. Для сравнения вероятностей выживания в связи с конкретными исходами (общая смертность, смертность от сердечно-сосудистых заболеваний) в соответствии с фенотипами (пациенты с диагнозом СДЛЖ,
30 ОСЗС, без диагноза ОСЗС, но с диагнозом мерцательная аритмия или с уровнем NT-proBNP>400 нг/л, а также пациенты с синусным ритмом и с уровнем NT-proBNP<400 нг/л, соответственно) использовали кривые выживаемости Каплана-Мейера (фиг. 2-9).

В этом случае также уровень ПСК строго коррелировал с общей смертностью и смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний (некорректированные значения
35 СР: 3,46 при 95% ДИ: (2,63-4,56) и СР: 3,72 (2,58-5,35), соответственно, p<0,001 для обоих случаев). По данным многовариантного анализа более высокие концентрации ПКТ в плазме связаны с ухудшением функции почек, более пожилым возрастом, ишемической болезнью сердца, а также с маркерами более тяжелой сердечной недостаточности, но не с другими маркерами инфекции или воспаления, такими как высокочувствительный
40 С-реактивный белок (hsCRP) или число лейкоцитов. Среди пациентов с диагнозом СДЛЖ, уровень ПКТ позволял предсказать общую смертность и смертность от сердечно-сосудистых заболеваний, прежде всего смертность из-за сердечной недостаточности, независимо от других прогностических маркеров, включая NT-proBNP. Уровень ПКТ также позволял предсказать смертность пациентов без диагноза СДЛЖ,
45 включая пациентов, у которых диагноз сердечной недостаточности был отменен, но летальный исход, по-видимому, был главным образом не связан с сердечно-сосудистым заболеванием.

Таблица 1Классификация сердечной недостаточности (согласно руководству ESC (2008))

Классификация	Определение
Впервые выявленная (первое появление)	Острая или медленная манифестация заболевания
Преходящая	Рецидивирующая или эпизодическая
Хроническая (постоянная)	Стабильная, ухудшающаяся или декомпенсационная

Таблица 2Сравнение острой и хронической сердечной недостаточности (СН)

Характеристика	Острая СН		Стабильная хроническая СН
	Впервые выявленная СН	Острая декомпенсационная СН	
Тяжесть симптомов	Выраженные	Выраженные	От слабых до средних
Отек легких	Часто	Часто	Редко
Периферический отек	Редко	Часто	Часто
Увеличение массы тела	Отсутствие или незначительное	Выраженное	Часто
Общий объем организма	Нет увеличения или незначительное увеличение	Выраженное увеличение	Увеличение
Гипертрофия сердца	Не характерна	Распространена	Распространена
Напряжение стенки миокарда	Повышенное	Выраженно повышенное	Повышенное
Острая ишемия	Распространена	Эпизодически	Редко
Гипертонический кризис	Распространена	Эпизодически	Редко

Таблица 3Соотношение рисков (СР) для общей смертности по квинтилям ПКТ по данным инвариантного анализа с использованием регрессионной модели Кокса

ПКТ в нг/мл (квинтиль)	СР (некорректированное)	СР (скорректированное с учетом возраста и пола)
0,018 – 0,020 (2 ^{ый})	1,789	1,673
> 0,020 – 0,025 (3 ^{ий})	2,018	1,661
> 0,025 – 0,035 (4 ^{ый})	2,826	2,359
> 0,035 (5 ^{ый})	3,905	2,995

Таблица 4Состояние пациентов в соответствии с квантилями ПКТ

	Наименьший дециль	Наименьший квартиль	Квартиль 2	Квартиль 3	Наивысший квартиль	Наивысший дециль
N	254	635	636	636	635	254
ПКТ (пг/мл)	13 (12-14)	15 (13-16)	19 (18-21)	25 (23-28)	43 (35-62)	69 (54-94)

10

15

20

25

30

35

40

45

	Наименьший дециль	Наименьший квартиль	Квартиль 2	Квартиль 3	Наивысший квартиль	Наивысший дециль
5	Возраст (лет) 66 (58-74)	69 (60-7)	71 (63-77)	73 (66-79)	75 (68-80)	75 (68-81)
10	Мужчины (%) 143 (56%)	372 (59%)	402 (63%)	423 (67%)	420 (66%)	160 (63%)
15	IHD (ишемическая болезнь сердца) (%) 124 (49%)	324 (51%)	323 (51%)	332 (53%)	328 (52%)	112 (45%)
20	Сахарный диабет (%) 32 (14%)	98 (17%)	110 (18%)	104 (18%)	154 (27%)	66 (29%)
25	ХОЗЛ (%) 19 (8%)	55 (9%)	62 (10%)	76 (12%)	67 (11%)	32 (13%)
30	NYHA (III/IV) (%) 43 (17%)	105 (17%)	146 (23%)	159 (25%)	210 (33%)	86 (34%)
35	Тяжелая степень SOB ADL (%) 29 (11%)	67 (11%)	95 (15%)	115 (18%)	138 (22%)	61 (24%)
40	Отек > слабой степени (%) 6 (2%)	24 (4%)	18 (3%)	28 (4%)	47 (7%)	24 (9%)
	Общее неудовлетворительное состояние здоровья	45 (18%)	110 (17%)	129 (20%)	147 (23%)	188 (30%)
	Петлевой диуретик (%) 114 (46%)	312 (50%)	367 (59%)	414 (67%)	497 (80%)	204 (81%)
	Индекс массы тела (кг/м²) 27,4 (24,0-31,3)	27,8 (24,5-31,4)	28,2 (24,9-31,6)	27,9 (25,0-31,9)	28,3 (25,1-32,2)	28,2 (25,1-32,4)
	Ритм сердца (количество ударов в мин) 67 (60-76)	67 (59-77)	69 (59-80)	70 (60-84)	75 (63-88)	78 (64-90)
	Систолическое кровяное давление (мм. рт. ст.) 137 (120-156)	139 (122-156)	140 (124-158)	138 (120-154)	133 (116-155)	132 (113-154)
	Синусный ритм (%) 195 (77%)	487 (77%)	470 (74%)	454 (71%)	403 (64%)	161 (63%)
	Комплекс QRS (мс) 96 (86-110)	98 (86-116)	100 (88-124)	102 (88-122)	102 (90-130)	102 (88-126)
	Диаметр левого предсердия/площадь поверхности тела (см/м²) 2,0 (1,8-2,3)	2,0 (1,8-2,3)	2,1 (1,8-2,4)	2,1 (1,8-2,4)	2,2 (1,9-2,5)	2,2 (2,0-2,6)
	Конечно-диастолический размер левого желудочка/площадь поверхности тела (см/м²) 2,7 (2,4-3,1)	2,8 (2,4-3,2)	2,9 (2,5-3,3)	2,9 (2,5-3,3)	2,9 (2,5-3,3)	3,0 (2,6-3,4)
	Недостаточность митрального клапана > легкой степени тяжести (%) 55 (22%)	129 (20%)	146 (23%)	128 (20%)	201 (32%)	86 (34%)
	Hb (г/дл) 13,7 (12,7-14,5)	13,7 (12,8-14,6)	13,5 (12,5-14,6)	13,5 (12,4-14,7)	12,9 (11,0-14,1)	12,5 (11,2-13,9)

		Наименьший дециль	Наименьший квартиль	Квартиль 2	Квартиль 3	Наивысший квартиль	Наивысший дециль
5	Число лейкоцитов ($\times 10^9/\text{л}$)	6,8 (5,7-7,9)	6,6 (5,6-7,9)	6,8 (5,8-8,1)	7,1 (5,8-8,4)	7,4 (6,0-8,8)	7,6 (6,1-8,9)
10	Высокочувствительный С-реактивный белок (мг/л)	2,1 (0,8-4,7)	2,5 (1,0-4,8)	3,1 (1,6-6,0)	4,5 (2,1-8,0)	6,9 (3,4-15,0)	9,3 (4,2-29,0)
15	Натрий (ммоль/л)	139 (137-140)	139 (137-141)	139 (137-141)	139 (138-141)	139 (136-141)	138 (136-141)
20	Мочевина (ммоль/л)	5,1 (4,0-6,3)	5,4 (4,4-6,5)	5,9 (4,8-7,4)	6,9 (5,4-8,9)	8,9 (6,2-14,0)	10,1 (6,8-16,0)
25	Креатинин (мкмоль/л)	83 (72-98)	87 (75-101)	94 (81-111)	104 (88-127)	127 (99-171)	136 (102-195)
	Расчетная скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м ²)	76 (65-88)	73 (61-85)	66 (56-80)	60 (47-72)	48 (33-62)	41 (28-58)
	Холестерин (ммоль/л)	4,5 (3,9-5,4)	4,6 (3,8-5,5)	4,6 (4,0-5,6)	4,6 (3,9-5,6)	4,6 (3,8-5,5)	4,4 (3,8-5,5)
	Аланинамино-трансфераза (МЕ/л)	20 (17-26)	20 (17-26)	21 (17-27)	21 (17-28)	21 (17-29)	22 (16-33)
	Щелочная фосфатаза (МЕ/л)	68 (58-84)	69 (57-85)	71 (59-87)	72 (59-88)	76 (63-99)	83 (65-107)
	Альбумин (г/л)	38 (27-40)	38 (37-40)	38 (36-40)	38 (36-40)	36 (34-39)	36 (32-39)
	NT-proBNP (нг/л)	438 (144-1166)	456 (136-1198)	627 (173-1593)	766 (196-2056)	1,662 (505-4262)	2,017 (632-5734)

Таблица 5

Прогностические факторы ПКТ в плазме (метод обратного преобразования)

по данным многовариантного анализа

	Коэффициент	95% ДИ	СО (стандартное отклонение)	t	p	Корреляция (R^2)
30	Log (креатинин)	-22,039 (-24,21, -19,86)	1,107	-19,89	<0,001	-0,46 (p<0,001)
35	Частота сердечных сокращений (количество ударов в мин)	-0,139 (-0,179, -0,099)	0,020	-6,82	<0,001	-0,16 (p<0,001)
40	Возраст (лет)	-0,193 (-0,264, -0,122)	0,036	-5,34	<0,001	-0,24 (p<0,001)
	Тяжесть отека			5,11	0,006	-0,16 (p<0,001)
	Легкая	-2,435 (-4,03, -0,834)	0,816	-2,98	0,003	
	Тяжелая	-2,784 (-5,94, 0,376)	1,61	-1,73	0,084	

	Коэффициент	95% ДИ	СО (стандартное отклонение)	t	p	Корреляция (R^2)
Индекс массы тела	-0,1856	(-0,308, -0,062)	0,062	-2,95	0,003	-0,03 ($p=0,087$)
Ишемическая болезнь сердца	2,020	(0,625, 3,414)	0,711	2,84	0,005	-0,01 ($p=0,659$)
Log (NT-proBNP)	-0,780	(-1,375, -0,186)	0,303	-2,57	0,010	-0,28 ($p<0,001$)

10

Таблица 6Прогностические факторы общей смертности (включая и не включая ПКТ)

Переменная	Включая ПКТ		Не включая ПКТ	
	t	СР	t	СР
Возраст (в группе из 10)	11,79	1,77 (1,61-1,95)	11,56	1,76 (1,60-1,94)
Log (NT-proBNP)	9,65	1,34 (1,27-1,43)	10,08	1,36 (1,28-1,45)
Log (ПКТ)	5,38	1,33 (1,19-1,47)	-	-
ХОЗЛ	4,69	1,54 (1,28-1,84)	4,87	1,56 (1,31-1,87)
NYHA (I-II/III-IV)	4,14	1,36 (1,17-1,57)	4,15	1,36 (1,17-1,57)
Сахарный диабет	3,54	1,32 (1,13-1,55)	3,26	1,29 (1,11-1,51)
Женщины	-2,71	0,82 (0,71-0,95)	-2,40	0,84 (0,73-0,97)
Hb (г/дл)	-2,33	0,95 (0,91-0,99)	-2,47	0,95 (0,91-0,99)
Одышка при повседневной активности	3,10		2,77	
Некоторая часть	0,24	1,02 (0,86-1,22)	0,38	1,04 (0,87-1,23)
Значительная часть	2,09	1,23 (1,01-1,49)	2,06	1,23 (1,05-1,59)
Самооценка общего состояния здоровья	2,53		2,91	
Среднее	1,28	1,11 (0,95-1,31)	1,33	1,12 (0,96-1,32)
Неудовлетворительное	2,27	1,27 (1,03-1,56)	2,43	1,29 (1,06-1,59)
Log (креатинин)	1,98	1,23 (1,00-1,52)	4,50	1,55 (1,28-1,29)

Таблица 7Пациенты, у которых регистрировали явления, соотношение рисков (СР)для наивысшего квартиля по сравнению с наименьшим квартилем ПКТ иС-статистика

	Общее число	СДЛЖ	Не-ОСЗС или не-синусный ритм или NT-proBNP >400 нг/л	Не-ОСЗС/ синусный ритм/ NT-proBNP <400 нг/л
N=	2,542	1,100	793	649
Число пациентов, у которых регистрировали явление в течение следующих 3 лет				
Общая смертность	549	306	202	41
Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний	338	214	110	14
Летальный исход из-за сердечной недостаточности	82	57	25	0

45

	Общее число	СДЛЖ	Не-ОСЗС или не-синусный ритм или NT-proBNP >400 нг/л	Не-ОСЗС/синусный ритм/ NT-proBNP <400 нг/л
5	Летальный исход не из-за сердечно-сосудистых заболеваний	200	87	89
	Летальный исход из-за рака	63	34	17
Соотношение рисков (СР) – нескорректированное и скорректированное с учетом пола и переменных, указанных в табл. 4				
10	Общая смертность	3,46 (2,63-4,56) 1,97 (1,47-2,65)	3,41 (2,32-5,01) 2,18 (1,44-3,29)	3,09 (1,97-4,85) 1,69 (1,04-2,77)
15	Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний	3,72 (2,58-5,35) 1,91 (1,29-2,82)	3,69 (2,28-5,96) 2,28 (1,37-3,81)	3,60 (1,66-5,64) 1,49 (0,76-2,92)
	Летальный исход из-за сердечной недостаточности	7,05 (2,76-17,98) 2,39 (0,89-6,41)	22,36 (3,02-165,53) 9,43 (1,24-71,90)	2,24 (0,72-6,96) 1,25 (0,34-4,62)
20	Летальный исход не из-за сердечно-сосудистых заболеваний	3,15 (2,05-4,83) 2,06 (1,29-3,27)	2,67 (1,38-5,15) 1,84 (0,90-3,75)	3,53 (1,77-7,05) 2,27 (1,08-4,75)
25	С-статистика			
	Общая смертность	0,695	0,668	0,680
	Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний	0,688	0,666	0,684
	Летальный исход из-за сердечной недостаточности	0,740	0,730	0,777
30	Летальный исход не из-за сердечно-сосудистых заболеваний	0,713	0,678	0,699
				0,708

Последовательности

SEQ ID NO: 1 (аминокислотная последовательность ПКТ):

1 APFRSALESS PADPATLSED EARLLAALV QDYVQMKASE LEQEQQEREKS

35 51 SLDSPRSKRC GNLSTCMLGT YTQDFNKFHT FPQTAIGVGA PGKKRDMSSD

101 LERDHRPHVS MPQ NAN

SEQ ID NO: 2 (аминокислотная последовательность NT-pro-BNP):

1 HPLGSPGSAS DLETSQLQE RNHLQGKLSE LQVEQTSLEP LQESPRPTGV

51 WKSREVATEG IRGHRKMVLY TLRAPR

SEQ ID NO: 3 (аминокислотная последовательность BNP):

1 SPKMVQGSGC FGRKMDRISS SSGLGCKVLR RH

(57) Формула изобретения

1. Способ прогнозирования риска развития нежелательного явления у пациента с 45 диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности, где нежелательное явление выбрано из группы, состоящей из ухудшения или декомпенсации сердечной недостаточности, цереброваскулярного явления, кардиоваскулярного явления или

смерти, причем указанный способ включает следующие стадии:

- определение уровня прокальцитонина или его фрагментов с длиной цепи, составляющей по меньшей мере 12 аминокислотных остатков, в образце жидкости организма указанного пациента,

- 5 - корреляция указанного уровня прокальцитонина или его фрагментов с риском развития нежелательного явления у указанного пациента, причем указанная стадия корреляции включает сравнение указанного уровня прокальцитонина или его фрагментов с пороговым уровнем, при этом, если указанный уровень прокальцитонина или его фрагментов превышает указанный уровень, у указанного пациента существует
- 10 повышенный риск развития нежелательного явления, при этом значение указанного порогового уровня находится в диапазоне между 0,015 нг/мл и 0,03 нг/мл.

2. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у указанного пациента не поставлен диагноз острой или декомпенсационной сердечной недостаточности.

3. Способ по пп. 1 и 2, где прогнозирование относится к прогнозированию развития нежелательного явления в течение 7 лет, более предпочтительно в течение 5 лет, еще более предпочтительно в течение 4 лет, наиболее предпочтительно в течение 2 лет.

4. Способ по любому из предыдущих пунктов, где указанный образец выбирают из группы, включающей образец крови, образец сыворотки и образец плазмы.

5. Способ по любому из предыдущих пунктов, дополнительно включающий
- 20 корреляцию указанного уровня прокальцитонина или его фрагментов с уровнем одного или более дополнительного прогностического маркера(ов), при этом комбинирование указанного уровня прокальцитонина или его фрагментов с указанным уровнем дополнительного прогностического маркера(ов) повышает прогностическую значимость указанного уровня прокальцитонина или его фрагментов или уровня указанного
- 25 родственного маркера(ов) при оценке вероятности развития нежелательного явления.

6. Способ по п. 5, где дополнительный прогностический маркер выбирают из группы, включающей тропонин, миелопероксидазу, С-реактивный белок, неоптерин, GDF-15, ST2, цистатин-С, гемоглобин и креатинин, а также следующие пептиды в их зрелой форме, в форме их предшественников, прогормонов и ассоциированных фрагментов
- 30 прогормонов: натрийуретические пептиды, адреномедуллин, эндотелины, вазопрессин.

7. Способ по п. 5, где одним из указанных прогностических маркеров является pre-proBNP или его фрагменты в образце, полученном от указанного пациента.

8. Способ по любому из предыдущих пунктов, дополнительно включающий
- корреляцию одной или более клинических переменных, выбранных из группы,
- 35 включающей возраст, пол, диабет, ХОЗЛ, симптомы, качество жизни, квалификацию NYHA, индекс массы тела, частоту сердечных сокращений и ритм сердца, систолическое и диастолическое кровяное давление, одышку и тяжелую степень дисфункции желудочка.

9. Способ по любому из предыдущих пунктов, где используют анализ
- прокальцитонина, характеризующийся нижним пределом детектирования менее 0,05
- 40 нг/мл.

10. Применение прокальцитонина для прогнозирования риска развития нежелательного явления у пациента с диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности или с предполагаемым диагнозом стабильной хронической сердечной недостаточности, где нежелательное явление выбрано из группы, состоящей из
- 45 ухудшения или декомпенсации сердечной недостаточности, цереброваскулярного явления, кардиоваскулярного явления или смерти, включающее следующие стадии:

- определение уровня прокальцитонина или его фрагментов с длиной цепи, составляющей по меньшей мере 12 аминокислотных остатков, в образце жидкости

организма указанного пациента,

- корреляция указанного уровня прокальцитонина или его фрагментов с риском развития нежелательного явления у указанного пациента, причем указанная стадия корреляции включает сравнение указанного уровня прокальцитонина или его

5 фрагментов с пороговым уровнем, при этом, если указанный уровень прокальцитонина или его фрагментов превышает указанный уровень, у указанного пациента существует повышенный риск развития нежелательного явления, при этом значение указанного порогового уровня находится в диапазоне между 0,015 нг/мл и 0,03 нг/мл.

10

15

20

25

30

35

40

45

- 29 -

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Б.Р.А.Х.М.С ГМБХ

<120> ПРОГНОЗИРОВАНИЕ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ ЯВЛЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ПРЕДПОЛАГАЕМЫМ ДИАГНОЗОМ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

<130> B75028PCT

<150> EP12163921.5

<151> 2012-04-12

<160> 3

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 116

<212> ПКТ

<213> Homo sapiens

<400> 1

Ala	Pro	Phe	Arg	Ser	Ala	Leu	Glu	Ser	Ser	Pro	Ala	Asp	Pro	Ala	Thr
1					5									10	

Leu	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Arg	Leu	Leu	Leu	Ala	Ala	Leu	Val	Gln	Asp
					20								25		30

Tyr	Val	Gln	Met	Lys	Ala	Ser	Glu	Leu	Glu	Gln	Glu	Gln	Glu	Arg	Glu
					35								40		45

Gly	Ser	Ser	Leu	Asp	Ser	Pro	Arg	Ser	Lys	Arg	Cys	Gly	Asn	Leu	Ser
						50						55		60	

Thr	Cys	Met	Leu	Gly	Thr	Tyr	Thr	Gln	Asp	Phe	Asn	Lys	Phe	His	Thr
					65			70			75		80		

Phe	Pro	Gln	Thr	Ala	Ile	Gly	Val	Gly	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg	Asp
						85						90		95	

- 30 -

Met Ser Ser Asp Leu Glu Arg Asp His Arg Pro His Val Ser Met Pro			
100	105	110	

Gln Asn Ala Asn			
115			

<210> 2			
<211> 76			
<212> ΠΚΤ			
<213> Homo sapiens			

<400> 2			
---------	--	--	--

His Pro Leu Gly Ser Pro Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr Ser Gly			
1	5	10	15

Leu Gln Glu Gln Arg Asn His Leu Gln Gly Lys Leu Ser Glu Leu Gln			
20	25	30	

Val Glu Gln Thr Ser Leu Glu Pro Leu Gln Glu Ser Pro Arg Pro Thr			
35	40	45	

Gly Val Trp Lys Ser Arg Glu Val Ala Thr Glu Gly Ile Arg Gly His			
50	55	60	

Arg Lys Met Val Leu Tyr Thr Leu Arg Ala Pro Arg			
65	70	75	

<210> 3			
<211> 32			
<212> ΠΚΤ			
<213> Homo sapiens			

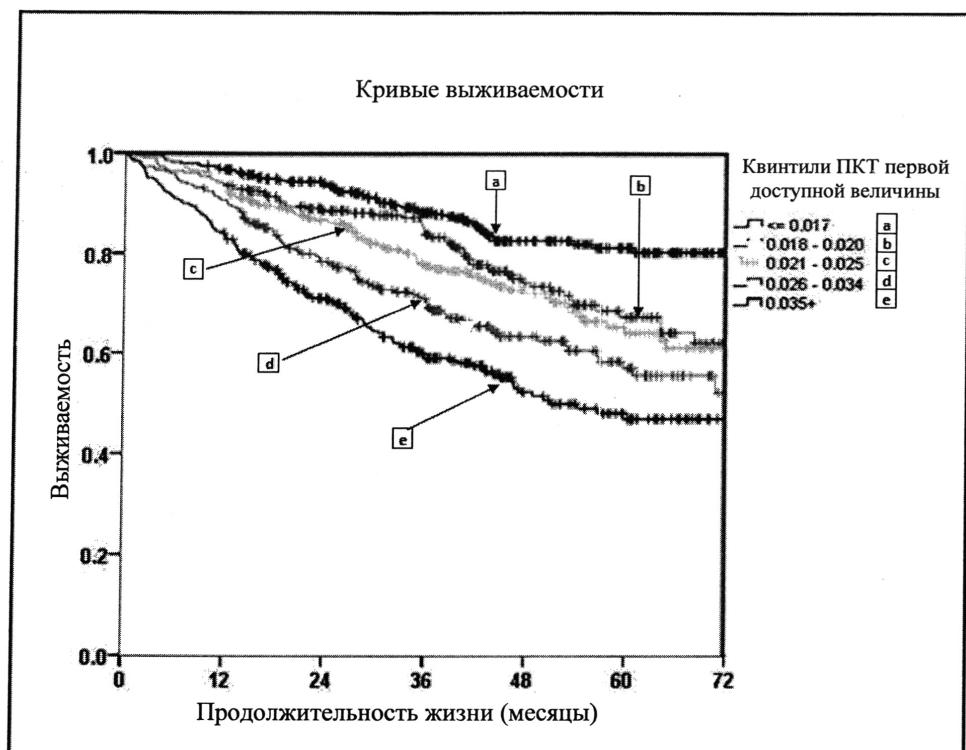
<400> 3			
---------	--	--	--

Ser Pro Lys Met Val Gln Gly Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp			
1	5	10	15

- 31 -

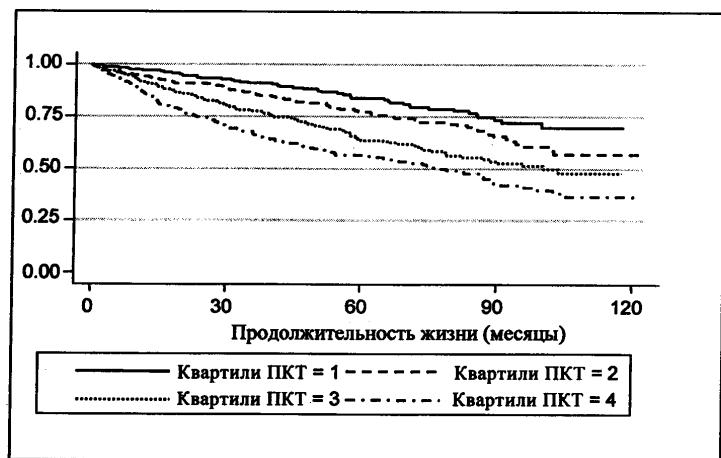
Arg Ile Ser Ser Ser Gly Leu Gly Cys Lys Val Leu Arg Arg His
20 25 30

ФИГ. 1

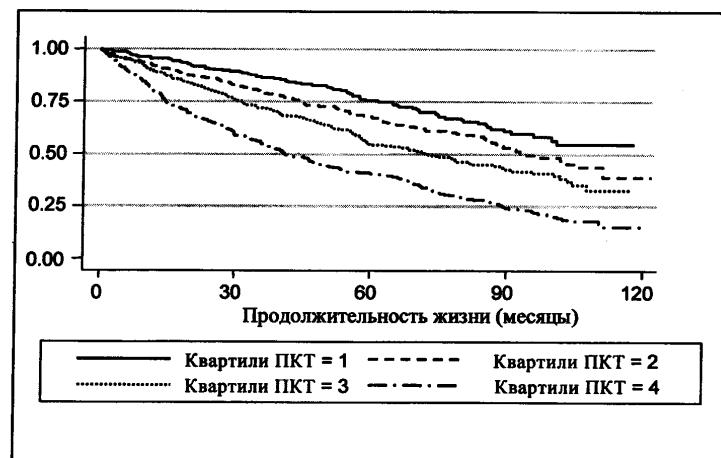


- 2 -

ФИГ. 2

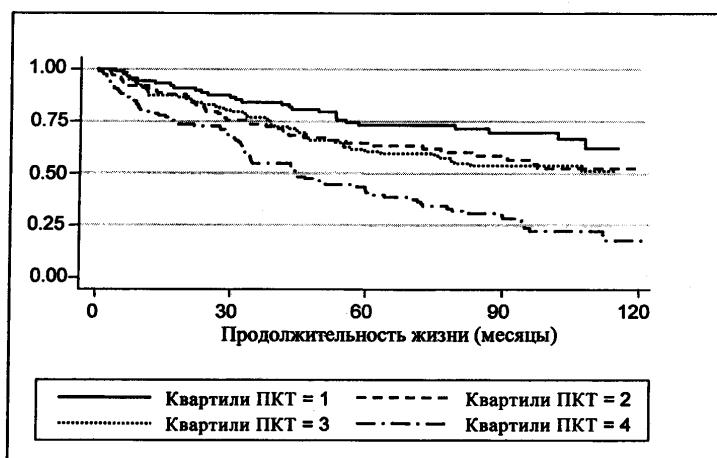


ФИГ. 3

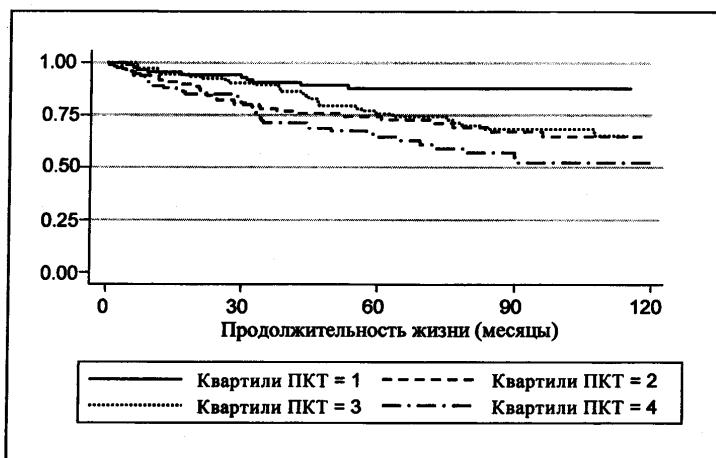


- 3 -

ФИГ. 4

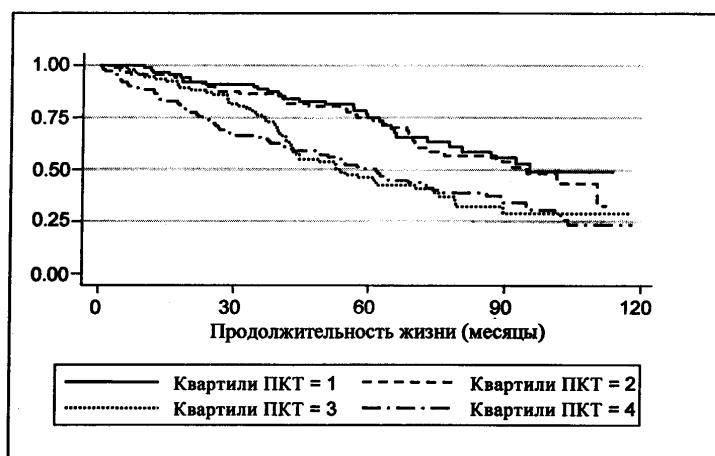


ФИГ. 5

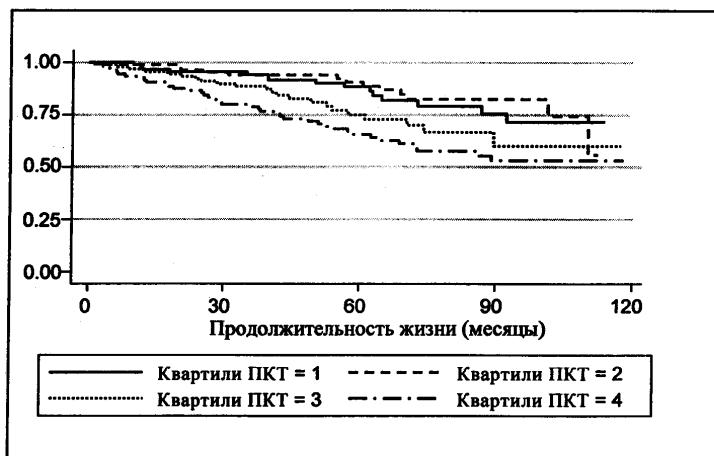


- 4 -

ФИГ. 6

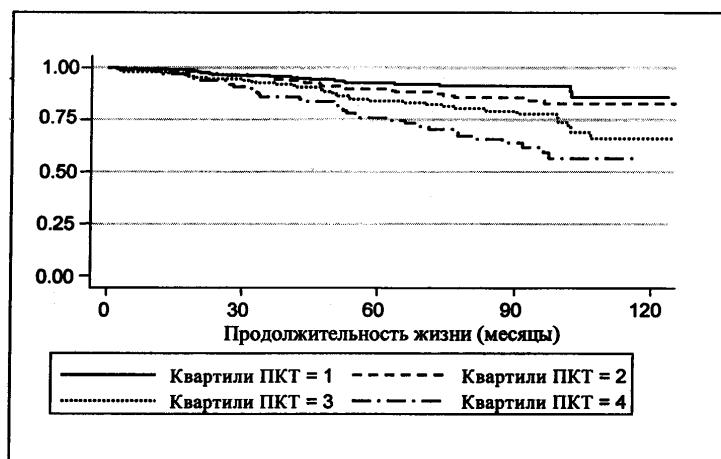


ФИГ. 7



- 5 -

ФИГ. 8



ФИГ. 9

