



УКРАЇНА

(19) UA (11) 53471 (13) U
(51) МПК (2009)
A61K 33/08 (2006.01)
A61M 1/36

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ІНДУКЦІЇ АПОПТОЗУ У КЛІТИНАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ

1

(21) u201003599

(22) 29.03.2010

(24) 11.10.2010

(46) 11.10.2010, Бюл.№ 19, 2010 р.

(72) БОНДАР ВОЛОДИМИР ГРИГОРОВИЧ, КАЙ-РЯК ОЛЬГА ВАСИЛІВНА, ІСАЄВ ВІКТОР ПАВЛОВИЧ

(73) БОНДАР ВОЛОДИМИР ГРИГОРОВИЧ

(57) 1. Спосіб індукції апоптозу в клітинах периферичної крові шляхом екстракорпорального впливу квантами оптичного випромінювання ультрафіолетової частини спектра (УФВК), який **відрізняється** тим, що у флакон з опроміненою кров'ю пацієнта

2

додають 0,125 % розчин перекису водню, для чого 0,5-1,0 мл 3 % розчину перекису водню розводять в 100 мл крові, потім, набравши 100-200 мл крові, отриману суміш знову опромінюють і повертають внутрішньо аутокров, збагачену перекисом водню, у кровотік хворого зі швидкістю 30-40 крап./хв., крім того після проведення УФВК додатково вводять 0,125 % перекису водню, розчиненого у 200 мл фізіологічного розчину.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що призначають по 5-10 процедур на курс, а число курсів - 2-3 з інтервалом у 1,5-3 місяці, залежно від стану хворого.

Корисна модель належить до медицини, а саме - до інтенсивної терапії та реаніматології, і може бути використана при захворюваннях, у патогенезі яких спостерігається зниження здатності клітин периферичної крові до апоптозу.

Відомо, що однією з найважливіших функцій імунної системи є контроль проліферації та диференціювання як соматичних, так і лімфоїдних тканин макроорганізму [Бабаєва А. Г. Прошлое, настоящее и будущее проблемы лимфоидной регуляции пролиферации нелимфоидных клеток // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1995. - № 9. - С. 230-234].

Крім того, імунна система виконує трофічну функцію, реалізуючи її шляхом апоптозу частини прекомитованих до тканини субпопуляцій лімфоцитів або прижиттєвого «викиду» нуклеїнових кислот, білків і медіаторів, необхідних для життєзбереження даної тканини.

Відомий спосіб індукції апоптозу в лейкоцитах периферичної крові шляхом впливу ультразвуку [Залесский В. Н., Великая Н. В. Механизмы цитотоксических эффектов активных молекул кислорода и развития апоптоза // Совр. проблемы токсикологии. - 2003. - № 1. - С. 11-17]. Даний спосіб знайшов широке застосування в експериментальній біології і медицині як метод дезінтеграції клітин. У клініці даний метод не застосовується через дезінтеграцію не тільки лейкоцитів, але й еритроцитів із тромбоцитами, що тягне за собою розви-

ток ниркової недостатності.

Іншим способом індукції апоптозу в лейкоцитах периферичної крові є вплив хіміопрепаратів [Hunt J. M., Worington A. E., Xian A. et al. A model based upon pseudo regular spacing of cells combined with the randomization of the nuclei can explain the significant changes in high-frequency ultrasound signals during apoptosis // Ultrasound Med. Biol. - 2002. - 28, N4. - P. 217-226].

Метод широко використовується в гематології для лікування лейкозів з метою індукції програмованої клітинної загибелі трансформованих клітин крові. Також даний метод широко застосовується при лікуванні великих колагенозів з метою ерадикації популяцій лімфоцитів, прекомитованих до власних тканин макроорганізму і сприймаючих їх як чужорідні антигени. Даний метод обмежений неселективним спектром побічних впливів на швидко оновлюючі тканини макроорганізму і не може бути застосований у випадках, коли побічні дії превалюють над лікувальним ефектом.

Найближчим за суттю до заявленого способу є спосіб екстракорпорального ультрафіолетового опромінення крові сприятливої індукції апоптозу в клітинах периферичної крові за рахунок екстракорпорального впливу квантами оптичного випромінювання ультрафіолетової частини спектра [Арцишевская Р. А. и др. Функциональные изменения поверхности эритроцитов человека в норме и патологии после воздействия УФ- излучения раз-

(13) U

(11) 53471

(19) UA

личного спектрального состава. Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных // Сб. науч. тр. / Под ред. И. Е. Ганелиной, К. А. Самойловой. - Л.: Наука, 1986. - С. 212-226]. Даний спосіб обраний за прототип.

На даний час ультрафіолетове опромінення крові одержало широке визнання завдяки відносній простоті, безпеці, економічності, різноманіттю позитивних функціональних зрушень, індукованих в організмі, відсутності побічних явищ, високої терапевтичної ефективності.

Однак недоліком відомого способу є нездатність індукувати апоптоз у клітинах периферичної крові у випадку наявності мутантних форм генів-індукторів апоптозу або підвищеної експресії продуктів групи антиапоптотичних генів [Потапов Л. В. и др. Ультрафиолетовое облучение собственной крови // Вести хирургии, 1982. - № 6. - С. 130-133; Бенедиктов. О квантовой гемотерапии // В кн.: Квантовая гемотерапия / Тез. докл. науч. конф. - Свердловск, 1981. - С. 3-6].

Корисна модель вирішує завдання забезпечення індукції апоптозу в клітинах периферичної крові при тих захворюваннях, коли в організмі хворого має місце наявність мутантних форм генів-індукторів апоптозу або підвищеної експресії продуктів групи антиапоптотичних генів, наприклад, при онкологічних захворюваннях.

Поставлене завдання вирішується тим, що екстракорпоральний вплив квантами оптичного випромінювання ультрафіолетової частини спектра (УФВ) сполучає із введенням у флакон з опроміненою власною кров'ю хворого 0,125 % розчину перекису водню, для чого 0,5-10 мл 3% розчину перекису водню розчиняють у 100 мл крові, після чого кров знову опромінюють і повертають у вену, при цьому, після введення у вену двічі опроміненням і збагаченням перекисом водню аутокрові хворого, хворому додатково вводять внутрішньо краплинно 200 мл 0,125 % розчину перекису водню. При цьому призначають по 5-10 процедур на курс, а число курсів - 2-3 з інтервалом в 1,5-3 місяці, залежно від стану хворого.

Новим у заявленому способі є те, що в опромінену кров вводять 0,125 % розчин перекису водню і, тим самим, індукують апоптоз у клітинах периферичної крові у випадку наявності мутантних форм генів-індукторів апоптозу, або підвищеної експресії продуктів групи антиапоптотичних генів, оскільки відомо, що однією з функцій імунної системи є контроль за проліферацією і диференціюванням соматичних нелімфоїдних тканин. Сукупність УФВ аутокрові і використання перекису водню створює додатковий ефект, що сприяє посиленню індукції апоптозу в периферичних клітинах крові.

Спосіб здійснюють таким чином.

Шляхом пункції кубітальної вени забирають венозну кров з розрахунку 1-3 мл/кг ваги хворого за допомогою перистальтичного насоса. За антикоагулянт використовують розчин гепарину 5000 ОД в/в. Джерелом ультрафіолетового опромінювання короткого діапазону є кварцова лампа апарата «Ізолюда». При проходженні крові через кю-

вету вона опромінюється і потрапляє у флакон з гепарином 5000 ОД на 50 мл фізрозчину, який містить розрахункову кількість 0,125 % перекису водню (для одержання якої 1 мл 3 % розчину перекису водню вводять в 100 мл крові). Повернення забраної крові здійснюють по пластиковій системі зі швидкістю 30-40 крапель у хвилину в пунктовану кубітальну вену. Після закінчення даної процедури додатково внутрішньо краплинно вводять 200 мл 0,125 % розчину перекису водню. Для одержання даної концентрації вводиться 7 мл 3 % перекису водню на 200 мл 0,9 % розчину хлористого натрію. Внутрішньовенне введення препарату здійснюють протягом 2 годин. Процедуру повторюють за необхідністю, залежно від стану хворого, при цьому призначають по 5-10 процедур на курс, а число курсів - 2-3 з інтервалом в 1,5-3 місяці, залежно від стану хворого. Приклад конкретного виконання способу.

1. Хвора М., 1950 р. н., IX № 56765, перебувала на лікуванні в ДОПЦ у мамологічному відділенні з 23.09.09 по 08.10.09 з приводу Са лівої молочної залози T₁N₀M₀, стан після комбінованого лікування, трофічна виразка у лівій аксиллярній зоні. Одержувала консервативне лікування з приводу трофічної виразки у лівій аксиллярній зоні протягом 2 місяців без ефекту. Після проведення 5 сеансів екстракорпорального ультрафіолетового опромінення крові з додаванням у флакон 0,125 % перекису водню та в/в введенням 0,125 % перекису водню в загальній дозі 1000 мл виразка епітелізувалась. Стан хворої і якість життя значно покращилися.

2. Хворий Ш., IX № 56849 перебував на лікуванні в торакальному відділенні № 2 ДОПЦ з 23.11.2009 р. по 13.02.2010 р.

Діагноз: Са pulm. T2N1M3, стан після комбінованого лікування. Скарги на сильний кашель, задишку у спокої. Шкірні покриви чисті, бліді. Дихання тверде, розсіяні сухі хрипи з обох боків. ЧД = 24/хв. АТ = 120/90 мм. рт. ст. ЧСС = 96/хв. Змуси не положення сидіти. Проведено курс УФВК № 5. Одноразовий забір крові у кількості 150 мл з додаванням 1,0-0,125 % H₂PRO₂. Після сеансу УФВК в/в введення 200,0 - 0,125 % розчину перекису водню. Стан покращився. Задишка зменшилася, ЧД - 18/хв., АТ - 120/70 мм. рт. ст., ЧСС - 78/хв. З'явився апетит. Спить у положенні лежачи.

Таким чином, заявлений спосіб індукції апоптозу в периферичних клітинах крові шляхом сполученого впливу на аутокров хворого УФВ і перекису водню дозволяє забезпечити індукцію апоптозу в клітинах периферичної крові при тих захворюваннях, коли в організмі хворого має місце наявність мутантних форм генів-індукторів апоптозу або підвищеної експресії продуктів групи антиапоптотичних генів, при онкологічних захворюваннях, а також при різних колагенозах, внаслідок чого значно підвищується якість життя хворих.

Крім того, враховуючи той факт, що імунна система виконує також і трофічну функцію, яка здійснюється шляхом апоптозу частини прекомитованих до тканини клонів лімфоцитів або прижиттєвому «викиді» частини клітинного матеріалу, який містить білки і нуклеїнові кислоти, вико-

ристовуваних тканиною-мішенню як «будівельні цеглинки», спосіб сприяє зниженню трофічних розладів тканин [Залесский В. Н., Гавриленко Т. И. Апоптоз при ишемии и реперфузии миокарда // Врач. дело. - 2002. - № 1. - С. 8-15].

Перевагами заявленого способу є також про-

стота використання, відсутність застосування дорогих реактивів, лікарських препаратів та устаткування. За вищевикладеною методикою проліковано 42 пацієнти. Побічних реакцій та ускладнень при використанні заявленого способу не було.