



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **97493** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)
A61K 35/14 (2015.01)
A61P 17/00
A61P 37/02 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2015 00826	(72) Винахідник(и): Герасун Борис Абрамович (UA)
(22) Дата подання заявки: 02.02.2015	(73) Власник(и): Герасун Борис Абрамович, вул. Личаківська, 151, кв. 3, м. Львів, 79014 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.03.2015	(74) Представник: Ривюк Марія Михайлівна, реєстр. №197
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.03.2015, Бюл.№ 5	

(54) ЗАСТОСУВАННЯ СПОСОБУ ВАКЦИНАЦІЇ АВТОЛЕЙКОЦИТАМИ ЯК СПОСОБУ ПРИГНІЧЕННЯ СИНТЕЗУ ПРОЗАПАЛЬНОГО ЦИТОКІНУ ФАКТОРА НЕКРОЗУ ПУХЛИН АЛЬФА У ХВОРИХ НА ПСОРІАЗ

(57) Реферат:

Застосування способу вакцинації автолейкоцитами як способу пригнічення синтезу прозапального цитокіну фактора некрозу пухлин альфа у хворих на псоріаз.

UA 97493 U

Корисна модель належить до клінічної імунології та дерматології і може бути використана для лікування хворих із хронічним рецидивуючим дерматозом - псоріазом.

Етіологія і патогенез псоріазу вивчені недостатньо, проте вважається встановленим, що у патологічному процесі важливу роль відіграє активація CD4+ Т-лімфоцитів, наслідком чого є посилений синтез численних прозапальних цитокінів, особливо фактора некрозу пухлин альфа (ФНП-альфа). Про це свідчить те, що у хворих на псоріаз спостерігається високий рівень ФНП-альфа у сироватці крові та в псоріатичних бляшках, а при наявності проявів артриту - у синовіальних оболонках. Загально визнано, що тяжкість псоріазу корелює із рівнем ФНП-альфа у сироватці крові та збільшенням кількості його рецепторів [1-3]. До того ж мутації гена ФНП-альфа співпадають із початком псоріатичного артриту [4].

Відомо, що ФНП-альфа має значну кількість ефектів, які залежать від його концентрації. У великій концентрації ФНП-альфа виступає як медіатор, що призводить до розвитку ендотоксин-індукованого септичного шоку, здатний пригнічувати ліпопротеїнову ліпазу жирової тканини, що сприяє розвитку кахексії, є причиною некрозу клітин певних пухлин. ФНП-альфа посилює продукцію простагландинів, що реалізує його токсичні ефекти [5].

У хворих на псоріаз із високою активністю ФНП-альфа спостерігається недостатність Th2-регуляторних клітин, цитокінів IL-10, IL-4, IL-11 та розчинних фізіологічних антагоністів ФНП-альфа, що значно обтяжує перебіг хвороби та ускладнює лікування [1]. Отже, зменшення активності ФНП-альфа повинно позитивно впливати на перебіг тяжких форм псоріазу.

Після відкриття технології створення моноклональних антитіл для зменшення активності цитокінів, особливо ФНП-альфа, почали використовувати препарати, що являють собою химерні моноклональні антитіла з ефекторними функціями, у дерматології - переважно антитіла до ФНП-альфа для лікування хворих на псоріаз. Поява біологічних препаратів, що інгібують прозапальні цитокіни, позитивно вплинула на ефективність лікування таких хвороб як псоріаз та ревматоїдний артрит [1, 6]. Одним із таких препаратів є інфліксимаб - химерні моноклональні антитіла, які складаються із варіабельної (Fv) ділянки високоафінних нейтралізуючих мишиних антитіл до ФНП-альфа. Інфліксимаб із високою авідністю з'єднується із ФНП-альфа, пригнічуючи активність як вільного, так і мембранозноасоційованого ФНП-альфа. Препарат позитивно впливає на стан автоімунних процесів, асоційованих із Th1-типом імунної відповіді [1]. Результати, отримані при випробуванні антицитокінових антитіл, свідчать про їх високий лікувальний ефект [1, 6].

Проте, інгібітори цитокінів є гетерогенними білками, а це може призводити до тяжких алергічних реакцій, та прискорювати виведення антицитокінових антитіл. До того ж висока вартість препаратів зменшує можливість їх використання.

Більшість препаратів загальної дії, які призначають хворим на псоріаз, особливо пацієнтам із тяжким перебігом хвороби, мають імуносупресивну активність різного ступеня. Це, зокрема, стосується метотрексату (зменшує клітинний мітоз) та циклоспорину А (інгібує Т-лімфоцити та їх популяції, що призводить до зменшення синтезу інтерлейкіну-2) [7]. Проте псоріаз досить часто сполучається з інфекційними хворобами, що ускладнює призначення препаратів з імуносупресивними властивостями.

Відомий спосіб вакцинації автолейкоцитами (внутрішньошкірна імунізація), який застосовується для лікування автоімунних процесів у хворих на хронічні вірусні гепатити В і С (зокрема, системних васкулітів та кріоглобулінемії), який складається з двох етапів: виділення лейкоцитів із периферійної крові та введення їх пацієнту [8].

Досліджено, що внутрішньошкірна імунізація автолейкоцитами позитивно впливає на стан клітинного та гуморального імунітету у хворих із автоімунними процесами. Це підтверджується ефективністю лікування системних васкулітів та позитивним впливом імунізації автолейкоцитами на стан кріоглобулінемічного синдрому [8-11]. Відомо, що позитивний вплив на клініку системних васкулітів та інших автоімунних станів співпадає із зменшенням активності прозапальних цитокінів. Саме тому ефективність імунізації автолейкоцитами при автоімунних процесах, які переважно пов'язані із Th1-типом імунної відповіді, і стала підставою для випробування методу для впливу на активність ФНП-альфа при інших хворобах із аналогічним патогенезом, зокрема, при псоріазі. До того ж у хворих на псоріаз встановлено підвищення вмісту антитіл до ДНК з переважанням автоантитіл до нативної ДНК, що сприяє формуванню автоімунного процесу, в той час як імунізація автолейкоцитами швидко призводить до пригнічення синтезу автоімунних антитіл [8, 12].

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити біологічний спосіб пригнічення синтезу прозапального цитокіну з використанням власних біофакторів організму, що дозволить уникнути не тільки потенціальну імуногенність, але й імуносупресивний вплив, до того ж зменшить собівартість лікування.

Поставлена задача вирішується застосуванням способу вакцинації автолейкоцитами вперше як способу пригнічення синтезу прозапального цитокіну фактора некрозу пухлин альфа у хворих на псоріаз.

Досвід використання імунізації автолейкоцитами при інфекційних хворобах, зокрема, для лікування герпесу (як лікувальної вакцини) [13], та при хронічних вірусних гепатитах (для лікування кріоглобулінемічних васкулітів або зменшення побічної дії протівірусної інтерферонотерапії) [14] свідчить про те, що зменшення активності автоімунних процесів відбувається не за рахунок пригнічення, а навпаки - внаслідок нормалізації клітинного та гуморального імунітету, а це має важливе значення для лікування псоріазу, враховуючи можливість вірусного походження хвороби.

Запропонований спосіб зменшення активності прозапальних цитоксинів у хворих на псоріаз, як і при лікуванні різних автоімунних процесів, передбачає два етапи: виділення лейкоцитів з периферичної крові та їх внутрішньошкірне введення пацієнту. Імунізація автолейкоцитами розглядається як новий персоналізований метод клітинної терапії.

Виділення лейкоцитів. Лейкоцити виділяють відстоюванням гепаринізованої периферичної венозної крові хворого на псоріаз з високим вмістом ФНП-альфа у сироватці крові. Для цього венозну кров в об'ємі 100-150 мл набирають у флакон із гепарином з розрахунку 50 од. гепарину на 10 мл крові (об'єм залежить від кількості лейкоцитів у 1 мл крові). Розливають по 10 мл у пробірки і під кутом 45° інкубують у термостаті при 37 °С протягом 90-140 хвилин. Плазму крові обережно, не допускаючи перемішування, відсмоктують, лейкоцити осаджують центрифугуванням при 200g протягом 7-8 хвилин. Осад ресуспендують в 1,0-1,5 мл сироватки крові пацієнта.

Маніпуляції виконують стерильно.

Імунізація. Автоклітини периферичної крові вводять хворим на псоріаз із підвищеним вмістом ФНП-альфа у сироватці крові (> 30 пг/мл). Автолейкоцити вводять шприцом внутрішньошкірно (до утворення лимонної кірочки) по 0,1 мл у 8-12 точок в шкіру спини (між лопатками). Через 10-12 днів, 30 та 60 і 180 днів після імунізації досліджували вміст ФНП-альфа у сироватці крові. У подальшому спостерігали за клінічним перебігом псоріазу, за потребою - імунізацію повторили (індивідуально, з врахуванням особливостей перебігу хвороби).

Вплив імунізації на вміст ФНП-альфа у сироватці крові підтверджується результатами спостереження за його вмістом до і після імунізації (табл.).

Таблиця

Вплив імунізації автолейкоцитами на вміст ФНП-альфа у сироватці крові хворих на псоріаз (по результатах обстеження через 30 днів після одноразової імунізації автолейкоцитами)*

Вміст ФНП-альфа до імунізації автолейкоцитами (пг/мл)	Кількість хворих	Вміст ФНП-альфа через 30 днів після імунізації автолейкоцитами (пг/мл)			
		0-5	30-50	51-60	61-100
		Кількість хворих			
30-50	1	1			
51-100	3	3			
150-200	2	1		1	
201-250	4	2	1		
>250	8	4	2	1	2
Разом	18	11	3	2	2

*Зменшення вмісту ФНП-альфа зареєстровано вже через 10 днів після імунізації автолейкоцитами, проте в окремих хворих вплив імунізації посилювався протягом місяця. Саме тому в таблиці наведені результати, що отримані через 30 днів після лікувальної процедури.

З наведених у таблиці даних видно, що зменшення вмісту ФНП-альфа відбулось у всіх хворих (100 %). У більшості з них (11 з 18; 61,1 %) ФНП-альфа взагалі перестав виявлятися. Проте у частини хворих, попри значне зменшення, вміст ФНП-альфа після одноразової імунізації залишався високим. Так, із 12 хворих із початковим вмістом ФНП понад 200 пг/мл в 6 (50 %) залишився в межах 30-100 пг/мл. Такі хворі потребують повторних аналогічних маніпуляцій.

Тривалість ефекту була суто індивідуальною. Так, у 2 пацієнтів з 18 (11,1 %) за 8 місяців спостереження синтез ФНП-альфа не оновився, у інших починав збільшуватися через 2-3 місяці після одноразової імунізації. Таким хворим проводили повторні імунізації лейкоцитами, але вже меншими дозами (клітини виділяли з 50-60 мл крові). Процес зростання синтезу ФНП-альфа значно зменшувався. Отже, метод імунізації аутолейкоцитами доцільно включати в комплексну терапію тяжких форм псоріазу. Додаткове позитивне значення імунізації полягає в тому, що вона призводить до зменшення вмісту преципітуючих холодових білків - кріоглобулінів, що також має позитивне значення [9, 10].

Джерела інформації:

1. Знаменская Л.Ф. Препараты ингибиторов фактора некроза опухолей альфа в терапии больных псориазом / Вестник дерматологии и венерологии, 2010. - № 6. - С. 7-15.

2. Ritchlin C.T. The pathogenesis of psoriasis and psoriatic arthritis. New applications for TNF inhibition. Immunex, Philadelphia 2000; 9:20.

3. Feldmann M., Maini R.N. Discovery of TNF-alpha as a therapeutic target in rheumatoid arthritis: preclinical and clinical studies. Joint Bone Spine 2002; 69:12-18.

4. Anandarajah A.P., Ritchlin C.T. Pathogenesis of psoriatic arthritis. Introduction to TNF/pathophysiology of TNF 7. Curr Opin Rheumatol 2004; 16 (4): 338-343.

5. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. Киев, 2010. - 552 с.

6. Сигидин Я.А., Скуркович Б.С., Скуркович С.В., Лунина Г.В. / Новые подходы к биологической иммуномодулирующей терапии ревматоидного артрита: нейтрализация основных цитокинов // Терапевтический архив, 1998. - № 5. - С. 32-37.

7. Скрипкин Ю.К. Кожные и венерические болезни. Москва: Трида-фарм, 2000. - 688 с.

8. Герасун Б.А., Чопьяк В.В., Ворожбит О.Б. Лечение аутоиммунных нарушений при хронических гепатитах В и С с помощью иммунизации аутолейкоцитами // Мир вирусных гепатитов. - Москва, 2006. - № 1. - С. 13-18.

9. Чоп'як В.В., Господарський І.Я., Герасун Б.А. Клінічний алгоритм надання медичної допомоги хворим на поліклоновий (змішаний) кріоглобулінемічний синдром - D 89.1. - Методичні рекомендації МОЗ України, Київ, 2006.

10. Герасун Б.А., Андрейчин М.А., Ворожбит О.Б. і співав. Застосування лейкоцитів у клітинній терапії // Гепатологія, 2012. - № 2 (16). - С. 4-17.

11. Патент України на винахід № 97461. Застосування способу вакцинації аутолейкоцитами як способу лікування ідіопатичної оліго- та астенозооспермії / Герасун Б.А., Копець Р.А.; опубліковано 10.02.2012, Бюл. № 3.

12. Gerasun B.A., Holubovska O.A., Hrytsko R.Y., Zinchuk O.N., Shkurba A.V. Reduction of Hyperproduction of Thyroid Autoantibodies in Patients without Disturbance of the Thyroid Function: New Patents // Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery 2014, Vol. 8, No. 2. - P. 140-145.

13. Herasun B.A., Hrytsko R.Yu. Original treatment method of frequently recurrent chronic herpetic infection caused by herpes simple virus I and II types // Central European Journal of Immunology - 2012. - Vol. 37, N 4.

14. Грицко Р.Ю., Єгошина Н.А., Герасун Б.А. Нові додаткові ефективні підходи до корекції побічної дії протівірусної інтерферонотерапії хронічного гепатиту С // Гепатологія, 2014. - № 3. - С. 6-14.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Застосування способу вакцинації аутолейкоцитами як способу пригнічення синтезу прозапального цитокіну фактора некрозу пухлин альфа у хворих на псоріаз.

Комп'ютерна верстка М. Шамоніна

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