



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **96459** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)
A61P 43/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2014 08404	(72) Винахідник(и): Сарнацька Вероніка В'ячеславівна (UA), Ніколаєв Володимир Григорович (UA), Солянік Галіна Іванівна (UA), Сахно Лариса Олексіївна (UA), Юшко Лариса Олексіївна (UA), Масленний Віталій Миколайович (UA)
(22) Дата подання заявки: 24.07.2014	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.02.2015	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.02.2015, Бюл.№ 3	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО НАН УКРАЇНИ, вул. Васильківська, 45, м. Київ, 03022 (UA)

(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ ДЕЯКИХ ГЕМАТОЛОГІЧНИХ ТА МОРФОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ПРИ ПАРАНЕОПЛАСТИЧНОМУ СИНДРОМІ, АСОЦІЙОВАНОМУ З ПУХЛИННИМ АНГІОГЕНЕЗОМ

(57) Реферат:

Спосіб корекції перебігу паранеопластичного синдрому, асоційованого з пухлинним ангіогенезом, в якому ефективно коригування проявів пухлиноасоційованої анемії та значних порушень у гістологічній структурі внутрішніх органів досягається за допомогою методу ентеросорбції із застосуванням як ентеросорбентів мікрогранульованих вуглецевих активованих матеріалів марки ГСГД з насипною вагою 0,18 г/см³ і діаметром гранул 0,15-0,25 мм.

U
UA 96459

Корисна модель, що заявляється, належить до медицини, зокрема до клінічної та експериментальної онкології, і може бути використана для корекції перебігу паранеопластичного синдрому, асоційованого з пухлинним ангиогенезом.

Рівень техніки. Відомо, що вплив злоякісної пухлини на організм призводить до значних порушень в структурі нормальних органів, тканин та систем організму, тобто розвитку паранеопластичного синдрому (ПС). Ці порушення в значній мірі негативно впливають на якість життя онкологічних хворих і в багатьох випадках є загрозою їх життю. До найбільш тяжких порушень належить пухлиноасоційована анемія (ПАА), на яку страждають близько 30 % первинних онкологічних хворих [1], у пацієнтів, які отримували хіміотерапію, її частота досягає 90 % [2]. Аналіз впливу анемії на виживаність онкологічних хворих виявив, що середнє значення щорічного ризику смерті хворих з анемією на 65 % вище, ніж без неї [3].

Для корекції ПАА існує декілька способів.

Одним з розповсюджених є трансфузія алогенної еритроцитарної маси, що забезпечує швидке підвищення рівня гемоглобіну та гематокриту, зменшення симптомів анемії [4]. Однак, цей спосіб має суттєвий недолік, а само: переливання еритроцитарної маси дає короточасний ефект та супроводжується ризиком розвитку цілого ряду ускладнень зокрема застійної серцевої недостатності, алоїмунізації, порушення гомеостазу тощо, а також загрозою виникненням інфекційних та вірусних патологій [5].

Альтернативою гемотрансфузійному методу у лікуванні ПАА є використання еритропоез-стимулюючих агентів, включаючи еритропоетини першого покоління, які мають високу ефективність, але коротку тривалість дії, еритропоез-стимулюючі препарати з пролонгованим ефектом. Проте, цей спосіб також має недоліки, які полягають у розвитку після прийому препаратів, стимулюючих еритропоез, побічних негативних ефектів, зокрема зростання ризику тромбоемболічних ускладнень, що негативно впливає на загальну виживаність та ризик стимуляції пухлинного процесу [6]. Крім цього висока собівартість та певні технічні складнощі отримання рекомбінантних еритропоетинів людини обмежують їх широке використання у клінічній практиці.

В основі ще одного способу корекції ПАА є використання сполук, здатних стабілізувати гіпоксія-індуцибельний фактор (ГІФ), що в процесі розвитку гіпоксії забезпечує доставку кисню шляхом експресії генів синтезу еритропоетину, ендотеліального фактора росту VEGF, трансферину, але, в свою чергу, сприяти адаптації пухлинних клітин до гіпоксії, підтримувати проліферацію ракових клітин та метастазування [7]. Враховуючи на неоднозначну роль, яку ГІФ можуть грати у пухлинному процесі, використання фармакологічних міметиків гіпоксії, а також інгібіторів ГІФ гідроксилаз [8, 9] пов'язане з певними ризиками.

У зв'язку з вищезазначеним розробка альтернативних методів корекції ПАА не втрачає актуальності. Перспективним у цьому напрямку виглядає застосування методу ентеросорбції, що обумовлено, з одного боку, гуморальною природою виникнення ПАА, з другого - властивостями вуглецевих ентеросорбентів, які обумовлюють їх здатність призводити до суттєвої нормалізації цитокінового профілю, показників ендотеліальної дисфункції, деяких параметрів гуморального та клітинного імунітетів, сприяти пом'якшенню рівня мієлодепресії, підвищувати функціональну активність детоксикаційних систем, позитивно впливаючи на їх структурно-морфологічні показники і регенераторний потенціал [10].

Найбільш близьким за технічною суттю і результатом до способу, що заявляється, є спосіб покращення гематологічних показників периферичної крові на тлі хіміотерапії шляхом застосування ентеральної сорбційної терапії із використанням вуглецевого гранульованого ентеросорбенту СКН, що було доведено на прикладі експериментальних тварин-пухлиноносіїв [11]. Основним недоліком способу (відомий спосіб) є недостатня лікувальна ефективність, що є результатом обмеженої спроможності ентеросорбенту забезпечити необхідний рівень відновлення функцій кісткового мозку та обумовлена недостатньо високою адсорбційною активністю традиційних вуглів СКН, що використовували як ентеросорбенти.

Власне опис корисної моделі, що заявляється

В основу способу, що заявляється, поставлено задачу корекції деяких гематологічних та морфологічних показників при ПС та пом'якшення його проявів за допомогою методу ентеросорбції. Поставлена задача розв'язується завдяки способу, що базується на використанні як ентеросорбентів новітніх високоактивних мікрогранульованих вуглецевих активованих матеріалів марки ГСГД, які мають розвинуту сорбційну поверхню та унікальні сорбційно-кінетичні характеристики, що забезпечує швидке поглинання з шлунково-кишкового тракту великої кількості різноманітних токсинів, що, в свою чергу, обумовлює ефект їх дистанційного впливу на стан і функціональну активність органів та систем. Крім цього ентеросорбенти практично не мають негативних побічних ефектів.

Спосіб здійснюється наступним чином. Мікрогранульований вуглецевий ентеросорбент ГСГД з насипною вагою $0,18 \text{ г/см}^3$ і діаметром гранул $0,15-0,25 \text{ мм}$ при наранеопластичному синдромі, асоційованому з пухлинним ангіогенезом, приймають 2-3 рази на добу через 1,5-2 години після вживання їжі із розрахунку $0,20-0,62 \text{ г}$ маси ентеросорбенту на 1 кг маси тіла на добу та запивають кип'яченою водою.

Тривалість курсу ентеросорбції зазвичай коливається від 10 до 24 днів. Очікуваний ефект: пом'якшення проявів ПС, що виражається у покращенні показників периферичної крові, функції печінки і нирок та пом'якшення симптоматики оксидативного стресу.

Відмінною ознакою способу, що заявляється, є застосування як ентеросорбентів мікрогранульованих вуглецевих активованих матеріалів марки ГСГД з наступними сорбційними характеристиками: насипна вага $0,18 \text{ г/см}^3$ і діаметр гранул $0,15-0,25 \text{ мм}$. Поглинальна активність цих сорбентів щодо вітального барвника метиленового голубого складає 587 мг/г та перевершують поглинальну активність вуглецевих активованих сорбентів марки СКН з насипною вагою $0,30 \text{ г/см}^3$ і діаметр гранул $0,15-0,25 \text{ мм}$, що використовувались у відомому способі, майже у 3 рази (200 мг/г).

Застосування способу, що заявляється, забезпечує:

1. Збільшення кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну, а також запобігання розвитку тромбоцитопенії.

2. Позитивний вплив на морфологічну структуру внутрішніх органів - нирок, печінки, селезінки, тимусу.

Приклад застосування способу.

Лабораторній тварині - миші лінії C57 Black - самиці масою $20 \pm 1 \text{ г}$ із високоангіогенним варіантом карциноми Льюїс LLC/R.9, яку моделюють шляхом одноразового внутрішньом'язового введення тварині 1×10^6 пухлинних клітин у $0,1 \text{ мл}$ розчину Хенкса, протягом двох тижнів, починаючи з сьомої доби після перещеплення, проводиться курс ентеросорбції. Варіант карциноми легені Льюїс LLC/R9 вибраний завдяки високій ангіогенній активності, яка пов'язана з високим рівнем експресії VEGF, що причинає виразну маніфестацію гематологічної ланки ПС, сплено- та гепатомегалії, прояви вогнищ екстремедулярного кровотворення та інволюції тимусу [12]. Завис мікрогранульованого вуглецевого ентеросорбенту ГСГД з насипною вагою $0,18 \text{ г/см}^3$ і діаметром гранул $0,15-0,25 \text{ мм}$ у $0,7 \text{ мл}$ кип'яченої води вводять зондом внутрішньошлунково один раз на добу по $12,5 \text{ мг}$ на кожну тварину, що у перерахунку на суху масу сорбенту складає $0,625 \text{ г/кг}$. У контрольній групі тваринам замість ентеросорбенту вводять $0,7 \text{ мл}$ кип'яченої води.

У таблиці наведено вплив гематологічних показників при застосуванні мікрогранульованого ентеросорбенту на показники периферичної крові мишей з високоангіогенним варіантом карциноми легені Льюїс LLC/R9.

Таблиця

Показники периферичної крові інтактних мишей та тварин
з високоангіогенним варіантом LLC/R9 на 21-у добу пухлинного росту

Показник	Одиниця виміру	Здорові інтактні миші	Контроль пухлинного росту (КПР)	Введення мікрогранульованого ентеросорбенту
Загальна кількість лейкоцитів (WBC)	$10^9/\text{л}$	$8,95 \pm 0,57$	$10,86 \pm 2,82$	$9,50 \pm 1,17$
Кількість лімфоцитів (LY)	10 %	$6,28 \pm 0,37$	$7,36 \pm 1,71$	$5,62 \pm 1,25$
Кількість моноцитів (MO)	10 %	$0,98 \pm 0,12$	$1,38 \pm 0,43$	$1,22 \pm 0,14$
Кількість гранулоцитів (GR)	10 %	$1,70 \pm 0,12$	$2,12 \pm 0,83$	$2,66 \pm 0,36^1$
Кількість еритроцитів (RBC)	$10^{12}/\text{л}$	$10,04 \pm 0,26$	$5,95 \pm 0,37^1$	$7,11 \pm 0,80^1$
Рівень гемоглобіну (Hgb)	г/л	$148,0 \pm 2,45$	$87,2 \pm 6,0^1$	$100,60 \pm 9,28^1$
Кількість тромбоцитів (PLT)	10 %	$269,0 \pm 34,78$	$142,60 \pm 5,36^1$	$234,60 \pm 25,79^2$

¹ $p < 0,05$ порівняно з інтактними мишами; ² $p < 0,05$ порівняно з групою КПР; ³ $0,05 < p < 0,1$ порівняно з групою КПР.

Як видно з таблиці, на 21-у добу росту LLC/R9 у мишей контрольної групи було зафіксоване достовірне порівняно з інтактними тваринами зниження вмісту гемоглобіну в 1,7 рази, а також кількості еритроцитів та тромбоцитів відповідно в 1,7 та 1,9 рази. У зазначений термін загальна кількість лейкоцитів, лімфоцитів, гранулоцитів і моноцитів не мали суттєвих відмінностей від показників інтактного контролю. У мишей, яким вводили ентеросорбенти, зниження кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну було менш виразне. Крім цього застосування ентеросорбенту запобігало розвитку тромбоцитопенії, що спостерігалась у мишей контрольної групи. На 21-у добу пухлинного росту кількість тромбоцитів у мишей-пухлиноносіїв, яким вводили ентеросорбенти, була на рівні інтактного контролю і вірогідно перевищувала цей показник у тварин, які не отримували ентеросорбентів.

Представлені дані підтверджують, що використання способу, що заявляється, запобігає у експериментальних тварин із високоангіогенним варіантом карциноми легені Льюїс вірогідному підвищенню кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну, а також розвитку тромбоцитопенії.

Після закінчення курсу ентеросорбції був проведений порівняльний аналіз змін гістологічної структури внутрішніх органів тварин, що відбувається у процесі пухлинного росту та під впливом ентеросорбентів.

Морфологічне вивчення тканин печінки:

У контрольній групі мишей-пухлиноносіїв на зрізах печінки мали місце виражені дистрофічні зміни в паренхімі органа. Трабекулярна будова часточок місцями була порушена на тлі помірно миловидної та дрібно-крапельної жирової дистрофії гепатоцитів, яка проявлялась у набуханні гепатоцитів і вакуолізації цитоплазми. Як видно на фіг. 1, гепатоцити слабо забарвлені з вираженим апізонуклеозом ядер. Зустрічаються також майже прозорі клітини з пікнотичними ядрами, іноді з ознаками нерівномірного слабого аутолізу. На тлі введення мікрогранульованого ентеросорбенту стан гістоструктури паренхіми печінки значно поліпшується, наближаючись до норми. Проявляється достатня чітка, радіальна спрямованість печінкових трабекул. Гепатоцити мають полігональну форму, містять чіткі округлі ядра з ядерцями, цитоплазма має виражену базофілію, що свідчить про підвищений білковий синтез (фіг. 2).

Морфологічне вивчення тканин нирок:

На зрізах нирок тварин контрольної групи з пухлиною зустрічаються каналці з ознаками гіаліново-крапельної дистрофії різного ступеня виразності особливо у звивистих каналцях коркового шару (фіг. 3). При цьому в цитоплазмі нефроцитів звивистих каналців з'являються гіаліноподібні білкові брилки і краплі, які можуть зливатися між собою і заповнювати всю клітину. Виявлено ряд каналців з некробіозами-некрозами окремих епітеліоцитів, груп клітин та майже цілих каналців. При цьому ниркові клубочки в стані помірної атрофії різного ступеню виразності. Водночас зустрічаються атрофічні каналні мозкового шару, про що свідчить наявність каналців з різко сплющеним епітелієм, які іноді містили еозинофільні маси, осередки лімфоїдних клітин (фіг. 4). Після введення ентеросорбентів функціональний стан нирок суттєво нормалізується. Цитоплазма епітеліоцитів проксимального і дистальних відділів каналців нефрону інтенсивно ацидофільна, просвіт каналців помірний, стан епітеліоцитів кінцевих відділів збірних трубок близький до норми (фіг. 5). Будова ниркових тілець кіркового шару краще збережена (фіг. 6).

Морфологічне вивчення тканин селезінки:

У мишей контрольної групи на тлі розвитку пухлини виявлено порушення нормальної гістоархітекtonіки селезінки, зокрема у вигляді об'єднання білої та червоної пульпи, з переважанням нерівномірного повнокров'я червоної пульпи навколо фолікулів. Зустрічаються ділянки невеликих крововиливів і гіаліноподібні структури (слабкий гіаліноз). При цьому дифузно в паренхімі селезінки зустрічаються скупчення гемосидерофагів та коричневі зерна позаклітинного гемосидерину, що свідчить про наявність гемосидерозу селезінки як ознаки порушення процесів гемолізу еритроцитів і обміну гемоглобіну (фіг. 7). На фоні введення ентеросорбентів покращується загальна мікроскопічна картина органу. У паренхімі селезінки спостерігається чітко виражені лімфоїдні фолікули з периферичною зоною червоної пульпи, хоча має місце явище незначного повнокров'я червоної пульпи (фіг. 8).

Морфологічне вивчення тканин тимусу:

На препаратах всіх серій досліду виявляли наявність часточок тимусу з поділом на коркову і мозкову речовину (фіг. 9, 10). Щільність тимоцитів візуально була менша у групах тварин, які отримували ентеросорбенти, що є результатом виселення Т-лімфоцитів до кровотоку (фіг. 10).

Морфологічна картина, що виявляється при вивченні досліджуваних органів, свідчить про виражені патологічні зміни у структурі печінки, нирок і селезінки тварин на тлі розвитку пухлини. У тварин, що отримували мікрогранульовані ентеросорбенти марки ГСГД, відмічено суттєві позитивні зміни у будові цих органів.

Результати морфологічного аналізу переконливо довели, що спосіб, що заявляється, забезпечує позитивний вплив на гістологічну структуру печінки, нирок, селезінки та тимусу.

Отримані дані дають підставу вважати, що спосіб, що заявляється, забезпечує корекцію перебігу ПС, асоційованого з пухлинним ангиогенезом, та після клінічних випробувань може бути застосований у схемах та протоколах лікування онкологічних хворих.

Перелік фігур до заявки на корисну модель:

Фіг. 1. Мікрофотографії зрізів печінки тварини з карциномою легені Льюїс. Гематоксилін-еозин. Зб. х 400.

Фіг. 2. Мікрофотографії зрізів печінки тварини з карциномою легені Льюїс після курсу ентеросорбції. Гематоксилін-еозин. Зб. х 400.

Фіг. 3. Мікрофотографії зрізів нирки (кіркова речовина) тварини з карциномою легені Льюїс. Гематоксилін-еозин. Зб. х 400.

Фіг. 4. Мікрофотографії зрізів нирки (мозкова речовина) тварини з карциномою легені Льюїс. Гематоксилін-еозин. Зб. х 400.

Фіг. 5. Мікрофотографії зрізів нирки (кіркова речовина) тварини з карциномою легені Льюїс після курсу ентеросорбції. Гематоксилін-еозин. Зб. х 400.

Фіг. 6. Мікрофотографії зрізів нирки (мочкова речовина) тварини з карциномою легені Льюїс після курсу ентеросорбції. Гематоксилін-еозин. Зб. х 400.

Фіг. 7. Мікрофотографії зрізів селезінки тварин з карциномою легені Льюїс. Гематоксилін-еозин. Зб. х 400.

Фіг. 8. Мікрофотографії зрізів селезінки тварин з карциномою легені Льюїс після курсу ентеросорбції. Гематоксилін-еозин. Зб. х 400.

Фіг. 9. Мікрофотографії зрізів тимусу тварин з карциномою легені Льюїс. Гематоксилін-еозин. Зб. х 400.

Фіг. 10. Мікрофотографії зрізів тимусу тварин з карциномою легені Льюїс після курсу ентеросорбції. Гематоксилін-еозин. Зб. х 400.

Джерела інформації:

1. Suzuki K.M., Aiba K., Hatake K. Rapid progression of anemia related to tumor-lysis syndrome associated with bortezomib treatment in myeloma patients // Jpn. J. Clin. Oncol. - 2014. - Vol. 44, № 5. - P. 435-441.

2. Tas F., Eralp Y., Basaran M., Sakar B., Alici S., Argon A. et al. Anaemia in oncology practice: relation to diseases and their therapies // Am. J. Clin. Oncol. - 2004. - 2, Suppl. 1. - P. 11-26.

3. Caro J.J., Salas M., Ward A. et al. Anemia as an independent prognostic factor for survival in patients with cancer: a systemic, quantitative review // Cancer. - 2001. - Vol. 91. - № 12. - P. 2214-2221.

4. Моисеев С.В. Анемия при онкологических заболеваниях // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. - 2012. - № 1. - С. 77-82.

5. Williamson L.M., Lowe S., Love E.M. et al. Serious hazards of transfusion (SHOT) initiative: analysis of the first two annual reports // BMJ. - 1999. - 319. - P. 16-19.

6. Tonelli M., Hemmelgarn B., Reiman T., Manns B., Reaume M.N., Lloyd A. et al. Benefits and harms of erythropoiesis-stimulating agents for anemia related to cancer: a metaanalysis // Can. Med. Assoc. J. - 2009. - 180: E62-71.

7. Charlesworth P.J.S., Harris A.L. Mechanism of disease: angiogenesis in urologic malignancies // Nature Clin. Pract. - 2006. - 3. - P. 157-169.

8. Йеске М., Фламме И., Штолль Ф., Бек Х., Акбаба М. Замещенные дигидропиразолоны в качестве ингибиторов hif-пролил-4-гидроксилазы // Патент РФ № 2509080. - 2014.

9. Ho W-B, Wright L., Deng S., Turtle E., Flippin L.A. Chromene derivatives and use thereof as HIF hydroxylase activity inhibitors // Patent US № 8324405 B2. - 2012.

10. Николаев В.Г., Михаловский С.В., Гурина Н.М., Мартынов А.К. Современные энтеросорбенты и механизмы их действия // Эфферентная терапия. - 2005. - 11, № 4. - С. 3-17.

11. Бонацкая Л.В., Плотников В.М. Снижение гемотоксичности противоопухолевых препаратов при энтеросорбции // Экспериментальная онкология. - 1989. - 11, No 1. - С. 71-73.

12. Ferrara N. Role of myeloid cells in vascular endothelial growth factor-independent tumor angiogenesis // Curr. Opin. Hematol. - 2010. - Vol. 17, № 3. - P. 219-224.

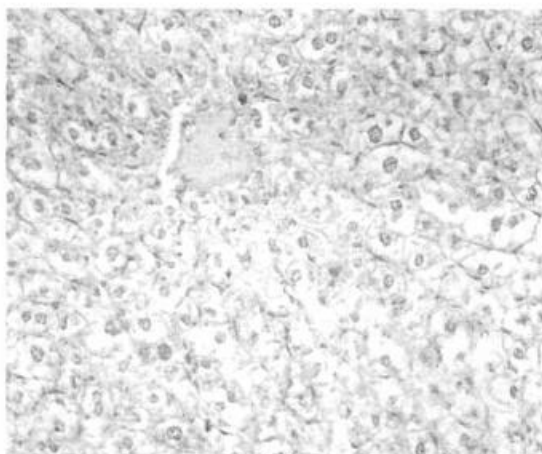


Fig. 1

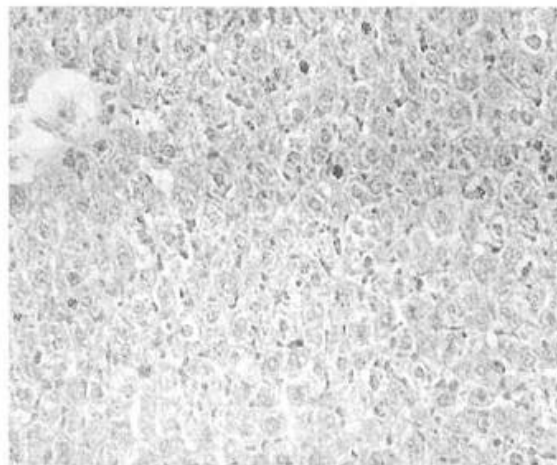


Fig. 2

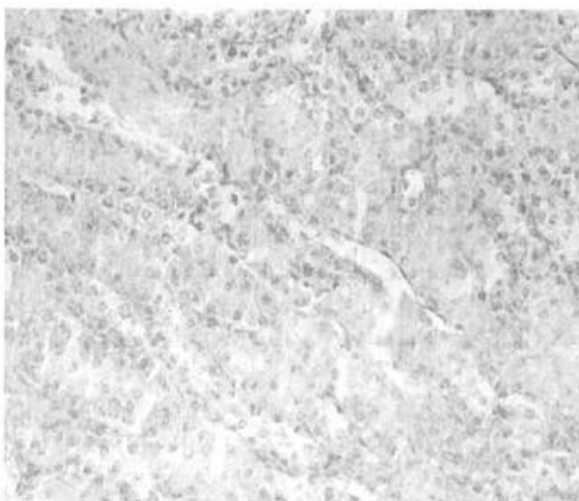


Fig. 3

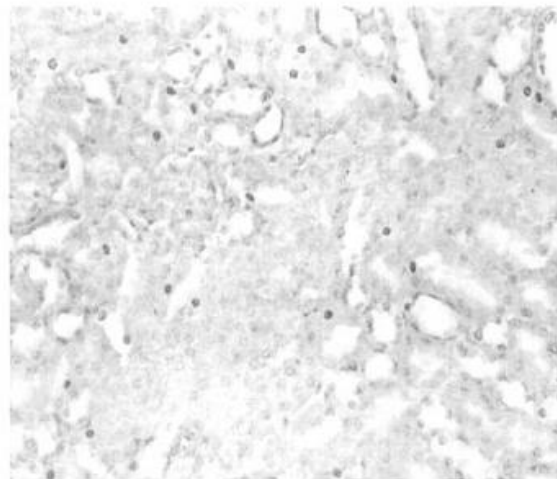


Fig. 4

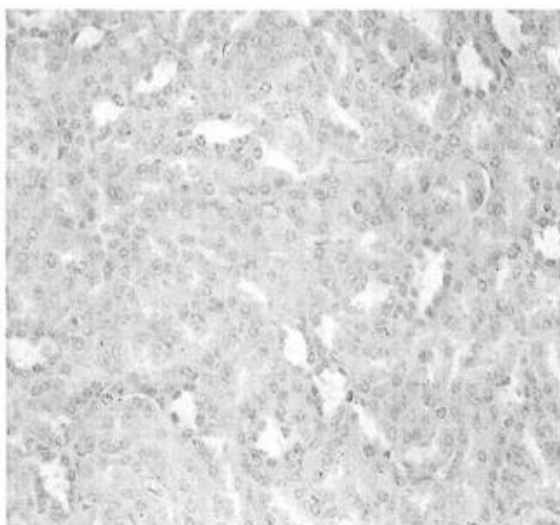


Fig. 5

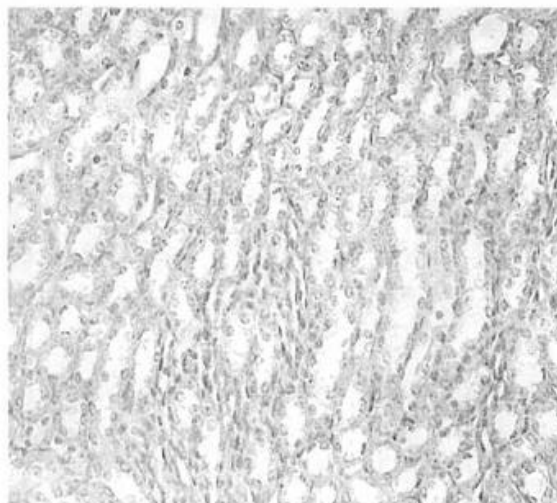


Fig. 6

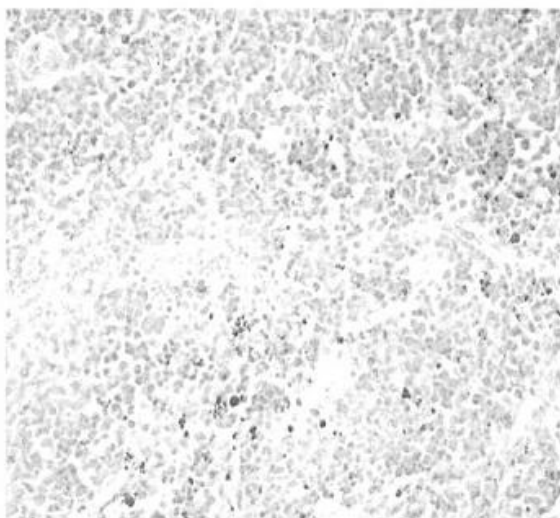


Fig. 7

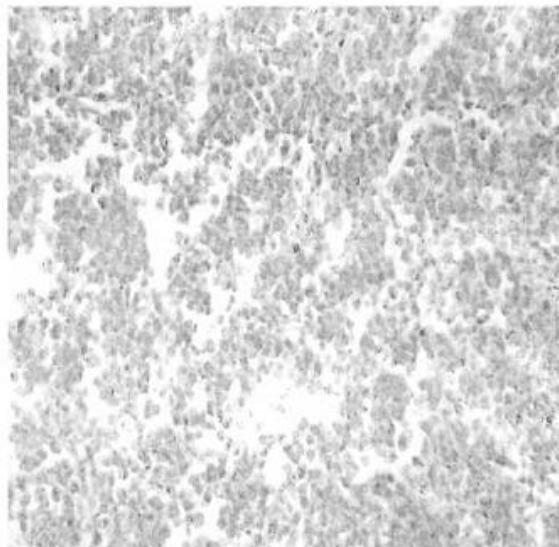


Fig. 8

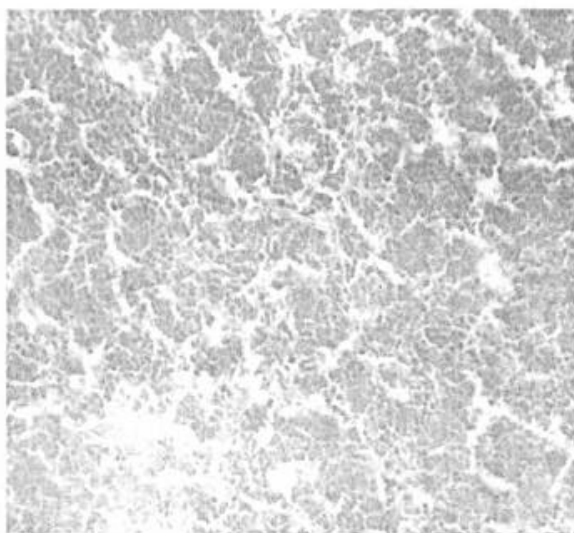


Fig. 9

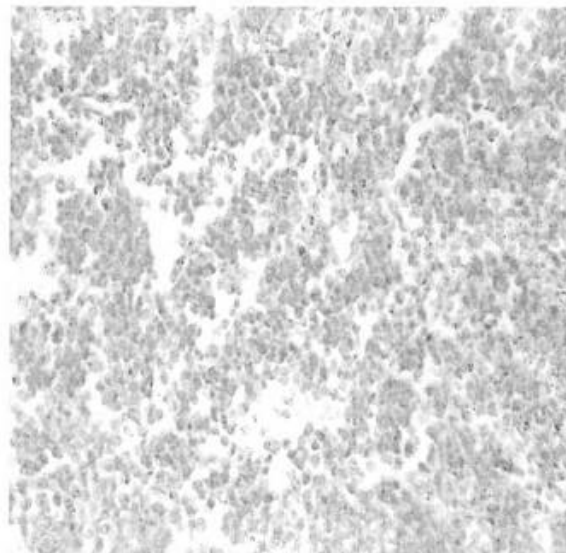


Fig. 10

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5 Спосіб корекції перебігу паранеопластичного синдрому, асоційованого з пухлинним
ангіогенезом, який **відрізняється** тим, що ефективне коригування проявів пухлиноасоційованої
анемії та значних порушень у гістологічній структурі внутрішніх органів досягається за
допомогою методу ентеросорбції із застосуванням як ентеросорбентів мікрогранульованих
10 вуглецевих активованих матеріалів марки ГСГД з насипною вагою 0,18 г/см³ і діаметром гранул
0,15-0,25 мм.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

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