



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 3911

(13) U

(51) 7 G09B23/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОСІБ РЕМІЄЛІНІЗАЦІЇ НЕРВОВИХ ВОЛОКОН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АЛЕРГІЧНОМУ ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТІ

1

2

(21) 20040403207

(22) 28.04.2004

(24) 15.12.2004

(46) 15.12.2004, Бюл. № 12, 2004 р.

(72) Мельник Наталія Олексіївна

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

(57) Спосіб ремієлінізації нервових волокон при експериментальному алергічному енцефа-

ломієліті, який включає моделювання алергічного енцефаломієліту у щурів, який відрізняється тим, що після появи клінічних ознак експериментального алергічного енцефаломієліту, через 12-14 діб після його індукції, вводять підшкірно препарат "Ребіф" у дозі 0,55 мкг через день протягом 15 діб, при сумарній дозі отриманого препарату 4,4 мкг на одну тварину.

Корисна модель належить до галузі медицини, зокрема до неврології та імунології, і може бути застосована для вивчення ремієлінізації на моделі експериментального алергічного енцефаломієліта (ЕАЕ), яка є адекватною моделлю демієлінізуючих захворювань.

Останні роки на Україні збільшується кількість хворих на демієлінізуючі захворювання. Найбільш поширеним демієлінізуючим захворюванням є розсіяний склероз (РС). В Україні жінки хворіють на РС майже в півтора рази (59,4%) частіше, ніж чоловіки (40,6%). Вік більшості хворих (61,7%) у всіх регіонах країни становить від 21 до 45 років, 5,5% до 20 років, 32,8% - понад 45 років. Тривалість захворювання 54% пацієнтів становила до 10 років, решти - понад 10 років. В усіх регіонах України переважали хворі з цереброспінальною (характеризується симптомами ураження головного та спинного мозку - виявляються зорові розлади, порушення функції пірамідного тракту, чутливих та мозочкових шляхів, черепних нервів тощо) - від 63,2 до 77,9%. Результати проведеного епідеміологічного дослідження свідчать про зростання за останні 10-15 років поширеності РС у всіх регіонах України, територію якої слід віднести до зони середнього ризику, а місто Київ - до зони високого ризику. За сучасними уявленнями РС вважають мультифакторіальним захворюванням, у виникненні якого важливу роль відіграє поєднання в часі декількох причин: вірусної інфекції, спадкової (імуногенної) схильності, дисбалансу стероїдних гормонів, аутоімунні порушення, географічного та екологічного чинника. За даними літератури, первинний поштовх у розвитку захворювання відводиться вірусній інфекції, яка, прони-

каючи у ЦНС, спричиняє ненормальну аутоімунну відповідь проти білків мієлінової оболонки. Виникає первинна активація Т-хелперних клітин, серед яких виділяють дві основні субпопуляції: Т-хелперні клітини з CD4-рецепторами і Т-клітини з CD8 - рецепторами (супресорні). Активовані Т-хелперні клітини з маркером молекули CD4 розпізнають аутоантигени ЦНС, викликають експресію інтерлейкіну-2 (ІЛ-2), різних адгезивних молекул, продукцію цитокінів, у першу чергу інтерферону- $\gamma$ . Каскад цих перетворень зумовлює ушкодження гемаєнцефалічного бар'єру (ГЕБ), викликає адгезію молекул до ендотеліальних клітин, переміщення активованих Т-хелперних клітин через ГЕБ у ЦНС та інфільтрацію периваскулярного простору. Т-клітини зумовлюють вивільнення прозапальних цитокінів інтерлейкіну-1 (ІЛ-1), лімфотоксину, інтерферону- $\gamma$ , пухлинного некротичного фактора  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) і поглиблюють порушення проникності ГЕБ. Цитокіни стимулюють В-клітини і всі складові гуморального імунітету, системи комплементу, що посилює продукцію антитіл проти власних антигенів (1).

За даними наукової літератури, найбільш ефективним препаратом, що впливає на ремієлінізацію є "Ребіф" (інтерферон -  $\beta$  1a). Було доведено, що інтерферон- $\beta$ -1a має той самий фармакологічний профіль, що й природний інтерферон- $\beta$ . Хоча не всі фармадинамічні ефекти інтерферону- $\beta$ -1a повністю описані, більшість протиінфекційних/імунomodulatory ефектів цієї молекули викликані пригніченням утворення деяких протеїнів після його зв'язування з рецепторами на поверхні різноманітних клітин. Коли мононукле-

(13) U

(11) 3911

(19) UA

арні клітини периферійної крові стимулювати мітогенами, то суттєво підсилюється секреція ФНП $\alpha$ , ФНП $\beta$ , інтерферону- $\gamma$ , інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-10. Багато з цих цитокінів виявляють в ділянках ураження мозку чи спинномозковій рідині хворих на розсіяний склероз. Механізм дії препарату не повністю зрозумілий, але вважають, що він в основному базується на імунomodulatory ефектах. Коли пацієнтам з розсіяним склерозом вводили інтерферон- $\gamma$ , то частота рецидивів зростає (2), що вказує на важливість пригнічуючого ефекту інтерферону- $\beta$ -1а на активність інтерферону- $\gamma$ . Важливим може бути ефект інтерферону- $\beta$ -1а на інтерлейкін-10 і ФНП $\alpha$ . Як уже згадувалось, ФНП $\alpha$  виявляють в активних ділянках ураження і в спинномозковій рідині хворих з розсіяним склерозом. Відомо, що серед багатьох імунологічних ефектів інтерлейкін-10 знижує продукцію ФНП $\alpha$  і інтерферону- $\gamma$  (3). У пацієнтів, які отримували інтерферон- $\beta$ -1а, помітили суттєве зростання рівня інтерлейкіну-10 у спинномозковій рідині. Таким чином, вважають, що інтерферон- $\beta$ -1 а є регулятором надмірної реакції імунної системи в запальних зонах ураження при розсіяному склерозі, але не викликає загального пригнічення імунної системи (2).

Найближчим аналогом-прототипом способу, що заявляється, є спосіб демієлінізації нервових волокон, який передбачає прискорення відновлення мієлінової оболонки нервових волокон за рахунок проведення сеансів дистантного лазерного опромінення у проекції тимуса та селезінки щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом (ЕАЕ) (4). Однак даному способу притаманні недоліки, які ґрунтуються на сповільненому відновленні мієлінових оболонок і не дають швидкого відновлення патологічних змін нейронів. У зв'язку з цим даний спосіб має незначний ефект у короткий термін після використання лазерного опромінення.

В основу корисної моделі поставлена задача прискорення ремієлінізації нервових волокон центральної нервової системи (ЦНС), шляхом введення препарату "Ребіф" (інтерферону- $\beta$ -1а) щурам, у яких викликали експериментальний алергічний енцефаломієліт (ЕАЕ).

Поставлена задача досягається тим, що у відомому способі ремієлінізації нервових волокон ЦНС, який включає моделювання експериментального алергічного енцефаломієліту у щурів, згідно корисної моделі, після появи клінічних ознак експериментального алергічного енцефаломієліту, через 12-14 діб після його індукції, вводять підшкірно препарат "Ребіф" у дозі 0,55мкг через день протягом 15 діб (сумарна доза отриманого препарату - 4,4мкг на одну тварину).

Спосіб здійснюється наступним чином: щурам, масою 250-300г, індукували експериментальний алергічний енцефаломієліт (ЕАЕ), шляхом вве-

дення гомогенату спинного мозку щурів з ад'ювантом Фрейнда у подушечки задніх кінцівок. Після індукції експериментального алергічного енцефаломієліту через 12-14 діб з'являлись клінічні симптоми експериментального алергічного енцефаломієліту - нижній парапарез, зниження тону хвоста та неконтрольоване сечовиділення. З 14 доби після індукції експериментального алергічного енцефаломієліту, починають вводити препарат "Ребіф" підшкірно у ділянці спини тварини. Розрахунок дози препарату "Ребіф" проводили згідно прийнятих доз у лікуванні розсіяного склерозу (дем'єлінізуючого захворювання) у людини. Для людини, середня вага якої 70кг, необхідне введення єдиної внутрішньом'язової дози 22мкг або 44мкг препарату "Ребіф". Для дослідження цього препарату було використано 3 дози:

1) по 0,55мкг щоденно протягом 4 днів, загальна кількість отриманого препарату кожною твариною - 2,2мкг.

2) по 1,1 щоденно протягом 3 днів, загальна кількість отриманого препарату - 3,3мкг.

3) по 0,55мкг через день протягом 15 днів, загальна кількість отриманого препарату 4,4мкг.

При використанні дози по 0,55мкг через день протягом 15 діб був отриманий позитивний ефект ремієлінізації на мікроскопічному та субмікроскопічному рівнях.

Спосіб ремієлінізації нервових волокон за допомогою препарату "Ребіф" був застосований на 52 щурах однієї статі - самках на кафедрі гістології та ембріології НМУ та були проведені дослідження на мікроскопічному та субмікроскопічному рівнях з метою визначення ремієлінізації.

Даний спосіб прискорення ремієлінізації можна рекомендувати для проведення експериментальних досліджень на моделі експериментального алергічного енцефаломієліта у щурів.

#### Джерела інформації:

1. Віничук С. М., Мяловицька О. А. Розсіяний склероз (клініко-діагностичні та терапевтичні алгоритми). - К., 2001. - 56с.

2. Revel M., Kalinka P. Chapter 29. Glycosylated interferon-beta in multiple sclerosis. In: Abramsky O., Ovadia H. editors. Frontiers in multiple sclerosis: clinical research and therapy. - London: Martin Dunitz Ltd. - 1997. - P.243-254.

3. Arnason BGW., Reder A.T. Interferons and multiple sclerosis. - Clin. Neuropharmacol. - 1994. - V.17, N 12. - P.495-547.

4. Мельник Н. О. Патент №45240А, Україна, МПК А61N 5/06 Спосіб демієлінізації нервових волокон. / Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця. Рішення про видачу патенту України за заявою №2001074662 від 13.02.2002 року. Заявл. 05.07.2001. Опубл. Промислова власність. Офіційний бюлетень. - 2002. - №3. - С.4.30.