



УКРАЇНА

(19) UA (11) 66899 (13) U
(51) МПК (2011.01)
A61K 35/28 (2006.01)
A61P 1/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ЗМЕНШЕННЯ ВИРАЗКОУТВОРЕННЯ ПРИ ПРОЛОНГОВАНОМУ СТРЕСІ

1

2

(21) u201107608

(22) 16.06.2011

(24) 25.01.2012

(46) 25.01.2012, Бюл.№ 2, 2012 р.

(72) ОСТАПЧЕНКО ЛЮДМИЛА ІВАНІВНА, НІКОЛЬСЬКИЙ ІГОР СЕРГІЙОВИЧ, ГАЛИЦЬКА СВІТЛАНА МИКОЛАЇВНА, ЗУБОВ ДМИТРО ОЛЕКСАНДРОВИЧ, НІКОЛЬСЬКА ВАЛЕНТИНА ВАСИЛІВНА, ТАРАНУХА ЛЮБОВ ІВАНІВНА

(73) КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

(57) Спосіб моделювання стресових виразок шлунка, що включає проведення водоімерсійного стресу, який відрізняється тим, що стресовий вплив виконують декілька разів з інтервалом у 1-2 доби, з наступною індукцією стресу через 3-5 діб.

Спосіб належить до медичної біотехнології, імунології та клітинної терапії, і може бути використаний з метою зменшення виразкоутворення при стресі.

При утворенні стресових виразок визначається тісний взаємозв'язок між регуляторними системами організму, що обумовлює пошук шляхів для корекції наслідків стресу, спираючись на необхідність генералізованого впливу. Реалізація цього напрямку стає можливою при використанні методів клітинної терапії. Пластичність мультипотентних стромальних клітин (МСК) викликає зацікавленість у їх терапевтичних можливостях у регенеративній медицині та тканинній інженерії.

Відомий спосіб використання мультипотентних стромальних клітин при лікуванні ран, що довго не загоюються [1]. Проте перед трансплантацією алофібробластів проводяться сеанси аероіонотерапії, а клітини трансплантують на матриксі.

Відомий також спосіб лікування дефектів кісток, при якому використовується тримірний кістковий еквівалент-носії стромальних стовбурових клітин [2].

Проте, обидва вищезгадані способи мають недоліки через необхідність використання відповідних носіїв, що обумовлено специфікою тканин, для лікування яких використовуються мультипотентні стромальні клітини.

Відомий спосіб трансплантації МСК, які експресують високий рівень маркера K-19, для відновлення шлункового епітелію при *Helicobacter*-інфекції у мишей. Однак, в цьому випадку використовуються МСК після трансфекції вектора K19-

зеленого флюоресцюючого протеїну (GFP); клітини вводяться у стінку шлунку, що ускладнює процес лікування [3].

За прототип взято спосіб зменшення виразкоутворення шляхом трансплантації прекультивованих МСК аутологічного кісткового мозку при лікуванні аутоімунних виразок шлунку, що довго не загоюються.

Однак, в цьому випадку використовується модель аутоімунних виразок у щурів, клітини вводять після лапаротомії та гастротомії в стінку шлунку в чотири рівновіддалені точки навколо наявного виразкового дефекту [4]. Недоліком є необхідність хірургічного втручання, що погіршує загальний стан тварини.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб зменшення утворення стресових виразок при пролонгованому стресі, шляхом внутрішньовенного введення МСК попередньо стресованим тваринам, що дозволить зменшити наслідки впливу стресу - суттєво зменшити кількість і площу виразок.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі, який включає застосування мультипотентних стромальних клітин, згідно з корисною моделлю, мультипотентні стромальні клітини вводять попередньо стресованим тваринам внутрішньовенно, за добу до відтворення останнього стресового впливу.

Перевага наведеного способу зменшення виразкоутворення шлунка полягає в тому, що мультипотентні стромальні клітини вводять до впливу, який призводить до утворення виразок шлунка

(19) UA (11) 66899 (13) U

(останнє відтворення стресу), а трансплантацію здійснюють внутрішньовенно.

Приклад

Стрес у піддослідних тварин індукували методом їх іммобілізації у водному середовищі: іммобілізованих тварин витримували 3 години у воді (23 °C), що доходила до рівня мечевидного відростка. Використовували модель пролонгованого стресу (індукцію стресу проводили тричі з інтервалом у добу, потім через 4 доби стрес індукували ще раз). Мультипотентні стромальні клітини, отримані із строми кісткового мозку стегнової кіст-

ки щурів, після експансії та проліферативного відбору *in vitro*, вводили за добу до останнього відтворення стресу у хвостову вену.

Введення МСК при пролонгованому стресі призводило до суттєвого зниження кількості та площі виразок (табл.1, 2).

Для статистичного аналізу використовували критерій Ст'юдента (t) і непараметричний критерій Вілкоксона-Манна-Уїтні (U). В таблицях використовували такі позначки як M - середнє значення, $\pm m$ - середня похибка, n - кількість спостережень, ГК - границі коливань.

Таблиця 1

Площа (мм²) виразкових уражень шлунку щурів при пролонгованому стресі

Статистичні показники	Без введення МСК	З введенням МСК
M	20,45	4,37
$\pm m$	3,92	1,67
n	6	6
ГК	10-32,66	0-11,03
p(t, U)	-	<0,05

Таблиця 2

Кількість виразкових уражень шлунку щурів при пролонгованому стресі

Статистичні показники	Без введення МСК	З введенням МСК
M	25,3	8,0
$\pm m$	5,0	3,0
n	6	6
ГК	15-46	0-19
p(t, U)	-	<0,05

Джерела інформації:

1. Пат. 2192797 Россия, МПК А61В 17/322, А61Н 1/44, А61Р 17/02. способ лечения длительно незаживающих ран / Поято Т.В., Алейник Д.Я., Дмитриев Г.И.; заявитель и патентообладатель Нижегородский государственный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии. - № 2000123123/14; заявл. 05.09.2000; опубл. 20.11.2002.

2. Пат. 15689 Україна, МПК А61F 2/28, С12N 5/00, F61K 35/28, А61Р 19/00. Тримірний кістковий еквівалент-носії стромальних стовбурових клітин для заміщення дефектів кісток / Казаков В.М., Климовицький В.Г., Гринь В.К., Пастернак В.М., Лобанов Г.В., Оксимець В.М., Попандопуло А.Г., Зубов Д.О., Климовицький Ф.В., Тимченко В.М.;

заявник та патентовласник ДонНМУ ім. М.Горького, Інститут невідкладної і відновної терапії імені В.К.Гусака АМНУ. - № u 200600069; заявл. 03.01.06; опубл. 17.07.06, бюл. №7.

3. Okumura T., Wang S.S.W., Takashi S., Tu S.P. et al Identification of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cell subset that can contribute to the gastric epithelium // Laboratory Investigation. - 2009. - V.89. - P. 1410-1422.

4. Прототип - Аскаров М.Б., Шумаков В.И., Онищенко Н.А., Крашенников М.Е. Использование прекультивированных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток аутологичного костного мозга в лечении длительно незаживающих аутоиммунных язв желудка // Хирургия, 2009. - № 2. - С. 23-27.