



УКРАЇНА

(19) UA (11) 74976 (13) C2
(51) МПК
A61K 35/50 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ОПІКІВ НА ОСНОВІ КЛІТИН ХОРІОНУ, СПОСІБ ЙОГО ПРИГОТУВАННЯ І СПОСІБ ЛІКУВАННЯ

1

(21) 20040806939
(22) 19.08.2004
(24) 15.02.2006
(46) 15.02.2006, Бюл. № 2, 2006 р.
(72) Гончарук Олена Іванівна, Петренко Тетяна Пилипівна, Павленко Ольга Володимирівна, Парфьонова Вікторія Володимирівна, Грищенко Валентин Іванович
(73) ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ
(56) UA, A, 54248, 17.02.2003
SU, A1, 1 432 844, 20.01.1996
WO, A, 00/78259, 28.12.2000
US, B1, 6 326 019, 04.12.2001
UA, A, 38604, 15.05.2001

2

(57) 1. Препарат для лікування опіків, який отримують з тканини хоріону, який **відрізняється** тим, що являє собою суспензію клітин хоріону людини з концентрацією клітин 5млн. в 1мл суспензії.
2. Спосіб одержання препарату для лікування опіків, який включає дезагрегацію тканини, фільтрацію одержаної суспензії та її кріоконсервування, який **відрізняється** тим, що тканину хоріону додатково обробляють 0,25% розчином трипсину при температурі 8-10°C.
3. Спосіб лікування опіків шляхом застосування препарату, який отримують з тканини хоріону, який **відрізняється** тим, що як такий препарат застосовують суспензію клітин хоріону людини з концентрацією клітин 5млн. в 1мл суспензії.

Винахід належить до галузі медицини і може бути використаний для лікування опіків різного ступеня складності.

Найбільш близькому поставлено задачу є препарат "Кріохор", що являє собою кріоекстракт хоріону людини [1].

Недоліком цього препарату є те, що він не містить життєздатних клітин і тому не має замісної дії. Це пов'язано з умовами одержання кріоекстракту (дворазове заморожування-відігрів).

В основу винаходу поставлено задачу створити такий препарат для лікування опіків, який би містив життєздатні клітини хоріону і таким чином здійснював замісний ефект.

Ця задача вирішується тим, що препарат, який отримують з тканини хоріону людини, згідно з винаходом, являє собою суспензію клітин хоріону людини з концентрацією клітин 5млн в 1 мл суспензії.

Заявлений препарат "Суспензія клітин хоріону" містить повний комплекс біологічно активних ре-

човин і має повноцінні життєздатні клітини. Методом проточної цитофлюориметрії встановлено, що 4,2% клітин препарату мають імунофенотип стовбурових клітин CD34+CD45. Ця популяція клітин є плюрипотентною і має потенціал диференціювання в спеціалізовані клітини в залежності від умов мікрооточення. Замісний ефект препарату і визначається, в першу чергу, наявністю в ньому даних клітин. Ця популяція клітин повністю зберігається при кріоконсервуванні.

Найбільш близьким способом одержання препарату до заявленого є спосіб одержання препарату "Гемонейронал" [2]. Згідно зі способом тканини ембріона дезагрегують в скляному гомогенізаторі або під впливом вібрації частотою 50-90Гц у розчині Хенкса. Одержану суспензію фільтрують крізь капроновий фільтр і кріоконсервують.

Однак цей спосіб є малоефективним в випадку одержання препарату з тканини хоріону. Це пов'язано з тим, що клітини хоріону, на відміну від емб-

(13) C2

(11) 74976

(19) UA

ріональних клітин, міцніше з'єднані між собою, а даний спосіб не дозволяє порушити всі міжклітинні контакти, які являють собою спеціалізовані структури, що утворюються цитоплазматичними мембранами і компонентами примембранних шарів суміжних клітин [3]. В результаті препарат, одержаний цим способом, містить низьку кількість життєздатних клітин (табл. 1).

Задачею винаходу є створення такого способу одержання препарату "Суспензія клітин хоріону", в якому застосування ферментативної обробки забезпечило би можливість підвищити кількість життєздатних клітин в препараті.

Ця задача вирішується тим, що в способі одержання препарату, який включає дезагрегацію тканини, фільтрацію одержаної суспензії та її кріоконсервування, згідно з винаходом, тканину хоріону додатково обробляють 0,25% розчином трипсину при температурі 8-10°C.

Ферментативна обробка тканини хоріону в умовах гіпотермії дозволяє руйнувати міжклітинні зв'язки і при цьому зберігати високу життєздатність клітин. З таблиці 1 видно, що заявлений спосіб дозволяє одержати в 12 разів більше життєздатних клітин, ніж прототип.

Спосіб здійснюють таким чином.

Тканину хоріону тричі промивають в стерильному фізіологічному розчині з антибіотиками, переносять в стерильний флакон з 0,25% розчином трипсину і витримують протягом 20 годин при 8-10°C. Після цього розчин трипсину видаляють, а тканину приміщують у розчин Хенкса і проводять дезагрегацію на магнітній мішалці без підігріву. Після повної дезагрегації клітини осаджують шляхом низькошвидкісного центрифугування. Супернатант видаляють. Процедуру повторюють двічі. Клітинну суспензію фільтрують через стерильний капроновий фільтр і оцінюють життєздатність клітин. Далі суспензію приміщують в стерильні пластикові ємності по 2мл, кріоконсервують і зберігають в умовах рідкого азоту до одержання

результатів бактеріологічного та вірусологічного контролю.

Найбільш близьким до заявленого способу лікування опіків є спосіб лікування опіків за допомогою препарату "Кріохор", який являє собою кріоекстракт хоріону людини [4].

Однак цей спосіб не є достатньо ефективним, оскільки "Кріохор", не чинить замісної дії. Тому відбувається повільне загоювання рани і досить тяжке протікання опікової хвороби.

Задачею винаходу є створення такого способу лікування опіків, який би за рахунок застосування клітинного препарату, що має замісну дію, забезпечив скорочування строків загоювання ран і зниження тяжкості протікання опікової хвороби.

Ця задача вирішується тим, що в способі лікування опіків шляхом застосування препарату, який отримують з тканини хоріону, як такий препарат застосовують препарат "Суспензія клітин хоріону", що являє собою суспензію клітин хоріону людини з концентрацією клітин 5млн в 1мл суспензії.

Застосування препарату "Суспензія клітин хоріону" для лікування опіків дозволяє скоротити строк загоювання ран на 10-12 днів і знизити тяжкість протікання хвороби.

Ефективність способу лікування за допомогою цього препарату досліджували на лабораторних тваринах. Як об'єкт для дослідження використовували щурів лінії Вістар масою 150-180г, одного віку, які знаходились в однакових умовах утримання. Після моделювання опіку тварини були поділені на 2 групи по 6 тварин у кожній. В першу групу входили тварини без лікування. Тваринам другої групи проводили лікування із застосуванням кріоконсервованого препарату "Суспензія клітин хоріону". Результати наведені в табл. 2 і 3. Дані, наведені в табл. 2, показують, що заявлений спосіб лікування забезпечує прискорення процесу загоювання опікових ран. При цьому тяжкість протікання хвороби слабо виражена, про що свідчить зниження показників лейкоцитів в крові тварин (табл. 3).

Таблиця 1

Показники життєздатності суспензії клітин хоріону, одержаної різними способами

Спосіб одержання суспензії	Кількість життєздатних клітин, %		
	X	Sx	P
За прототипом	5,0	0,2	
Заявлений	64,6	1,3	<0,05

Таблиця 2

Швидкість загоювання опікових ран після лікування заявленим способом

Час після опіку, доба	Площа опікової поверхні, см ²	
	Контроль	Після лікування
3	7,18±0,58	5,87±0,34
10	6,28±0,51	1,2±0,16
20	1,4±0,33	0,18±0,09

P < 0,05 у порівнянні з контролем

Таблица 3

Вміст лейкоцитів в крові тварин після лікування заявленим способом

Час після опіку, доба	Вміст лейкоцитів, 10^9 кл/л	
	Контроль	Після лікування
3	44,68±2,25	21,17±2,33
10	24,3±0,66	16,7±1,23
20	18,23±0,32	15,43±0,42

P < 0,05 у порівнянні з контролем

Джерела інформації:

1. Патент України № 38604 А, А01N1/00, 2001.
2. Патент України № 45693А, А61К 35/48, А61К 35/407, 2002.

3. Конев С.В., Мажуль В.М. Межклеточные контакты // М., Наука и техника 1977, с.312.

4. Патент України № 64540А, А61К 35/48, А61К 35/407, 2004.