



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **54750** (13) **U**
(51) МПК
A61K 35/74 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ГЕМІЧНОЇ ГІПОКСІЇ ПРИ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНІЙ АНЕМІЇ В УМОВАХ НІТРИТНО-НІТРАТНОГО НАВАНТАЖЕННЯ

1

2

(21) u201005093

(22) 27.04.2010

(24) 25.11.2010

(46) 25.11.2010, Бюл.№ 22, 2010 р.

(72) СУПРУН ЕЛІНА ВЛАДИСЛАВІВНА, ІЩЕНКО
ОЛЕКСАНДР МИТРОФАНОВИЧ, СУПРУН ОЛЕК-
СІЙ СЕРГІЙОВИЧ

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-
ВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб профілактики та лікування гемічної гіпоксії при залізодефіцитній анемії в умовах нітритно-нітратного навантаження шляхом використан-
ня комплексної терапії для запобігання метаболіт-
ним порушенням при гіпоксії тканин, який
відрізняється тим, що на фоні застосування пре-
паратів заліза призначають парентерально анта-
гоніст рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1) у дозі
10мг/кг один раз на добу до нормалізації рівня
гемоглобіну.

Корисна модель відноситься до фармації та медицини, а саме до профілактики та лікування гемічної гіпоксії при залізодефіцитній анемії (ЗДА) в умовах нітритно-нітратного навантаження.

Нітрати та нітрити широко використовуються у різних сферах діяльності людини, але внаслідок різних причин (катастрофи, пожежа, аварія хімічна або при транспортуванні, порушення правил зберігання, технології використання чи вимог техніки безпеки) можуть стати причиною розвитку токсичних метгемоглобінемій [1]. При цьому надмірне накопичення в еритроцитах метгемоглобіну супроводжується некомпенсованою активацією вільнорадикального окиснення на фоні виснаження антиокислювачів. Еритроцити мають значну чутливість до дії вільних радикалів, тому розвиток нітритно-нітратної метгемоглобінемії супроводжується еритроцитомембранопатією з гемолізом та формуванням ЗДА [2].

Провідною ланкою токсичності нітриту є його пероксидне окиснення, при якому сам окиснювач відновлюється до нітриту або окиснюється до нітрату. Також в процесі біотрансформації нітратів та нітритів утворюється активний радикал оксид азоту, який у високих концентраціях призводить до цитотоксичних ефектів [3]. При цьому сумарний вплив метгемоглобінемії, цитотоксичних ефектів вільних радикалів, гемолізу еритроцитів призводить до розвитку гіпоксії внутрішніх органів, у тому числі міокарду, з порушенням функцій та можливим формуванням інфаркту, які неможливо нормалізувати лише корекцією гемоглобіну. Методи

профілактики та лікування гемічної гіпоксії при ЗДА з використанням препаратів антиоксидантної та мембранопротекторної дії існують, але необхідна розробка нових способів, які дозволять більш ефективно лікувати порушення функціонального стану внутрішніх органів, зокрема міокарду [4, 5].

Найбільш близьким до запропонованого, прийнятим в якості прототипу, є спосіб профілактики ушкоджень внутрішніх органів при ЗДА, який передбачає призначення кверцетину у пероральній формі 1г 3 рази на добу протягом 3 тижнів, що дозволяє запобігати метаболічним порушенням при гіпоксії тканин [6].

Проте відомий спосіб має недоліки: 1) низька біодоступність пероральної форми кверцетину; 2) тривалість лікування фіксована і не враховує час нормалізації гемоглобіну.

В основу корисної моделі поставлене завдання створення способу профілактики та лікування гемічної гіпоксії при ЗДА в умовах нітритно-нітратного навантаження, який завдяки застосуванню антагоністу рецепторів інтерлейкіну-1 у комплексній терапії дозволяє досягти патогенетичної корекції даного захворювання та забезпечити підвищення ступеня ефективності його профілактики та лікування.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що для профілактики та лікування гемічної гіпоксії при ЗДА в умовах нітритно-нітратного навантаження шляхом використання у комплексній терапії засобу, який запобігає метаболічним порушенням при гіпоксії тканин, спосіб згідно з корис-

(13) **U**
(11) **54750**
(19) **UA**

ною моделлю передбачає, що на фоні застосування препаратів заліза призначають парентерально антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 (АІЛ-1) у дозі 10мг/кг один раз на добу до нормалізації рівня гемоглобіну.

Вибір АІЛ-1 в якості засобу, що попереджає ушкодження міокарду у відповідності з заявленим способом, здійснено авторами з наступних міркувань.

Розвиток при ЗДА в умовах нітритно-нітратного навантаження гіпоксії тканин внутрішніх органів, в тому числі міокарду, супроводжується масивним внутрішньоклітинним надходженням іонів кальцію, стимулює активацію фосфоліпаз і протеїназ та запускає багаторівневий каскад цитокінів. Підвищується продукція прозапального інтерлейкіну-1 (ІЛ-1), який координує співвідношення інших про- та протизапальних медіаторів, індукуює і підтримує запальну реакцію в осередку гіпоксії, підсилює адгезивну і прокоагуляційну активність ендотелію, підвищує судинну проникність, що призводить до прогресування гіпоксії та ішемії. У відповідь на експресію ІЛ-1 продукується його рецепторний антагоніст (АІЛ-1), який конкурентно зв'язується з рецепторами ІЛ-1 мембранного типу, запобігає взаємодії з акцепторним білком та блокує розвиток вищевказаних ефектів [7]. Ступінь загальних ушкоджень внутрішніх органів, у тому числі міокарду, при ЗДА в умовах нітритно-нітратного навантаження залежить від співвідношення рівней ІЛ-1 та АІЛ-1. Розвиток гіпоксії супроводжується перевагою прозапальних цитокінів, тому використання АІЛ-1 має дозволити скорегувати цей дисбаланс та забезпечити захист внутрішніх органів і міокарду.

Здатність АІЛ-1 попереджувати ушкодження внутрішніх органів і, насамперед, міокарду при ЗДА в умовах гіпоксії, спровокованої нітритно-нітратним навантаженням, виявлено авторами вперше експериментальним шляхом на моделі нітритної гемічної гіпоксії у щурів.

Всі ознаки заявленого способу визначені екс-

периментальним шляхом у дослідях на тваринах і транспоновані відомим чином на організм людини.

Корисна модель ілюструється прикладом.

Приклад 1

В якості об'єкта дослідження використано антагоніст рецепторів інтерлейкіна-1 (АІЛ-1), отриманий у Санкт-Петербурзькому НДІ особливо чистих біопрепаратів шляхом генної трансформації бактерій *E.coli*. Гемічну гіпоксію моделювали підшкірним введенням білим нелінійним щурам масою 160-210г розчину нітриту натрію у дозі 50мг/кг одноразово [8]. Досліди виконані на 35 тваринах, поділених на 5 груп. 1 група - інтактні тварини, 2 - контрольна патологія (тварини з нітритною ЗДА, які не отримували лікування). Тваринам 3 і 4 груп вводили АІЛ-1 внутрішньом'язово у дозах 5 і 10мг/кг у лікувально-профілактичному режимі (за 40 хвилин до введення нітриту натрію і через 30 хвилин після цього). Препарат порівняння тіотриазолін вводили тваринам 5 групи у тому ж режимі у терапевтичній дозі 50мг/кг.

Ефективність заявленого способу визначали за функціональним станом міокарду. Функціональний стан міокарду оцінювали за даними показників електрокардіографії (ЕКГ), які фіксували на 90 хвилин після моделювання гемічної гіпоксії у II стандартному відведенні, вираженість метаболічних і дистрофічних змін серцевого м'яза - за показником масового коефіцієнта серця (МКС), активністю ферменту аспартатамінотрансферази (АсАТ) та вмісту глікогену в міокарді. Стан інтенсивності перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантної системи (АОС) серця оцінювали за результатами визначення вмісту в гомогенаті серця ТБК-реагентів (ТБК-р), дієнових кон'югатів (ДК) та рівня відновленого глутатіону (ВГ).

Дані експерименту, що визначають вплив АІЛ-1 на показники функціонального стану міокарду та біохімічні показники гомогенату міокарду в умовах модельної патології, наведені у таблиці 1 і таблиці 2 відповідно.

Таблиця 1

Вплив АІЛ-1 та тіотриазоліну на показники функціонального стану міокарду при нітритній ЗДА у щурів (n=7)

Показники	Умови експерименту				
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	АІЛ-1, 5мг/кг	АІЛ-1, 10мг/кг	Тіотриазолін, 50мг/кг
ЧСС, уд./хв.	356,44±14,56	586,15±44,77*	397,87±27,2*/**	365,90±16,55**	372,27±16,05**
QT, мсек	75,00±4,08	59,29±5,34*	72,143±5,67**	72,857±6,36**	70,0±5,77**
СП	44,48±1,16	57,61±2,46*	47,64±1,62*/**	44,32±2,83**	43,32±2,25**
R, мкВ	585,71±74,8	392,86±93,22*	542,86±73,19**	564,29±62,68**	550,0±76,38**

* - $p \leq 0,05$ відносно групи інтактних щурів;

** - $p \leq 0,05$ відносно щурів групи контрольної патології.

В експерименті введення нітриту натрію призвело до розвитку у тварин групи контрольної патології ЗДА та ушкодження міокарду - відзначено різке підвищення функціональної активності міокарда (розвиток тахікардії - достовірне збільшення

ЧСС), дистрофічні зміни міокарду шлуночків (зниження тривалості шлуночкового комплексу QT, збільшення систолічного показника (СП) і зменшення амплітуди зубця R) (табл.1).

Таблиця 2

Вплив АРІЛ-1 та тіотриазоліну на значення МКС та біохімічні показники в гомогенаті міокарду при нітритній ЗДА у щурів (n=7)

Показники	Умови експерименту				
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	АРІЛ-1, 5мг/кг	АРІЛ-1, 10мг/кг	Тіотриазолін, 50мг/кг
МКС	0,35±0,005	0,38±0,007*	0,35±0,006*/**	0,35±0,003**	0,35±0,005**
АсАТ, ммоль/ч.л	0,34±0,03	0,68±0,07*	0,52±0,05*/**	0,41±0,05**/†	0,51±0,08*/**
ТБК-р, мкмоль/г	40,47±5,77	75,82±5,51*	48,72±7,44**	42,12±8,54**	49,08±9,81**
ДК, мкмоль/г	5,16±1,34	17,27±4,45*	7,18±1,27**	6,14±1,36**	7,14±1,74**
ВГ, мкмоль/г	2,44±0,74	1,14±0,37*	1,84±0,34*/**	2,10±0,39**	1,95±0,29*/**
Глікоген, мг%	446,69±56,64	369,78±45,37*	405,78±20,21	433,24±31,89**	411,17±42,69

*- $p \leq 0,05$ відносно групи інтактних щурів;

** - $p \leq 0,05$ відносно щурів групи контрольної патології;

† - $p \leq 0,05$ відносно щурів групи тіотриазоліну.

Функціональне перенапруження кардіоміоцитів обумовлює підвищення потреби у забезпеченні енергією та поживними речовинами (зниження вмісту глікогену в міокарді щурів групи контролю) (табл.2).

Прояви гіпоксії міокарду у групі контрольної патології в умовах ЗДА при зростанні, сприяють виникненню запальної реакції з розвитком набряку і цитотоксичними змінами кардіальної строми, компенсаторною гіпертрофією кардіоміоцитів (підвищення показника МКС і АсАТ), активацією ПОЛ (підвищення вмісту в гомогенаті серця ТБК-р і ДК) та виснаженням антиоксидантів (зниження рівня ВГ) (табл.2).

В умовах експериментальної нітритної ЗДА на фоні введення досліджуваних препаратів відзначена нормалізація ЧСС, що попереджає функціональне перенапруження кардіоміоцитів, дозволяє стабілізувати процеси енергозабезпечення і рівень глікогену (максимальний ефект відзначено при застосуванні АРІЛ-1 дозі 10мг/кг).

Про стабілізацію електрофізіологічних процесів в серцевому м'язі у тварин, що отримували АРІЛ-1 і тіотриазолін, свідчить нормалізація періоду розповсюдження електричного імпульсу в міокарді шлуночків (збільшення величини інтервалу QT), відновлення показників потенціалу скорочуваності шлуночків (збільшення амплітуди зубця R). В експериментальних групах відзначено зменшення вираженості цитотоксичних змін кардіоміоцитів і запальної набряклості строми міокарду. На фоні введення АРІЛ-1 і тіотриазоліну показники МКС практично зрівнялися з такими у інтактних тварин, достовірно знизився рівень АсАТ. Застосування досліджуваних препаратів загальмувало надмірну активність процесів ВРО та ліпоперекисної деградації, що підтверджується зниженням показників ТБК-р і ДК в гомогенаті серця. Паралельно під дією АРІЛ-1 і тіотриазоліну спостерігалась активація антиоксидантної системи - підвищилися рівні ВГ в гомогенаті серця.

Результати експерименту підтверджують, що АРІЛ-1 забезпечує антигіпоксичний захист міокарду в умовах експериментальної нітритної ЗДА.

Доведено відновлення функціональної активності кардіоміоцитів, зниження виразності цитотоксичних і запальних процесів, оптимізацію енергозабезпечення, нормалізацію антиоксидантної системи та ПОЛ при введенні АРІЛ-1 в дозах 5 та 10мг/кг. При застосуванні АРІЛ-1 для захисту міокарду та профілактики його ушкодження в умовах експериментальної нітритної ЗДА в дозі 10мг/кг відзначено максимальний ефект, який перевищує активність препарату порівняння тіотриазоліну. Таким чином, АРІЛ-1 може бути рекомендований для застосування в якості ефективного засобу профілактики ушкодження міокарду при ЗДА в умовах нітритно-нітратного навантаження.

Ефективність заявленого способу було підтверджено у дослідках на тваринах. Визначено оптимальні дози АРІЛ-1 для людини.

Заявлений спосіб є простим, безпечним, економичним і може бути рекомендований при необхідності профілактики та лікування гемічної гіпоксії при залізодефіцитній анемії в умовах нітритно-нітратного навантаження.

Джерела інформації:

1. Храпак В.В., Омеляненко З.П., Сопіна І.Л. та ін.. Мембрано-токсичні властивості метгемоглобінотворюючих отрут // Соврем, проблемы токсикологии. - 2003. - №4. - С.28-34.

2. Булаева Н.И. Биохимические и структурно-функциональные изменения эритроцитов при острым отравлении нитритами и их коррекция перфтораном / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - М., 2005. - 36с.

3. Проданчук Г.Н., Балан Г.М. Токсические метгемоглобинемии: механизмы формирования и пути оптимизации // Соврем, проблемы токсикологии. - 2007. - №1. - С.37-45..

4. Dunn Robert J. Massive sulfasalazine and paracetamol ingestion causing acidosis, hyperglycemia, coagulopathy and methemoglobinemia //J. Toxicol. Clin. Toxicol. - 1998. - V.36, №3. - P.239-242.

5. Проданчук Г.Н., Балан Г.М. Токсические метгемоглобинемии: механизмы формирования и пути оптимизации // Соврем, проблемы токсиколо-

гии. - 2007. - №1. - С.37-45.

6. Видиборець С.В. Дослідження ефективності кверцетину у комплексному лікуванні хворих із залізодефіцитною анемією // Ліки. - 1999. - №3-4. - С.132-136.

7. Симбирцев А.С. Цитокины: Классификация

и биологические функции // Цитокины и воспаление. - 2004. - Т.3, №2. - С.16-22.

8. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації // За ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Авіценна, 2001. - 528с.