



УКРАЇНА

(19) UA (11) 62851 (13) A

(51) 7 A61M1/00, A61M1/38, A61M5/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ЦИРОЗІВ, ГЕПАТОРЕНАЛЬНОГО СИНДРОМУ ТА ПІДТРИМАННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ХВОРОГО ТРИВАЛИЙ ПЕРІОД НА ЕТАПАХ ПІДГОТОВКИ ДО ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ПЕЧІНКИ

1

(21) 2003087869

(22) 20 08 2003

(24) 15 12 2003

(46) 15 12 2003, Бюл. № 12, 2003 р

(72) Чорномиз В'талій Дмитрович

(73) Чорномиз В'талій Дмитрович

(57) 1 Спосіб лікування цирозів, гепаторенального синдрому та підтримання функціонального стану хворого тривалий період на етапах підготовки до трансплантації печінки, який включає виконання лапароцентезу, імплантування перитоніального катетера Тенкофа, ексфузію асцитів, виділення концентрованого асцитів та ультрафільтрату шляхом ультрафільтрації, який відрізняється тим, що ультрафільтрат піддають сорбційному очищенню, наприклад через сорбційну колонку, а концентрат збирають в резервуар для збору асцитів та при необхідності криопреципітують, причому проводять часткову реінфузію очищеного асцитів внутрішньовенно, при цьому проводять двокаскадну плазмоімуносорбцію з претрифузією очищеного асцитів

2

2 Спосіб по п. 1, який відрізняється тим, що двокаскадна плазмоімуносорбція включає, наприклад, виділення з крові плазми і осадку, очищення осадку через сорбційну колонку та направлення на повторне очищення через другу сорбційну колонку очищеного осадку, плазми та альбуміну, що вводиться, наприклад, із стерильних флаконів, з наступною ультрафільтрацією через ультрафільтр

3 Спосіб по п. 2, який відрізняється тим, що після ультрафільтрації очищена плазма, концентрований асцит вводять разом з підсадкою ізольованих ембріональних гепатоцитів внутрішньовенно

4 Спосіб по п. 1, який відрізняється тим, що претрифузія здійснюється після попереднього лазерного впливу та оксигенації асцитів

5 Спосіб по п. 4, який відрізняється тим, що як лазерний пристрій використовують, наприклад, лазерний пристрій "Шатл"

6 Спосіб по п. 4, який відрізняється тим, що як синглетно-оксигенальний апарат використовують, наприклад, синглетно-оксигенальний апарат "Мит-11"

Винахід відноситься до способів лікування цирозів, гепатоцелюлярної недостатності і може бути використаний в інтенсивній терапії, токсикології, хірургії, а також може бути використано на етапах підготовки до трансплантації печінки

Розвиток методів екстракорпоральної детоксикації із застосуванням нового покоління делігандезуючих сорбентів в Україні дав новий поштовх до удосконалення методик по створенню моделей «штучної печінки», що раніше застосовувалися в «Клініці еферентної терапії» Теоретичне обґрунтування основних механізмів заміщення функцій печінки та їх практичне втілення при складних гепатитах та цирозах було опубліковано раніше [1, 2, 3]

Дослідження показали, що сорбційні методи заміщують лише детоксикаційну функцію печінки, не змінюючи та не покращуючи при цьому білково-синтетичну, видільну, обмінну, метаболічну та ін

функції Під час проведення сорбційної терапії були отримані позитивні результати у лікуванні гепатитів, інтоксикацій та ін., але відсоток покращення функціонального стану печінки при декомпенсованих цирозах та гепаторенальному синдромі виявився дуже низьким

Способи покращення ефективності лікування за рахунок об'єднання сорбційних методів та гемодіалізу у хворих у стані печінкової коми, склали низький відсоток виживання, що не перевищує 30%

Застосування біологічної «допоміжної печінки», при лікуванні печінкової недостатності за рахунок перфузії крові через свині гепатоцити, дали незначний клінічний ефект та викликали ряд імунологічних зсувів

Застосування ізольованих гепатоцитів шляхом введення їх у порталну систему, печінку, в підшкірну клітковину, селезінку [4, 5, 6] показало ефе-

(13) A

(11) 62851

(19) UA

ктивність цих методів, при яких збільшилась якість життя та зменшилась летальність. Однак при внутрішньовенному введенні були відмічені алергічні реакції. Внутрішньопортальне введення ксеногепатоцитів тварин з гострою печінковою недостатністю показало, що якщо вводити гепатоцити під певним тиском, із певною швидкістю, то вони фіксуються в печінці [7].

Лікування хворих із печінковою недостатністю при допомозі біогемоперфузії із застосуванням гепатоцитів свині дало можливість досягти певного лікувального ефекту, що проявилось у проясненні свідомості та покращенні біохімічних показників у пацієнтів. Однак ефект від лікування зберігався на протязі перших 2-х діб. Використання клітин у поєднанні з плазмафорезом дало можливість досягти стійкішого відновлюючого процесу.

Kodama та ін. [8] розробили систему, що використовує первинну культуру свинних гепатоцитів, як було описано у дослідженнях компанії «Excorp Medical» [9]. У своїх дослідженнях вони використовували полісульфонові мембрани, через які здійснювався контакт у біореакторі гепатоцитів із плазмою. Система була достатньо ефективною під час випробування її на моделі ішемічної печінкової недостатності у свиней.

Miyoshi й Ohshima та ін. [10] використовували у своїй праці культуру гепатоцитів, прикріплених до матриксу з полівинілформальдегідної смоли. Матеріал з прикріпленими до нього первинними гепатоцитами пацюків містився в спеціальній колонці. Дослідження показали тривале зберігання метаболічних функцій гепатоцитів.

Перше покоління систем біоштучної підтримки печінки (BLAD), визнане в клінічних умовах, було засноване на використанні картриджів із полими волокнами, що містять у собі культуру гепатоцитів в екстракюмінальному просторі. Компанія «Circe-Biomedical» використовувала в своїх апаратах «Hepat Assist» [11] криоконсервовані первинні свинні гепатоцити, прикріплені до вкритих колагеном декстранових частин. Перша та друга фази клінічних досліджень цього апарату були проведені Demetriou у медичному центрі Лос-Анджелеса, Bismuth - у госпіталі Paul Brousse (Париж).

Фірма «Vitagen» використовувала клітини C3A (похідні лінії гепатобластоми людини HepG2), котрі прикріплювались та росли в екстракюлярному просторі в пристроях ELAD (Extracorporeal Liver Assist Device). Ці клітини проявляли високу біохімічну активність, здатність синтезувати альбумін та здійснювати цитохром-р-450-залежний метаболізм. Послідовно були здійснені розширені клінічні дослідження, під час яких пацієнти були розділені на 2 групи: ті, що потребували і ті, що не потребували трансплантації печінки.

Інша корпорація «Excorp Medical» [12] також використовує у своїх приладах BLSS (Bioartificial Liver Support System) первинну культуру високої густини свинних гепатоцитів. На даний час система «Hepat Assist» проходить 2-3 фази клінічних досліджень.

У переважній більшості пристроїв та підходів використовуються первинні свинні гепатоцити. Цей вибір зумовлено неповною схожістю гепатоцитів

людини та свиней, а також доступністю свинних гепатоцитів. Не зважаючи на це, використання свинних гепатоцитів супроводжується й певним ризиком.

1 Згідно до вимог американської Адміністрації продовольчих та лікарських засобів (FDA), при використанні свинних гепатоцитів повинні використовуватися певні породи свиней, що утримуються в належних умовах. Це пов'язано, перш за все, з проблемою потенційного розвитку імунної відповіді у пацієнтів після перфузії їх, крові через ксеногепатоцити.

2 Важливим також є питання захисту свинних гепатоцитів від дії потенційно активних факторів імунного захисту пацієнтів у період перфузії.

3 Інша проблема використання ксеногепатоцитів пов'язана з можливістю активного інфікування культури клітин людини свинним ендемічним ретровірусом (PERV).

Найбільш близьким до даного винаходу є пристрій "штучна печінка" [13], функція якого полягає у виконанні лапароцентезу, імплантування перитоніального катетера Тенкофа, ексфузію асцити, виділення концентрованого асцити та ультрафільтрату, шляхом ультрафільтрації.

До недоліків даного винаходу слід віднести те, що використання "штучної печінки" забезпечує лише ефективну сорбційну чистку та виведення токсичних речовин, насамперед білок — зв'язаний токсин, але не дає можливість застосувати її у термінальних стадіях печінкової недостатності, в терапії цирозів та гепаторенального синдрому.

В основу винаходу поставлено створити спосіб лікування цирозів, гепаторенального синдрому, який дозволив би не тільки ефективно видаляти білковозв'язані метаболіти і токсини, а й уключав наступні процедури:

- білково-синтетичну,
- видільну,
- замісну.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб передбачає виконання лапароцентезу, імплантування перитоніального катетера Тенкофа, ексфузію асцити, виділення концентрованого асцити та ультрафільтрату, шляхом ультрафільтрації, згідно до винаходу ультрафільтрат піддають сорбційному очищенню, наприклад, через сорбційну колонку, а концентрат збирають в резервуар для збору асцити та при необхідності криопреципітують.

(Криопреципітація - метод відомий у літературі, використовується для осідання фібриногену, лейкоцитів та інш.) Ультрафільтрат збирають у посуду для ультрафільтрату.

Частково реінфузують очищений асцит внутрішньовенно, при цьому проводять двокаскадну плазмоімуносорбцію з предилуючою очищеного асцити.

Двокаскадна плазмоімуносорбція включає, наприклад, виділення з крові плазми і осадку, очищення осадку через сорбційну колонку та направлення на повторне очищення через другу сорбційну колонку очищеного осадку, плазми та альбуміну, що вводиться, наприклад, із стерильних флаконів, з наступною ультрафільтрацією через ультрафільтр.

При ультрафільтрації виділяється асцит (неконцентрований і концентрований). Очищена плазма, концентрований асцит вводять разом з підсадкою ізольованих ембріональних гепатоцитів в/в.

Необхідно відмітити, що предиліюція здійснюється після попереднього лазерного впливу та оксигенації асциту.

Якщо розглядати окремо призначення нижче перерахованих процедур, то в них передбачаються наступні лікувальні ефекти: детоксикаційний, білково-синтетичний, видільний, антиоксидантний, метаболічний, що тим самим дає змогу використати їх в термінальних стадіях печінкової недостатності в терапії цирозів та гепаторенального синдрому.

Механізми дії неперервної криоплазмасорбції, оксигенотерапії (озонотерапії), ультрафільтрації, асцитосорбції з реінфузією очищеного асциту внутрішньовенно, лазерного впливу, регіональної діалізи, рідкого суперочищеного альбуміну з метою підвищення біосумісності відомі та описані в літературі [14,15,16].

Приведена раніш сукупність суттєвих ознак пристрою є новою і відрізняється від уже відомих технічних рішень більшою ефективністю при лікуванні раніш зазначених хвороб, крім того, заявлена сукупність суттєвих ознак є вичерпною. За відсутності однієї з них технічний результат не може бути досягнутий.

Приведемо опис способу, який, однак не повинен розглядатись як такий, що обмежує винахід.

Перед процедурою хворому лабораторне проводять біохімічний моніторинг та визначають стан хворого по інструментально-діагностичним даним.

Процедура проводиться в умовах палати інтенсивної терапії, операційній, відділеннях еферентної терапії по загальноприйнятій методиці.

Спочатку проводять лапароцентез, та імплантують катетер Тенкгофа в черевну порожнину, а далі:

1 Проводять первинний забір білка (альбуміну та його фракцій), плазми та асцитичної рідини.

2 Видаляють асцитичну рідину із черевної порожнини до ультрафільтра, наприклад, перекачувальним засобом, де вона ультрафільтрується.

3 Збирають концентрований асцит у резервуар, для збору асциту та при необхідності піддають криопреципітації. Ультрафільтрат збирають у посуд для ультрафільтрату.

4 Очищують ультрафільтрат на делігандезуючих сорбентах, наприклад, у сорбційній колонці.

Завдяки використанню яких більш ефективноше видаляються токсичні речовини, так як очищують асцит доводять його до властивостей рідкого сорбенту, тобто альбуміну, а завдяки біологічній мембрані, тобто черевині транспортується білок-зв'язані речовини згідно їх, молекулярної маси. Причому кліренс речовин, які є причиною печінкової енцефалопатії проходить за рахунок біологічної мембрани і за рахунок ультрафільтрації.

5 Проводять повторний забір білка в плазмі та асцитичній рідині, після чого проводять часткову реінфузію очищеного асциту в/в, що дозволяє під-

тримувати гемодинаміку судин, так як додаткове видалення вазоконструкторів, може визвати незначні гемодинамічні зміни.

Проведення багаторазового альбумінізованого перитоніального діалізу не змінює концентрацію білка в асцитичній рідині, а відповідно і в кров'яному руслі, що вкрай не бажано робити при декомпенсованих циррозах.

6 Підключають в/в систему з двох контурів з двокаскадною плазмоімуносорбцією, наприклад, через внутрішньовенну голку (непоказана).

Замітимо, що в спосіб використовується відомі засоби (елементи), і описаний таким чином, що для спеціаліста в даній сфері не потребує більш детального опису, наприклад, приведення креслення.

Контур складений таким чином, що з крові виділяється плазма, наприклад, гемосорбційним засобом, яка разом з альбуміном із резервуара та очищеним осадком через колонку з сорбентами направляється у другу колонку та повторно очищується і перекачується насосом до ультрафільтру. З ультрафільтра концентрований асцит перекачувальним засобом разом з підсадкою ембріональних гепатоцитів вводиться в/в.

Разом з зазначеними процедурами роблять предиліюцію очищеного асциту, підключаючи до забірної засоби контур в якому очищується концентрований асцит, що зберігається в резервуарі та з якого асцит перекачувальним засобом направляється до пристрою з лазерним впливом, наприклад, "Шатл" та оксигенується в апараті "МИТ-11" чи іншому. Як зазначалось лазерний вплив та оксигенація відомі з [14-16].

Відмітимо, що регіональна предиліюція допомагає роз'єднувати білок-зв'язані токсини, а використання двокаскадної плазмоімуносорбції дозволяє нам адсорбувати білок-зв'язані печінкові токсини, циркулюючі імунотоксини, каприлак, компоненти жовчі.

Що стосується введення ембріональних гепатоцитів, для лікування печінкової недостатності та гепаторенального синдрому, то відмічено позитивну суб'єктивну динаміку, покращення функціонального стану печінки, що проявляються результатами біохімічних, морфологічних (результати біопсії) досліджень.

Тому можна сказати, заявлений спосіб з приведеними процедурами дозволяє нам використовувати його в клінічній практиці та є єдиним, що може застосовуватись в термінальних стадіях печінкової недостатності. Не виключена можливість застосування даної технології, в терапії цирозів та гепаторенального синдрому.

Конкретний приклад застосування

1 Хвора А, 45 років

Діагноз Цироз печінки ускладнений резистентним до медикаментів асцитом, в стадії субкомпенсації підтвердженою анамнестичними, клінічними лабораторними та інструментальними даними.

Проведені процедури раніш описані. Отримана стабілізація асциту на протязі 3 місяців, покращилась функція печінки.

Список литературы

- 1 Chomomyz V D, Samatskaya V V, Sakhno L A. Cirrhosis adsorptive purification and reinfusion of ascitic fluid // European Congress of IHPBA — Budapest, — 1999 — P. 179-183
- 2 Гальперин З И, Семендяева М И, Неклюдова Е А. Недостаточность печени - М. Медицина, — 1978 — 328 с
- 3 Лопаткин Н А, Лопухин Ю М. Эфферентные методы в медицине — Медицина, — 1989 — 132-144 с
- 4 Лопухин Ю М, Молоденков М Н. Гемосорбция - М. Медицина, 1978 — 218 с
- 5 Keynes W M. Hemodialysis in the treatment of liver failure — Lancet 1968, 2 1236-1238
- 6 Маргулис М С, Ерухимов Е А, Андрейман Л А и др. Способ лечения печеночной недостаточности - Ав. свидетельство № 1113131 - 1984
- 7 Бруслик В Г, Логинов А С, Сперанский М Д, Васина Н В. Способы применения изолированных гепатоцитов для лечения острой печеночной недостаточности // Вести РАМН — 1994 — № 5 — С. 8-14
- 8 O'Grady J G, Gimson A E, O'Brien C J et al. Controlled trials of charcoal hemoperfusion and prognostic factors in fulminant hepatic failure. Gastroenterology 1988, 94 1186-11-92
- 9 Sussman N L, Kelly J H. Extracorporeal liver support cell-based therapy for the failing liver. Am J Kidney Diseases 1997, 30 (Suppl. 4) 66-71
- 10 Miyoshi H, Oookawa K, Ohshima N. Hepatocyte culture utilizing porous polyvinyl formal resin-maintains long-term stable albumin secretion activity. J Biomaterials Sci Polymer Edition 1998, 9 227-237
- 11 Gerlach J, Stall P, Schnoy N, Bucher E S B. Membranes as substrates for hepatocyte adhesion in liver support bioreactors. Int J Artif Organs 1990, 13, 7 788-93
- 12 Sussman N L, Kelly J H. Extracorporeal liver support cell-based therapy for the failing liver. Am J Kidney Diseases 1997, 30 (Suppl. 4) 66-71
- 13 Патент на корисну модель UA 1563 від 16.12.2002 р.
- 14 Чорномыз В Д. "Эфферентная терапия при воспалительных и гнойно-некротических заболеваний гепатобиллиарной зоны". Методические рекомендации, — Киев, — 1998 г.
- 15 Чорномыз В Д, Сарнацкая В В и др. «Использование системы искусственной печени в лечении пациентов с острой и хронической печеночной недостаточностью». Европейская медико-биологическая конференция — Вена, — 1999 г.
- 16 Николаев В Г, Чорномыз В Д и др. «Искусственная печень: система для регепатоцитарного удаления гидрофобных компонентов желчи и их предшественников. Сорбционные электрохим. Игравитац. Методы в соврем. Медицине» 3 Всероссийская конференция. Москва, — 1999 г. — с. 85-87