



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **75060**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 33/48** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2012 03374**

(22) Дата подання заявки: **21.03.2012**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **26.11.2012**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **26.11.2012, Бюл.№ 22**

(72) Винахідник(и):

**Цимбалюк Віталій Іванович (UA),  
Маркова Ольга Володимирівна (UA),  
Пічкур Олександр Леонідович (UA),  
Вербовська Світлана Анатоліївна (UA),  
Пічкур Леонід Дмитрович (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ  
НЕЙРОХІРУРГІЇ ІМ. АКАД. А.П.  
РОМОДАНОВА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ  
МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ",  
вул. Платона Майбороди, 32, м. Київ, 04050  
(UA)**

## (54) СПОСІБ ГАЛЬМУВАННЯ ЗРОСТАННЯ ТЯЖКОСТІ КЛІНІЧНИХ ПРОЯВІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТУ

(57) Реферат:

Спосіб гальмування зростання тяжкості клінічних проявів експериментального алергічного енцефаломієліту належить до медицини, а саме до нейрохірургії, і може бути використаний для відновного лікування експериментального алергічного енцефаломієліту.

**UA 75060 U**



Корисна модель належить до медицини, а саме до нейрохірургії, і може бути використана для відновного лікування експериментального алергічного енцефаломієліту.

Лікування запально-дегенеративних захворювань людини є актуальною задачею. Експериментальний алергічний енцефаломієліт (ЕАЕ) тварин - традиційна експериментальна модель, що використовується при апробації нових методів лікування демієлінізуючих захворювань. ЕАЕ розглядається як аутоімунне опосередковане антигенспецифічними Т-лімфоцитами ураження тканини центральної нервової системи (ЦНС) з вираженою демієлінізацією аксонів [1].

ЕАЕ після індукції його у здорових тварин розвивається згідно з загально визнаною схемою: спочатку етап відсутності клінічних проявів енцефаломієліту (7 діб), потім починається поступовий розвиток клінічних проявів (атонія хвоста у щурів, парези кінцівок), потім (на 18-21 добу після індукції ЕАЕ) розгортається пік клінічних проявів ЕАЕ (парези та паралічі задніх кінцівок, паралічі сфінктерів та ін.). В подальшому стан тварин покращується і поступово тварини або одужують, або (частіше) хвороба переходить у ремітуючу форму з періодичними неважкими, але помітними періодами погіршення стану.

Існують різні способи впливу на хворих тварин у період, що передує піку клінічних проявів захворювання (тобто у період зростання тяжкості клінічних проявів). Серед таких методів можна, наприклад, згадати субокипітальне введення екстракту ембріонального мозку - препарату "Трофін" - на 14-16-ту добу після індукції ЕАЕ. Такий вплив супроводжується не тільки гальмуванням клінічних проявів ЕАЕ, але і зменшенням ступеня тяжкості ЕАЕ взагалі (середній ступінь тяжкості на максимумі клінічних проявів після лікування "Трофіном" складав 2,7+0,2 бали, а у групі порівняння - 3,8+0,19 балів) [2].

Цей підхід є ефективним з точки зору впливу на перебіг ЕАЕ і дозволяє гальмувати збільшення тяжкості клінічних проявів ЕАЕ. До недоліків способу слід віднести необхідність проведення наркотизації тварини і субокипітальних ін'єкцій препарату, що вимагають високої кваліфікації лікаря нейрохірургічного профілю. Крім того, препарат "Трофін" необхідно отримувати з фетального головного мозку, стандартизувати його активність [3], що значно звужує можливості використання цього способу в експериментальній медицині.

Найбільш близьким до запропонованого методу є метод системного введення суспензії клітин фетальної печінки щурам з ЕАЕ на 12-16 добу після індукції експериментальної демієлінізації. Цю маніпуляцію проводять 3-разово з інтервалом 2 доби між маніпуляціями [4]. Цей спосіб дозволяє гальмувати зростання тяжкості клінічних проявів ЕАЕ, зменшувати тяжкість перебігу цього етапу ЕАЕ, але такий вплив є короткотривалий (кілька діб), а потім тяжкість ЕАЕ наростає знову. Частково таку динаміку перебігу ЕАЕ після системного введення суспензії клітин фетальної аlogenної печінки можна пояснити тим, що клітини печінки вводять внутрішньоочеревно і тільки частина з них досягає судинного русла і циркулює там, знаходячи свої ніші, і повністю може впливати на патогенез ЕАЕ.

Задачею запропонованої корисної моделі є удосконалення способу гальмування тяжкості клінічних проявів ЕАЕ з використанням суспензії клітин фетальної печінки за рахунок оптимізації шляхів введення клітин, щоб забезпечити для гемопоетичних клітин можливість циркулювати у судинному руслі, досягати своїх ніш і впливати на розвиток агресивного аутоімунітету, супресуючи його, і у кінцевому результаті у реципієнта клітин знизити прояви агресивного аутоімунітету, зменшити демієлінізацію аксонів і моторний дефіцит.

Поставлена задача вирішується тим, що проводять забір фетальних клітин печінки самиці щура другої половини вагітності, а саме проводять видалення плодів з заплідненої матки, звільняють плід від навколоплідних оболонок, вилучають тканину печінки, подрібнюють та отримують суспензію клітин за допомогою механічної дезагрегації та отриману суспензію клітин фетальної аlogenної печінки вводять щурам із експериментальним алергічним енцефаломієлітом у бокову вену хвоста.

Спосіб виконується наступним чином.

Проводять забір фетальних клітин печінки самиці щура другої половини вагітності шляхом видалення плодів з заплідненої матки. Після цього плід звільняють від навколоплідних оболонок, вилучають тканину печінки, подрібнюють та отримують суспензію клітин за допомогою механічної дезагрегації. У тканині печінки другої половини вагітності присутні гемопоетичні стовбурові клітини, які можуть сприяти після трансплантації імуносупресії [5]. Крім того, вони самі можуть інтегруватися в ЦНС реципієнта, здійснювати замісний ефект, забезпечуючи умови для ремієлінізації шляхом трансдиференціювання [4].

Приклади.

Білим безпородним щурам розводки віварію ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова" НАМН України у подушечки задніх лап вводили енцефалітогенну емульсію [2].

Через 7 діб з цих тварин формували 2 групи (основну і групу порівняння). Щурам основної групи (група № 1) внутрішньосудинно трансплантували суспензію фетальних клітин печінки (16 доба гестації). Клітини вводили у бокову вену хвоста. При цьому використовували шприці з найтонкішою голкою (шприці для введення інсуліну). Корінь хвоста здавлюють для сповільнення відтоку крові хвостових вен, під гострим кутом паралельно осі хвоста вводять голку у вену та ін'єкціюють суспензію клітин у кровотік тварини. Об'єм введеної суспензії складав 0,5 мл (концентрація клітин 40 млн. клітин/мл) [6]. Щурам групи порівняння (група № 2) ін'єкціювали 0,5 мл поживного середовища. Після цього кожні 2 доби встановлювали ступінь тяжкості ЕАЕ у балах згідно зі шкалою [2], а на 35-ту та 60-ту добу проводили вимірювання вмісту імуноглобуліну І та циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватках крові тварин групи 1 та групи 2 [7, 8].

Таким чином, внутрішньосудинне ін'єкційне введення суспензії клітин фетальної аlogenної печінки щурам з ЕАЕ на 7-му добу після індукції ЕАЕ супроводжується гальмуванням тяжкості клінічних проявів ЕАЕ.

В порівнянні із прототипом, запропонований спосіб має ряд переваг:  
збільшення тривалості терапевтичного ефекту від введення суспензії клітин;  
збільшення ефективності застосування суспензії клітин фетальної аlogenної печінки для гальмування зростання тяжкості клінічних проявів ЕАЕ;  
більш виражений терапевтичний ефект.

Джерела інформації:

1. Патофізіологія: підручник / М.Н. Зайко, Ю.В. Биць, Г.М. Бутенко та ін.; за ред. М.Н. Зайка та Ю.В. Биць. - 2-ге вид., перероб. і доп. - К.: Медицина, 2008. - 704 с.

2. Цимбалюк В.І., Лісяний М.І., Маркова О.В., Пічкур Л.Д., Любич Л.Д., Вербовська С.А., Касяненко Ю.А., Вотякова І.А., Васильовська С.В. Результати хірургічного лікування експериментального алергічного енцефаломієліту // Трансплантологія. - 2003. - Том 4. - № 1. - С. 115-117.

3. Цимбалюк В.І., Васильєва І.Г. Спосіб отримання лікарського препарату "Трофін" / Патент на винахід 34141, Україна, А61К 35/28. Заявл. 08.06.1999. Опубл. 15.02.2001. Бюл. №1.

4. Лісяний Н.І., Маркова О.В., Вельская Л.Н. Применение нейральных стволовых клеток для лечения демиелинизирующих заболеваний. В кн.: Нейрогенная дифференцировка стволовых клеток. - К., - 2005. - 368 с. [с. 238].

5. Маркова О.В. Применение гемопоэтических стволовых клеток в лечении очаговых поражений ЦНС // Матеріали IV з'їзду нейрохірургів України (м. Дніпропетровськ, 27-30 травня 2008 року). Дніпропетровськ. - 2008. - С. 210.

6. В.К. Позур. Імуногенетика. Практикум. // Київ. - 2000. - С. 49-56.

7. Вершигора А.Е. Основы иммунологии. - К.: Вища школа. - 1990. - 503 с.

8. Цимбалюк В.І., Маркова О.В., Пічкур Л.Д., Заяць Т.А. Вплив хірургічного лікування щурів з експериментальним демієлінізуючим захворюванням на вміст сироваткових циркулюючих імунних комплексів // Імунологія та алергологія. - 2004. - №1. - С. 64.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб гальмування зростання тяжкості клінічних проявів експериментального алергічного енцефаломієліту, що включає лікування алергічного енцефаломієліту у експерименті, який **відрізняється** тим, що проводять забір фетальних клітин печінки самиці щура другої половини вагітності, а саме проводять видалення плодів з заплідненої матки, звільняють плід від навколоплідних оболонок, вилучають тканину печінки, подрібнюють та отримують суспензію клітин за допомогою механічної дезагрегації та отриману суспензію клітин фетальної аlogenної печінки вводять щурам із експериментальним алергічним енцефаломієлітом у бокову вену хвоста.

---

Комп'ютерна верстка Д. Шевеун

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601