



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **119010** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
A61K 31/00
G09B 23/28 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2017 01693	(72) Винахідник(и): Некрут Дар'я Олександрівна (UA), Заїчко Наталя Валентинівна (UA), Штатько Олена Іванівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 22.02.2017	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 11.09.2017	(73) Власник(и): Некрут Дар'я Олександрівна, вул. Андрія Первозванного, 6, кв. 132, м. Вінниця, 21027 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.09.2017, Бюл.№ 17	

(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ НЕАЛКОГОЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ, АСОЦІЙОВАНОЇ З ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЄЮ

(57) Реферат:

Спосіб корекції неалкогольної жирової хвороби печінки, асоційованої з гіпергомоцистеїнемією, в експерименті у щурів шляхом інтрагастрального введення фармакологічного засобу. Тваринам вводять препарат омега-3 поліненасичених жирних кислот Епадол-Нео у дозі 150 мг/кг маси тіла 1 раз на добу інтрагастрально протягом 28 діб.

UA 119010 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до медичної біохімії та фармакології та призначена для корекції процесів стеатогенезу та фіброгенезу за умов НАЖХП, асоційованої з ГГЦ, за допомогою препарату омега-3 поліненасичених жирних кислот "Епадол-Нео".

Результати досліджень останніх років показали, що в НАЖХП часто супроводжується підвищенням рівня сірковмісного метаболіту гомоцистеїну, що може прискорювати трансформацію простого стеатозу у стеатогепатит [див. Пентюк Н.О. Вплив гіпергомоцистеїнемії на формування СС14-індукованого фіброзу печінки у щурів / Н.О. Пентюк // Сучасна гастроентерологія. - 2009. - № 5 (49). - С. 33-37]. Одним із шляхів негативного впливу ГГЦ на стан печінки може бути пригнічення ендогенної продукції біорегуляторів та цитопротекторів - гідроген сульфиду (H_2S) та інсуліноподібного фактора росту-1 (IGF-1). Таким чином, актуальним залишається пошук препаратів, які поряд із антистеатогенною дією виявляли б здатність коригувати рівень гомоцистеїну, H_2S та IGF-1.

Спосіб корекції процесів стеатогенезу за умов експериментальної НАЖХП є відомим [див. Ding W. J. Regulation of adipokines by polyunsaturated fatty acids in a rat model of non-alcoholic steatohepatitis / Ding W. J., Wang Y., Fan J. G. // Arch Iran Med. - 2014. - Vol. 17, № 8. - P. 563-568]. Спосіб включає введення щурам препарату омега-3 поліненасичених жирних кислот інтрагастрально протягом 12 тижнів. Недоліком вказаного способу є те, що він не призначений для корекції НАЖХП, асоційованої з гіпергомоцистеїнемією.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити такий спосіб корекції НАЖХП, який поряд із антистеатогенним ефектом усував би гепатотоксичну дію ГГЦ та нормалізував рівень H_2S та IGF-1.

Технічний результат, який досягається при вирішенні задачі, полягає в підвищенні ефективності лікування НАЖХП та інших патологічних станів, пов'язаних з гіпергомоцистеїнемією.

Поставлена задача вирішується шляхом застосування за новим призначенням препарату омега-3 поліненасичених жирних кислот "Епадол-Нео", який містить 300 мг ейкозапентаєнової кислоти, 200 мг докозагексаєнової кислоти, 498 мг інших жирних кислот, 2 мг d- α -токоферолу.

Здійснення способу. Досліди проводили на білих лабораторних щурах самцях з початковою масою 210-280 г. Всі тварини мали вільний доступ до питної води та корму. Щурів було розподілено на три групи по 10 тварин у кожній. Тварин групи 1 (контроль) утримували на стандартній напівсинтетичній крохмально-казеїновій дієті, збалансованій по всіх макро- та мікронутрієнтах. НАЖХП, асоційованої із ГГЦ (групи тварин 2 та 3) моделювали як описано [Патент України № 109085 заявл. 18.02.16; опубл. 10.08.16; Бюл. № 15.]. Для лікування НАЖХП, асоційованої з ГГЦ, був застосований Епадол-Нео (АТ "Київський вітамінний завод") в дозі 150 мг/кг маси тіла (1500 мг або 1,5 мл епадолу змішували з 8,5 мл рафінованої соняшникової олії і вводили із розрахунку 0,1 мл на 100 г маси щура) протягом 28 днів.

Для оцінки ефективності лікування визначали маркери стеатозу, фіброзу, а також рівні гомоцистеїну, IGF-1 та H_2S .

Вміст гомоцистеїну та IGF-1 в сироватці крові визначали імуноферментним методом ELISA за наборами "Homocysteine EIA" (Axis-Shield, Англія); "m/r IGF-1-ELISA (IGFBP-blocked)" (Mediagnost, Німеччина).

Для біохімічних досліджень печінку гомогенізували протягом 1-2 хв. в охолодженому середовищі 1,15 % KCl у відношенні маса/об'єм - 1:4 при 3000 об./хв. (тефлон-скло). Центрифугували 30 хв. при 600 g, відбирали аліквоти постядерного супернатанту в мікропробірки Еппендорф і до проведення досліджень зберігали при -20 °C.

Вміст H_2S в печінці визначали як описано [див. Carvedilol induces endogenous hydrogen sulfide tissue concentration changes in various mouse organs / Wilinski B, Wilinski J, Somogyi E [див. et al.] // Folia Biol (Krakow). - 2011. - Vol. 59, № 3-4. - P. 151-155].

Для оцінки стеатозу в гомогенатах печінки визначали вміст ЗХС та ТГ за наборами "Холестерин-Ф", "Тригліцериди-Ф" (Філісит-Діагностика, Україна), вміст загальних фосфоліпідів визначали екстракційно-фотометричним методом за утворенням гідрофобного комплексу з феротіоціанатом амонію [див. Пентюк А.А. Определение фосфолипидов по образованию гидрофобного комплекса с феротиоцианатом аммония / А.А. Пентюк, В.И. Гуцол, О.А. Яковлева // Лаб. дело. - 1987. - № 6. - С. 457-459.].

Як маркер фіброзу в гомогенаті печінки визначали вміст гідроксипроліну за реакцією з парадиметиламінобензальдегідом як описано [див. Siddiqi N. J. Investigation into the distribution of total, free, peptide-bound, protein-bound, soluble-and insoluble-collagen hydroxyproline in various bovine tissues / Siddiqi N. J., Alhomida A. S. // J Biochem Mol Biol. - 2003. - Vol. 36, № 2. - P. 154-158].

Конкретний приклад застосування способу. Встановлено, що при НАЖХП, асоційованої із ГГЦ, відбувається суттєве підвищення рівня гомоцистеїну та зниження рівня IGF-1 в сироватці крові. Було виявлено, що за станом на 60 добу рівень гомоцистеїну був достовірно вищим на 106 %, ніж у щурів групи контролю (табл.). Застосування препарату ω -3 ПНЖК сприяло

зниженню рівня гомоцистеїну в сироватці крові: у щурів групи 3 цей показник був достовірно нижчим на 32,6 %, ніж у щурів групи 2.

Аналіз сироваткового рівня IGF-1 показав, що на 60 добу у щурів з НАЖХП+ГГЦ спостерігалось вірогідне зниження рівня IGF-1 в сироватці крові на 41,4 %, порівняно з контролем. Натомість, застосування препарату ω -3 ПНЖК сприяло підвищенню рівня IGF-1 у щурів групи 3 на 31,1 %, ніж у щурів груп 2.

У тварин з НАЖХП+ГГЦ відмічено достовірне підвищення вмісту ТГ (на 198,9 %) та ЗХС (на 63,7 %) та зниження вмісту фосфоліпідів (на 28,9 %) в печінці порівняно з групою контролю. Виявилось, що застосування препарату ω -3 ПНЖК забезпечувало суттєвий антистеатогенний ефект. Так, достовірно зменшився вміст ТГ (на 42,5 %) та ЗХС (на 23,4 %), а також підвищився вміст фосфоліпідів (на 26 %) в печінці у щурів групи 3, ніж у нелікованих щурів групи 2.

Виявлено, що у тварин з НАЖХП+ГГЦ вміст H_2S в печінці був достовірно нижчим (на 40,0 %), ніж у тварин контрольної групи. В той же час, застосування препарату ω -3 ПНЖК сприяло зменшенню дефіциту H_2S і у щурів групи 3 цей показник був достовірно вищим на 27,2 %, ніж у щурів групи 2.

Встановлено, що при поєднанні НАЖХП, асоційованої з ГГЦ, акселеруються процеси печінкового фіброгенезу, про що свідчить достовірне підвищення вмісту гідроксипроліну (на 67,3 %) у порівнянні із групою контролю. Натомість застосування препарату ω -3 ПНЖК ефективно зменшувало вміст гідроксипроліну: у щурів групи 3 цей показник достовірно знизився на 32 % у порівнянні із щурами групи 2 (Таблиця 1).

Таблиця 1

Вплив препарату ω -3 ПНЖК на вміст маркерів стеатозу та фіброзу в сироватці крові та в печінці щурів за НАЖХП, асоційованої з ГГЦ ($M \pm m$, $n=10$)

Показники	Групи тварин		
	Контроль	НАЖХП+ГГЦ	НАЖХП+ГГЦ+СД+ ω -3 ПНЖК
Сироватка крові			
Гомоцистеїн, мкмоль/л	5,57 \pm 0,51	11,7 \pm 0,43*	7,89 \pm 0,67* [#]
IGF-1, нг/мл	304,3 \pm 13,4	174,1 \pm 5,96*	228,3 \pm 11,5* [#]
Гомогенат печінки			
H_2S , мкг/ г тканини	5,15 \pm 0,24	3,07 \pm 0,24*	4,25 \pm 0,24* [#]
ТГ, мкмоль /г тканини	17,7 \pm 0,87	56,2 \pm 2,79*	32,3 \pm 2,12* [#]
ЗХС, мкмоль /г тканини	6,37 \pm 0,27	11,0 \pm 0,53*	8,43 \pm 0,38* [#]
Фосфоліпіди, мкмоль /г тканини	26,1 \pm 0,49	18,2 \pm 1,12*	23,0 \pm 1,16* [#]
Гідроксипролін, мкмоль /г тканини	2,73 \pm 0,10	4,75 \pm 0,24*	3,21 \pm 0,14* [#]

Примітки: 1. * - $p < 0,05$ відносно групи 1;

2. # - $p < 0,05$ відносно групи 2;

Таким чином, запропонований спосіб ефективно знижує стеатоз печінки, усуває гепатотоксичну дію ГГЦ та нормалізує рівень H_2S та IGF-1 за НАЖХП, асоційованої із ГГЦ, простий у виконанні і може бути рекомендованим для впровадження в клінічну медицину.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб корекції неалкогольної жирової хвороби печінки, асоційованої з гіпергомоцистеїнемією, в експерименті у щурів шляхом інтрагастрального введення фармакологічного засобу, який відрізняється тим, що тваринам вводять препарат омега-3 поліненасичених жирних кислот Епадол-Нео у дозі 150 мг/кг маси тіла 1 раз на добу інтрагастрально протягом 28 діб.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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