



УКРАЇНА

(19) UA (11) 16872 (13) U
(51) МПК (2006)
G01N 33/53
A61K 35/14

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ СНІДУ

1

2

(21) u200604751

(22) 28.04.2006

(24) 15.08.2006

(46) 15.08.2006, Бюл. № 8, 2006 р.

(72) Лобинцева Галина Степанівна, Гладких Юрій Васильович, Лобинцев Дмитро Валерійович, Гладких Володимир Юрійович

(73) Лобинцева Галина Степанівна, Гладких Юрій Васильович, Лобинцев Дмитро Валерійович, Гладких Володимир Юрійович

(57) 1. Спосіб лікування СНІДу, у якому передбачено очищення крові хворого, якого контаміновано вірусами й мікроорганізмами-асоціантами, за допомогою плазмосорбції при використанні імуносорбента, посилюваного ковалентно зв'язаним з ним глюкопротеїдом, що виділений із плаценти людини, застосування плазморефу безпосередньо після плазмосорбції з поповненням плазми крові рівним обсягом плазмозамінювача у вигляді реополіглюкіну й перемишування курсу очищення крові застосуванням специфічної імуностимуляції, який **відрізняється** тим, що імуностимуляцію

здійснюють за допомогою препарату, отриманого з ембріональної печінки 7-9 тижнів гестації.

2. Спосіб лікування СНІДу за п. 1, який **відрізняється** тим, що імуностимуляцію здійснюють шляхом введення $20-40 \times 10^6$ гемопоетичних клітин з ембріональної печінки.

3. Спосіб лікування СНІДу за п. 1, який **відрізняється** тим, що застосовують препарат з стовбуровими CD34⁺ клітинами в кількості 3 - 18×10^3 .

4. Спосіб лікування СНІДу за п. 1, який **відрізняється** тим, що застосовують препарат з клітинами-попередниками грануломоноцитопоезу в кількості від 20 до 200×10^3 КОЕ-ГМ.

5. Спосіб лікування СНІДу за п. 1, який **відрізняється** тим, що застосовують препарат, який містить активні фагоцитуючі моноцити й макрофаги.

6. Спосіб лікування СНІДу за п. 1, який **відрізняється** тим, що застосовують препарат, який містить ембріональний (утримуючий 2a- і 2e-ланцюжки) і фетальний (утримуючий 2b- і 2g-ланцюжки) гемоглобін.

Розробка відноситься до медицини й призначена для відновлення порушеного імунного статусу людини при різних імунодефіцитних станах, викликаних несприятливим впливом навколишнього середовища й/або патогенними мікроорганізмами, у тому числі й СНІД - інфекцією. Під імунодефіцитним станом розуміють відсутність одного або декількох компонентів імунної системи чи втрату їхньої ефективності, обумовлену різними інфекційними захворюваннями та несприятливим впливом зовнішнього середовища.

Відомий спосіб лікування СНІДу, [див. патент Росії №2105310, МПК G01N33/53, A61K35/14, дата публікації: 20.02.1998], що складається з очищення хворого від різних вірусів, у тому числі й у першу чергу від ретровірусу - збудника СНІД, контамінованих ними клітин крові й від мікроорганізмів - асоціантів за допомогою плазмосорбції при вико-

ристанні індивідуально виготовленого для кожного хворого імуносорбента, посилюваного ковалентно пов'язаним з ним глюкопротеїдом, що виділений із плаценти людини і який проявляє підвищену спорідненість до ретровірусу СНІДу. Процедура очищення крові містить у собі застосування плазморефу безпосередньо слідом за плазмосорбцією з відшкодуванням плазми крові рівним обсягом (1000-1200мл) плазмозамінювача у вигляді реополіглюкіну й з повторним застосуванням плазмосорбції при використанні свіжого імуносорбенту. Проведення курсу очищення крові перемишуються курсовим застосуванням специфічної імуностимуляції за допомогою аутовакцини, виготовленої в кожному окремому випадку на основі Уф-інактивованої гемокультури від даного хворого. На пізніх етапах розвитку СНІДу курси очищення крові й специфічної імуностимуляції за допомогою ауто-

(13) U

(11) 16872

(19) UA

вакцини доповнюються заповненням макрофагів, що ушкоджуються в умовах СНІДу, і хелперних Т-Т- кліток шляхом внутрікісткової трансплантації пуповинної крові з пуповини, що відтинається при пологах.

Недоліком такого способу є складність виконання специфічної імуностимуляції, що пов'язана з застосуванням аутовакцини, виготовленої в кожному окремому випадку на основі Уф-інактивованої гемокультури від даного хворого, що суттєво затримує початок процесу лікування, а в ряді випадків позбавляє можливості застосувати такий спосіб лікування, а також складність та травматичність внутрікісткової трансплантації пуповинної крові.

Завданням розробки є створення способу лікування СНІДу, в якому за рахунок зменшення дій в способі, застосування нових засобів для імуностимуляції та емпіричним шляхом підібраних дозувань імуностимулятору, забезпечується зменшення травматичності процесу трансплантації імуностимуляторів, спрощується виконання способу, та суттєво розширюється можливість його застосування.

Для вирішення цього завдання спосіб лікування СНІДу передбачає очищення крові хворого від вірусів й від мікроорганізмів - асоціантів за допомогою плазмосорбції при використанні імуносорбента, посилюваного ковалентно пов'язаним з ним глюкопротеїдом, що виділений із плаценти людини, застосування плазмафореми безпосередньо слідом за плазмосорбцією з відшкодуванням плазми крові рівним обсягом плазмозамінювача у вигляді реополіглюкіну, й перемешовування курсу очищення крові застосуванням специфічної імуностимуляції.

Новим в способі є те, що імуностимуляцію здійснюють за допомогою препарату, отриманого з ембріональної печінки 7-9 тижнів гестації.

Внаслідок застосування нових ознак способу разом з відомими суттєво розширюється можливість його застосування, спрощується виконання способу, підвищується оперативність застосування лікування хворих на СНІД, забезпечується зменшення травматичності процесу трансплантації імуностимуляторів. У застосованому в способі препараті міститься комплекс активно діючих стовбурних і клітин-попередників гемопоеза й речовин, які існують тільки в ембріональному періоді в натуральному виді. Зокрема, ембріональний і фетальний гемоглобін, що залежно від емпірично підібраної концентрації, може бути ефективно використані як стимулятор і інгібітор проліферації стовбурних клітин. По завершенні курсу лікування провадиться обстеження пацієнта за допомогою стандартних методів дослідження: клінічний і імунологічний аналіз крові, визначення співвідношення CD_4/CD_8 , полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) для діагностики СНІДу.

В конкретних варіантах застосування імуностимуляцію в способі лікування СНІДу здійснюють шляхом введення $10 - 40 \times 10^6$ клітин з ембріональної печінки.

Вибір оптимальної кількості клітин позитивно впливає на перебіг лікування та дозволяє більш обґрунтовано оцінювати наслідки лікувального

впливу, що дозволяє обґрунтовано коригувати процес лікування.

В конкретних варіантах виконання способу лікування СНІДу застосовують препарат з стовбурними СД34+ клітинами в кількості $3-18 \times 10^3$.

Застосування таких ознак способу дозволяє більш обґрунтовано оцінювати наслідки змін в процесі лікування складу крові пацієнта.

В конкретних варіантах виконання способу лікування СНІДу застосовують препарат з клітинами-попередниками грануломоноцитопоеза в кількості від 20 до 200×10^3 КОЕ-ГМ.

В конкретних варіантах виконання способу лікування СНІДу застосовують препарат який містить активні фагоцитуючі моноцити й макрофаги.

В конкретних варіантах виконання способу лікування СНІДу застосовують препарат який містить ембріональний (утримуючий - 2 а- і 2 е- ланцюжка) і фетальний (утримуючий 2b- і 2 -g ланцюжка) гемоглобін.

При цьому лікування можливо проводити на фоні традиційних медикаментозних методів терапії, які суттєво не впливають на перебіг спеціального лікування, на загальний стан хворих і не викликає будь-яких ускладнень при проведенні комбінованого лікування. Крім того, використовуючи цей спосіб лікування, продовжуються строки ремісії, покращується якість життя хворих.

Лікування хворих на СНІД та вірусносіїв СНІДу за допомогою описаного способу обов'язково супроводжують застосуванням загальміцнівальної терапії (вітамінотерапія, введення следових мікроелементів, та ін.), призначуваної пацієнтам за індивідуальними показниками.

В прикладах застосування способу для очищення крові за допомогою процедури плазмосорбції - плазмафореми - плазмосорбції в колонці при здійсненні процедури використовують імуносорбент, виготовлений з використанням плацентарної тканини.

Виділення плацентарної тканини й одержання біологічно активного препарату проводили відповідно до методів, описаних у [патентах України №56085 (Спосіб одержання препарату суспензії клітин плаценти), №59096 (Спосіб одержання біологічно активного препарату з плаценти (варіанти)], потім зі стерильних криоконсервованих препаратів, перевірених на відсутність вірусних грибкових і микоплазмних інфекцій.

Очищення крові процедури плазмосорбції-плазмафореми-плазмосорбції проводять у вигляді курсу із процедур тривалістю по 1,5-2 годин один раз на пір року при загальному обсязі перфузії 1000-1200мл рідкої частини крові (плазми) з наступним заміщенням рівним обсягом плазмозамінювача (реополіглюкіна). Відразу ж після завершення кожної процедури очищення крові методом плазмосорбції-плазмафореми-плазмосорбції роблять внутрішньовенні ін'єкції імуностимулятору з використанням препарату, отриманого з ембріональної печінки 7-9 тижнів гестації.

Приклад 1. Хвора Л.. вік 37 років, діагноз СНІД, стадія Ш-В, хронічний трахеобронхіт, енцефалопатія.

Застосували плазмасорбцію, плазмафореми за описаною методикою та імуностимуляцію за до-

помогою препарату, отриманого з ембріональної печінки 9 тижнів гестації, який містив $33,7 \times 10^6$ клітин. Склад препарату: стовбурні CD34+ клітини в кількості 15×10^3 , клітини-попередники грануломоноцитопоезу в кількості від 198×10^3 КОЕ-ГМ, активні фагоцитуючі моноцити й макрофаги, ембріональний (утримуючий - 2 а- і 2 е- ланцюжка) і фетальний (утримуючий 2b- і 2 -g ланцюжка) гемоглобін.

Досліджували імунобіологічні показники хворої до лікування, на 15-й і 23 день після проведення плазмасорбції й введення препарату. Отримано дані, що свідчать про збільшення в крові Т-хелперів індукторів, зменшення Т-супресорів, кіллерів, а також збільшення коефіцієнта Тх/Тс до значень норми. Нормалізувалася активність В-лімфоцитів. Значно покращилося загальне самопочуття хворої.

Приклад 2. Хворий Ш., вік 47 років, діагноз СНІД, стадія вторинних проявів. Пневмоцистна пневмонія, мікромодулярний цироз печінки в стадії цирозу що формується.

Застосували плазмасорбцію, плазморефракцію за описаною методикою та імуностимуляцію за допомогою препарату, отриманого з ембріональної печінки 7 тижнів гестації, який містив 20×10^6 клітин. Склад препарату: стовбурні CD34+ клітини в кількості 5×10^3 , клітини-попередники грануломоноцитопоезу в кількості від $20,8 \times 10^3$ КОЕ-ГМ, активні фагоцитуючі моноцити й макрофаги, ембріональний (утримуючий - 2 а- і 2 е- ланцюжка) і фетальний (утримуючий 2b- і 2 -g ланцюжка) гемоглобін.

Субпопуляційний аналіз лімфоцитів показав зменшення, а потім збільшення в крові загальної кількості лімфоцитів, фазову зміну кількості Т-хелперів, Т-супресорів, коефіцієнта Тх/Тс, нормалізацію активності В-лімфоцитів. Відзначено

синдром раннього посттрансплантаційного поліпшення стану пацієнта.

Приклад 3. Хворий К. вік 34 роки, діагноз СНІД, стадія III-B. Хронічний трахеобронхіт. Пневмоцистна пневмонія. Цироз печінки в стадії сформованого цирозу с синдромом портальної гіпертензії. Гіпохромна анемія.

Одержував неодноразово внутрішньовенні й внутрим'язові ін'єкції в умовах амбулаторії й стаціонару із приводу цирозу печінки. Азидотимідин не призначався у зв'язку із цирозом печінки. Бісептол не одержував у зв'язку з алергічною реакцією на препарат. Постійно виявлялися пневмоцисти, турбували виражена загальна слабкість, задишка при незначному навантаженні, кашель, мізерне відділення мокрот, субфібрильні коливання температури до 38С,

При здійсненні способу вводили внутрішньовенно кріоконсервовані гемопоетичні клітини ембріональної печінки людини 7 тижнів гестації в кількості 27×10^6 , стовбурні CD34+ клітини в кількості 4×10^3 , зміст КОЕ-ГМ $20,8 \times 10^3$.

Синдром раннього посттрансплантаційного поліпшення самопочуття хворого був не яскраво виражений, хоча толерантність до навантаження зросла. Протягом 2 тижнів самопочуття поступово поліпшувалося, скоротилися в розмірі шийні лімфатичні вузли. Зменшився кашель і кількість виділення мокрот. Нормалізувалася температура. Через два тижні в мокроті перестали виявлятися пневмоцисти. Згідно даним іммуноферментного аналізу в 16 разів зменшився титр антитіл до СНІД. Знизилися показники СОЕ. У крові збільшилася вміст Т-хелперів (CD4 лімфоцитів) майже на 100%. Коефіцієнт ТХ/ТС зріс із 1,11 до 1,42. динаміка змін показників наведена в Таблиці 1.

Таблиця 1

Динаміка зміни імунітету й біохімічних показників хворого СНІД після проведення очистки крові й введення кріоконсервованих гемопоетичних клітин ембріональної печінки людини

Показники	До застосування способу		Після здійснення способу							
			7 доба		14 доба		30 доба		45 доба	
	абс.	%	абс	%	абс.	%	абс	%	абс.	%
1	2		3		4		5		6	
лейкоцити (норма 4-8,8 10 ⁹ /л)	5,9		9,5		9,0		6,4		6,4	
лімфоцити (норма 20-40%, 800-3200×10 ⁹ /л	2596	44	4085	43	4500	50	2688	42	4452	53
CD3 (ТО) 40-70%	859	33,1	796	19,5	2200	48,9	454	16,9	913	21,2
CD4 (ТХ) 30-50%	631	24,3	821	20,1	1107	24,6	382	14,2	839	19,3
CD8 (ТС)20-35%	566	21,8	637	15,6	1048	23,3	269	10,0	690	15,5
CD4/CD8 1, 9	11,11		1,29		1,06		1,42		1,25	
HLA DR (Ta) 25-35%	41	1,6	212	5,2	337	7,5	148	5,5	436	9,8
Sig-eg (B) 13-20%	26	10,0	1025	25,1	450	10,0	261	9,7	313	8,4
СОЕ мм/час	45		65		71		65			
Еритроцити, що містять фетальний гемоглобін %	0		0,5		1,4		1,8			
ИФА СНІД ИБ	1:25600 8 білків				1:12800		1:1600			
Pneumocystis carinii в мокроті	1-10 в 15%		не виявлений		не виявлений		не виявлений		не виявлений	
загальний білірубін (мМ/л)	9,36				10,05					
тімолова проба	7,0				8,0					

1	2	3	4	5	6
АЛТц/р (мМ/л)	0,14/0,15		0,11/0,15		
загальний білок (г/л)	89,2		91,9		
альбуміни, %	39,5		33,8		
глобуліни,%, альфа 1	4,9		5,4		
альфа 2	7,6		8,1		
бета	13,7		14,8		
гамма	34,3		38,5		

Приклад 4. Хвора В., вік 38 років, інвалід першої групи. До груп ризику не відноситься.

Діагноз: СНІД, стадія 1П-В. Хронічний трахеобронхіт. Пневмоцистна пневмонія. Хронічна герпетична інфекція. Стан після перенесеного герпетичного енцефаліту. Енцефалопатія. Кандидоз. Хронічний холецистит у фазі неповної ремісії. Хронічний панкреатит. Азидотимідин не одержувала через індивідуальну нестерпність.

Протягом тижня перебувала в реанімаційному відділенні в прекоматозному стані у зв'язку з герпетичним енцефалітом. Проводилося лікування Ацикловіром. Протягом останніх місяців майже безупинно одержувала Бисептол, однак у мокроті постійно виявлялися пневмоцисти. Підйоми температури до 38-39°C. Кашляла, відходила мокрота, турбували торакоалгії. Через виражене запаморочення, загальну слабкість майже не вставала з постелі, ходила з паличкою, утримуючись рукою за стінку.

Проведено сорбційну очистку крові й внутрішньовенну трансплантацію гемопоетичних клітин ембріональної печінки людини за допомогою пре-

парату, отриманого з ембріональної печінки 8 тижнів гестації, в кількості клітин $33,7 \times 10^6$, стовбурні СД34+ клітини в кількості 18×10^3 , зміст КОЕ-ГМ становив $29,8 \times 10^3$.

Наступного дня після трансплантації спостерігали синдром раннього посттрансплантаційного поліпшення самопочуття хворої у вигляді зменшення загальної слабкості, поліпшення апетиту, нормалізації температури, формули сну. Зі слів хворої, вона відчувала "силу в ногах", стала пересуватися по палаті, перестала користуватися паличкою. Протягом тижня зменшилось виділення мокроті, у мокроті перестали виявлятися пневмоцисти, зменшилися шийні й пахові лімфовузли знизилися показники СОЕ з 62 до 33мм/годин, і в чотири рази зменшився титр анти-тіл до СНІД, по даним іммуноферментного аналізу (ИФА) з 1:51200 до 1:12800. Підвищився вміст Т-Хелперів (СД 4-лімфоцитів) з 414клітин/мм³ до 1115клітин/мм³ Коефіцієнт Тх/Тс (СД4/СД8) виріс із 1,02 до 2,1 з наступними змінами, наведеними у таблиці 2.

Таблиця 2

Динаміка зміни імунітету й біохімічних показників хворої СНІД після проведення очистки крові й введення кріоконсервованих гемопоетичних клітин ембріональної печінки людини

Показники	До застосування способу		Після здійснення способу							
			7 доба		14 доба		30 доба		45 доба	
	абс.	%	абс	%	абс.	%	абс	%	абс.	%
1	2		3		4		5		6	
лейкоцити (норма 4-8,8 10 ⁹ /л)	8,8		4,6		8,9		7,8		7,6	
лімфоцити (норма 20-40%, 800-3200×10 ⁹ /л	2200	25	1748	38	4272	48	3588	46	3800	50
CD3 (TO) 40-70%	950	43.2	407	23,2	1807	42,3	1690	47,1	1512	39,
CD4 (TX) 30-50 %	442	20,1	414	23,7	1115	26,1	793	22,1	604	15,
CD8 (TC)20-35%	851	38,7	405	23,2	572	13,4	377	10,5	870	22,
CD4/CD8 1, 9	0,52		1,02		1,94		2,10		0,69	
HLA DR (Ta) 25-35%	85	3,9	453	25,9	594	13,9	384	10,7	380	10,
Sig- eg (B) 13-20%	466	21,2	252	14,4	449	10,5	459	12,8	433	11,
СОЕ мм/год	53		62		60		45		33	
Еритроцити, що містять фе- тальний гемоглобін %	0		0,3		1,4		28		30	
ИФА СНІД ИБ	1:51200 білків				1:12800					
Pneumocystis carinii в мокро- ті	одиничні до множ. в 50% п/зр.				не виявлений					
загальний білірубін (мМ/л)	11,7				9,36					
тімолова проба	8,0				8,0					

Продовження таблиці 2

1	2	3	4	5	6
АЛТц/р (мМ/л)	0,25/0,15		0,14/0,15		
загальний білок (г/л)	89,2		89,2		
альбуміни, %	47,1		44,4		
глобуліни, %, альфа 1	3,6		4,1		
альфа 2	6,4		6,5		
бета	12,2		10,9		
гамма	30,7		34,1		

Таким чином, у результаті проведеної терапії відзначена потужна іммунозамісна дія застосованих у способі гемопоетичних клітин ембріональної печінки, а також позитивний клінічний ефект, що зберігався протягом 90 днів.

Як показують проведені дослідження спосіб характеризується простотою виконання специфічної іммуностимуляції хворого, що суттєво спрощує

процес лікування. Внаслідок застосування нових ознак способу разом з відомими суттєво розширюється можливість його застосування, спрощується виконання способу, підвищується оперативність застосування лікування хворих на СНІД, забезпечується зменшення травматичності процесу трансплантації імуностимуляторів.