



УКРАЇНА

(19) UA (11) 31528 (13) U  
(51) МПК  
A61P 37/02 (2008.01)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ ЦИТОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ КРОВІ У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНИЙ СТЕАТОГЕПАТИТ

1

2

(21) u200714304

(22) 19.12.2007

(24) 10.04.2008

(46) 10.04.2008, Бюл. № 7, 2008 рік

(72) ФРОЛОВ ВАЛЕРІЙ МИТРОФАНОВИЧ, UA,  
ТЕРЬОШИН ВАДИМ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, UA,  
АНДРОСОВ ЄВГЕНІЙ ДМИТРОВИЧ, UA(73) ФРОЛОВ ВАЛЕРІЙ МИТРОФАНОВИЧ, UA,  
ТЕРЬОШИН ВАДИМ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, UA,  
АНДРОСОВ ЄВГЕНІЙ ДМИТРОВИЧ, UA(57) 1. Спосіб корекції цитокінового профілю крові у хворих на неалкогольний стеатогепатит, що включає введення імуноактивних препаратів, який **відрізняється** тим, що як імуноактивний препарат вводять імунофан.2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що імунофан вводять внутрішньом'язово по 0,05 мг 1 раз на добу 3 доби поспіль, потім по 0,05 мг через день ще 3-5 ін'єкцій, у залежності від досягнутого ефекту.

Корисна модель відноситься до галузі медицини, а саме до внутрішніх хвороб.

Актуальність предмету корисної моделі пов'язана з поширеною захворюваністю на хронічну патологію печінки як в Україні, так і в інших країнах СНД. При цьому, у теперішній час усе більшу увагу привертає патологія печінки невірусного й неалкогольного ґенезу та поперед усього - неалкогольний стеатогепатит (НАСГ). Вважають, що в сучасних умовах НАСГ - це друге за частотою зустрічання хронічне дифузне ураження печінки після хронічних гепатитів вірусу гепатиту, що в патогенезі НАСГ суттєву роль мають порушення з боку імунної системи. При аналізі показників імунологічного гомеостазу при НАСГ суттєву увагу надають характеристики цитокінового профілю (ЦП), оскільки саме цитокінам (ЦК) належить провідна роль у регуляції імунних процесів в організмі.

Нами було встановлено, що НАСГ характеризується тривалим збереженням підвищеного рівня прозапальних ЦК у крові. У той же час, відомі експериментальні дані щодо дуже високої чутливості гепатоцитів хворих з жировою дистрофією печінки до останніх, яка в десятки раз перевищує чутливість нормальних печінкових клітин до дії цих біологічних факторів, у зв'язку з чим створюються патогенетичні умови для подальшого прогресування НАСГ. Це дозволяє вважати важливими раціональні підходи до корекції порушень ЦП крові у плані призупинення подальшого прогресування НАСГ.

Існує спосіб корекції ЦП крові у хворих на НАСГ, що передбачає призначення таким пацієнтам раціональної дієти, полівітамінів і гепатопротекторних препаратів, зокрема есенціале [Харченко Н.В. Гепатология: проблемы и поиски. Особенности течения заболеваний и оптимизация лечения // Доктор. - 2001. - №2. - С. 6-7]. Вважається, що покращання під впливом такого лікування функціонального стану печінки сприяє корекції ЦП крові у хворих з НАСГ.

Однак клінічний досвід дозволяє вважати, що при використанні вказаного способу відмічається корекція ЦП лише в половини хворих з НАСГ, тоді як в інших залишаються чітко виражені зсуви з боку ЦП крові, зокрема суттєво підвищений рівень прозапальних ЦК (IL-1 $\beta$ , IL-2, ФНП $\alpha$  й інш.).

Відомий також спосіб корекції ЦП у хворих на НАСГ шляхом призначення таким пацієнтам сучасних протизапальних препаратів, зокрема амізону, які також володіють імуотропними властивостями [Терешин В.О., Фролов В.М. Вплив амізону на концентрацію цитокінів у крові хворих з НАСГ // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. науков. праць. - Київ; Луганськ; Харків, 2007. - Вип. 1-2 (76-77). - С. 116-122].

Цей спосіб більш ефективний, ніж попередній. Однак і при використанні амізону в частини хворих з НАСГ, особливо при частих загостреннях патологічного процесу в печінці, тривалий час зберігається дисбаланс вмісту прозапальних і протизапальних ЦК у крові. Тому запропоновано

(13) U

(11) 31528

(19) UA

спосіб корекції ЦП крові у хворих з НАСГ шляхом введення пацієнтам з даною патологією імуноактивного препарату циклоферону, який володіє також протизапальною активністю [Фролов В.М., Терешин В.А. Динамика провоспалительных цитокинов в крови больных неалкогольным стеатогепатитом при лечении циклофероном // Проблемы экологической та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. науков. праць. - Київ; Луганськ; Харків, 2007. - Вип. 3-4 (78-79). - С. 125-134].

Цей спосіб найбільш ефективний з існуючих і тому обраний в якості прототипу.

До недоліків прототипу відноситься те, що в 10-15% хворих на НАСГ з частими загостреннями стеатогепатиту, все ж таки не відмічається повної нормалізації ЦП крові пацієнтів, зберігається підвищений рівень прозапальних ЦК (IL- $\beta$ , IL-2, ФНП $\alpha$  й інш.) і дисбаланс їхнього вмісту в крові хворих, тобто залишаються порушення цитокинового статусу, переважно у вигляді збільшення вмісту прозапальних і відносно недостатності протизапальних ЦК.

Задачею корисної моделі було підвищення ефективності існуючого способу корекції ЦП крові хворих на НАСГ, а саме прискорення досягнення нормалізації співвідношення прозапальних і протизапальних ЦК у крові і їхньої загальної концентрації.

Вказана задача досягається шляхом введення хворим з НАСГ в якості імуноактивного препарату імунофану.

Імунофан - це імуноактивний препарат, який володіє також антиоксидантними, протизапальними, гепатозахисними й дезінтоксикаційними властивостями. Оскільки в патогенезі НАСГ важливе значення мають порушення імунологічних показників, у тому числі ЦП крові, то можна вважати перспективним у хворих на це захворювання використання препаратів, які проявляють протизапальну активність і водночас нормалізують імунітет. У цьому плані нашу увагу й привернула можливість використання в комплексі лікування хворих на НАСГ імунофана, який базується на вперше встановленій нами в експериментальних умовах і потім підтвердженій в клініці закономірності, що введення хворим імунофану забезпечує відновлення імунологічного гомеостазу, зокрема ЦП крові, а в клінічному плані сприяє досягненню стійкої й тривалої ремісії НАСГ, а також суттєвому зменшенню в подальшому частоти загострень цього захворювання й, таким чином, обумовлює досягнення задачі корисної моделі. Крім того, введення імунофану не має протипоказань, не спричиняє будь-яких небажаних побічних ефектів, у тому числі алергічних реакцій, і тому імунофан може при необхідності призначатися повторними курсами, у залежності від досягнутого ефекту. Раніше з метою корекції ЦП крові у хворих на НАСГ імунофан не використовувався.

Заявлений спосіб здійснюється таким чином. Хворим з наявністю НАСГ, які потребують корекції ЦП крові, вводять поряд із загальноприйнятою терапією (гепатозахисні препарати,

антиоксиданти) імунофан внутрішньом'язово по 0,05мг 1 раз на добу 3 доби поспіль, потім по 0,05мг через день ще 3-5 ін'єкцій, у залежності від досягнутого ефекту. Лабораторними критеріями ефективності призначення імунофану є зменшення вмісту у крові прозапальних ЦК - IL-1 $\beta$ , IL-2, ФНП $\alpha$  й IL-6 при тенденції до підвищення рівня протизапального ЦК - IL-4 в сироватці крові хворих, а тому й зниження коефіцієнтів, які відображають співвідношення ЦК з прозапальною й протизапальною активністю, що свідчить про відновлення імунологічного гомеостазу. Саме введення імуноактивного препарату імунофану сприяє в патогенетичному плані позитивним зсувам вищезгаданих імунологічних показників, а в клінічному відношенні - досягненню стійкої й тривалої ремісії НАСГ, а також суттєвому зменшенню в подальшому частоти загострень цього захворювання.

Вищевказані дози й курси введення імунофану хворим з НАСГ були підібрані нами досвідним шляхом. Саме при такій кратності введення імунофану забезпечується максимальне зниження концентрації прозапальних ЦК у сироватці крові. Отже, новими є як препарат (імунофан), який нами вперше використовується в корекції ЦП крові у хворих на НАСГ, так і схема застосування імунофану при даній патології.

При розробці заявленого способу було обстежено дві групи хворих з НАСГ, які підлягали проведенню імунореабілітації в зв'язку з наявністю порушень з боку імунної системи: основна (63 особи), якій проводили корекцію ЦП за допомогою заявленого способу, і група зіставлення (59 осіб), якій проводили корекцію ЦП відповідно до відомого способу-прототипу. Обидві групи хворих, які знаходилися під наглядом, були рандомізовані за віком, статтю, стадією НАСГ і частотою загострення хронічного патологічного процесу в печінці. Введення імунофану починалося, як правило, безпосередньо в період чергового епізоду загострення НАСГ і проводилося переважно в амбулаторних умовах або в денному гастроентерологічному стаціонарі. Як клінічні, так і лабораторні показники порівнювали в обох групах хворих з НАСГ. Для порівняння проведення корекції ЦП у хворих на НАСГ в обох групах, які були під наглядом, - основній, що отримувала імунофан відповідно з заявленим способом, і групі зіставлення, в якій терапія здійснювалася стосовно до способу-прототипу, була однотипова клінічна симптоматика хвороби, що характеризувалася наявністю загальної слабкості, нездужання, зниження апетиту та працездатності, помірної тяжкості в правому підбер'ї, болю або тяжкості в епігастрії, гіркоти в роті, відрижки, закрепів, чи їхнього чергування з проносами й метеоризму. При об'єктивному обстеженні відмічалася субіктеричність склер, наявність гепатомегалії, ущільнення печінки, болісності печінкового краю при пальпації IL-1 $\beta$  у крові хворих з НАСГ була в цей період у середньому в 2,5 рази ( $P < 0,001$ ), а IL-6 - у 2,0 рази ( $P < 0,001$ ) вище норми в обох групах обстежених, IL-2 - у 2,0 й 1,9 рази ( $P < 0,01$ ), ФНП $\alpha$  - в 1,9 й 1,8 рази вище норми ( $P < 0,001$ ) в

основній групі й групі зіставлення відповідно. Навпаки, рівень протизапального ЦК IL-4 мав тенденцію до зниження (у середньому в 1,5 разів стосовно норми в обох групах;  $P<0,05$ ). Виходячи з цього, коефіцієнти, що відображають співвідношення ЦК з прозапальною й протизапальною активністю, суттєво збільшувалися: індекс IL-2/IL-4 в 2,9 і 2,8 рази стосовно норми ( $P<0,001$ ), IL-1 $\beta$ /IL-4 - у 3,7 і 3,6 рази ( $P<0,001$ ), ФНПа/IL-4 - у 2,8 і 2,7 рази ( $P<0,001$ ) та IL-6/IL-4 - у 3,0 і 2,9 рази ( $P<0,001$ ) у хворих основної групи й групи зіставлення

відповідно. Ці дані свідчать про суттєву перевагу прозапальних активностей в крові хворих у цей період обстеження, що ймовірно пов'язано з наявністю запального процесу в печінці. До того ж, зміни імунного статусу в обох групах хворих на НАСГ були однаковими відносно норми, що свідчить про однотиповість обстежених груп не тільки в клінічному, но також і імунологічному плані, що дуже важливо при проведенні порівняння динаміки ЦК в основній групі та групі зіставлення (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст ЦК у сироватці крові в обстежених хворих до початку проведення корекції ЦП крові ( $M\pm m$ ), пг/мл

Вміст ЦК	Норма(пг/мл)	Групи хворих, які підлягали проведенню корекції ЦП крові		P
		основна (n=63)	зіставлення (n=59)	
IL-1 $\beta$	18,8 $\pm$ 1,7	47,0 $\pm$ 2,3***	46,5 $\pm$ 2,1***	>0,1
IL-2	20,8 $\pm$ 1,4	40,6 $\pm$ 2,2**	39,4 $\pm$ 2,2**	>0,05
ФНПа	39,6 $\pm$ 2,2	73,3 $\pm$ 3,0***	72,8 $\pm$ 2,9***	>0,05
IL-6	24,4 $\pm$ 2,8	49,4 $\pm$ 3,0***	48,9 $\pm$ 3,1***	>0,05
IL-4	47,2 $\pm$ 1,6	31,7 $\pm$ 1,9*	32,1 $\pm$ 2,0*	>0,05
IL-2/IL-4	0,44 $\pm$ 0,03	1,28 $\pm$ 0,05***	1,23 $\pm$ 0,04***	>0,05
IL-1 $\beta$ /IL-4	0,4 $\pm$ 0,03	1,48 $\pm$ 0,04***	1,45 $\pm$ 0,05***	>0,1
ФНПа/Ib-4	0,84 $\pm$ 0,04	2,31 $\pm$ 0,07***	2,27 $\pm$ 0,08***	>0,05
IL-6/IL-4	0,52 $\pm$ 0,03	1,56 $\pm$ 0,06***	1,52 $\pm$ 0,07***	>0,1

Примітка: у табл. 1 і 2 ймовірність розбіжностей відносно показників норми \* - при  $P<0,05$ , \*\* -  $P<0,01$ , \*\*\* -  $P<0,001$ ; стовпчик P - вірогідність різниці між показниками в основній групі й групі зіставлення.

При повторному вивченні ЦП сироватки крові хворих після завершення корекції ЦП крові було встановлено, що в основній групі (в якій корекція ЦП крові проводилася згідно до заявленого способу) у більшості випадків відмічалася покращання загального стану хворих, суттєве зменшення частоти й вираженості попередніх скарг, що характеризували наявність загострення НАСТ.

У той же час у пацієнтів групи зіставлення (в якій корекція ЦП крові проводилася згідно до відомого способу-прототипу) значно частіше

зберігалися скарги, які були наслідком помірного загострення або неповної ремісії хронічного патологічного процесу в печінці й характеризувалися помірною тяжкістю в правому підребер'ї, гіркотою в роті, наявністю відрижки, закрепів або їхнього чергування з проносами, у низки хворих також тяжкості в епігастрії й метеоризму.

Динаміка імунологічних тестів, які були досліджені в обстежених хворих, наведена в таблиці 2.

Таблиця 2

Концентрація ЦК у сироватці крові в обстежених хворих після завершення корекції ЦП крові ( $M\pm m$ ), пг/мл

Вміст ЦК	Норма (пг/мл)	Групи хворих, які підлягали проведенню корекції ЦП крові		P
		основна (n=61)	зіставлення (n=57)	
IL-1 $\beta$	18,8 $\pm$ 1,7	21,3 $\pm$ 1,5	28,0 $\pm$ 1,6*	=0,05
IL-2	20,8 $\pm$ 1,4	22,4 $\pm$ 1,8	27,7 $\pm$ 1,4*	<0,05
ФНПа	39,6 $\pm$ 2,2	41,2 $\pm$ 1,8	48,5 $\pm$ 1,6*	<0,05
IL-6	24,4 $\pm$ 2,8	25,0 $\pm$ 1,6	32,4 $\pm$ 1,7*	=0,05
IL-4	47,2 $\pm$ 1,6	45,6 $\pm$ 1,3	38,6 $\pm$ 1,5*	=0,05
IL-2/IL-4	0,44 $\pm$ 0,03	0,49 $\pm$ 0,03	0,72 $\pm$ 0,04*	=0,05
IL-1 $\beta$ /IL-4	0,4 $\pm$ 0,03	0,47 $\pm$ 0,04	0,73 $\pm$ 0,05*	<0,05
ФНПа/Ib-4	0,84 $\pm$ 0,04	0,91 $\pm$ 0,05	1,26 $\pm$ 0,06*	<0,05
IL-6/IL-4	0,52 $\pm$ 0,03	0,55 $\pm$ 0,04	0,84 $\pm$ 0,04*	<0,05

З таблиці 2 видно, що динаміка вивчених лабораторних імунологічних показників суттєво

відрізнялася в основній групі й групі зіставлення пацієнтів з діагнозом НАСТ. Дійсно, при практично

однакових вихідних показниках ЦК у крові в цих групах до початку проведення корекції ЦП, після завершення курсу корекції було встановлено, що в групі хворих, яка отримувала імунофан, відмічалася практично повна нормалізація як вмісту ЦК у крові, так і співвідношення між прозапальними й протизапальними ЦК. У хворих групи зіставлення, яка вживала циклоферон, також мала місце позитивна динаміка з боку ЦК, але менш вірогідна. Тому в цій групі зберігалося помірне підвищення вмісту в крові IL-1 $\beta$  (в 1,49 рази вище норми;  $P < 0,05$ ), IL-2 (в 1,33 рази;  $P < 0,05$ ), ФНП $\alpha$  (в 1,22 рази;  $P < 0,05$ ), IL-6 (в 1,6 рази;  $P < 0,05$ ), а концентрація протизапального ЦК (IL-4) була в 1,22 рази нижче норми ( $P < 0,05$ ). Індeksi, які відображають співвідношення прозапальних і протизапальних ЦК, зберігалися підвищеними ( $P < 0,05$ ) - коефіцієнт IL-2/IL-4 в 1,64 рази, IL-1 $\beta$ /IL-4 - в 1,83 рази, ФНП $\alpha$ /IL-4 - в 1,5 рази й IL-6/IL-4 - в 1,62 рази вище норми. Це свідчить про деяке превалювання прозапальних активностей в сироватці крові на тлі відносної недостатності протизапальних властивостей, а значить у патогенетичному плані - на нестійку ремісію з наявністю активного запального процесу в печінці (дивись табл. 2).

Таким чином, отримані дані дозволяють вважати, що використання в якості засобу корекції ЦП крові імунофану забезпечує практично повну нормалізацію концентрації окремих ЦК і співвідношення між ними в крові хворих на НАСГ. Виходячи з цього, можна вважати, що заявлений спосіб має суттєві переваги перед відомим способом-прототипом. Застосований при реалізації заявленого способу препарат імунофан добре переноситься хворими, доступний за ціною, є в достатній кількості в аптечній мережі України й тому використання цього препарату перспективне в клінічній практиці.

Приводимо конкретні приклади використання заявленого способу.

#### Приклад 1

Хворий К., 39 років, електрослюсар, хворіє на НАСГ протягом 6 років, знаходиться на диспансерному обліку в міському гепатологічному центрі, загострення патологічного процесу в печінці відмічаються 2-3 рази на рік, за останній рік були 4 рази. У період чергового епізоду загострення патологічного процесу в печінці К. був обстежений імунологічно при вступі до гастроентерологічного відділення. Встановлені такі результати цього обстеження: IL-1 $\beta$  - 45,5 пг/мл; IL-2 - 38,6 пг/мл; ФНП $\alpha$  - 72,4 пг/мл; IL-6 - 48,5 пг/мл; IL-4 - 32,2 пг/мл; IL-2/IL-4 - 1,2; IL-1 $\beta$ /IL-4 - 1,41; ФНП $\alpha$ /IL-4 - 2,25; IL-6/IL-4 - 1,51.

Отже, було встановлено досить суттєве підвищення концентрації прозапальних ЦК (IL-1 $\beta$ , IL-2, ФНП $\alpha$ , IL-6) на тлі зниження вмісту в крові протизапального ЦК, а саме IL-4, підвищення коефіцієнтів, які відображають співвідношення між прозапальними й протизапальними ЦК, тобто виявлені суттєві порушення з боку ЦП крові хворого. Лікування проводилося з використанням антиоксидантів (аскорбінова кислота, токоферолу ацетат) і гепатопротекторів (есенціале Н). Для

корекції ЦП крові хворому був призначений імунофан згідно до заявленого способу, а саме по 0,05 мг внутрішньом'язово 1 раз на добу 3 доби поспіль, потім по 0,05 мг через день ще 3 ін'єкції препарату (курсова доза - 0,3 мг).

При повторному імунологічному обстеженні після завершення курсу введення імунофану встановлені такі результати імунограми: IL-1 $\beta$  - 21,2 пг/мл; IL-2 - 21,6 пг/мл; ФНП $\alpha$  - 40,5 пг/мл; IL-6 - 25,2 пг/мл; IL-4 - 46,4 пг/мл; IL-2/IL-4 - 0,47; IL-1 $\beta$ /IL-4 - 0,46; ФНП $\alpha$ /IL-4 - 0,87; IL-6/IL-4 - 0,54.

Таким чином, при аналізі повторної імунограми було встановлено, що під впливом імунофану відмічена практично повна нормалізація концентрації ЦК у крові хворого К. і співвідношення між прозапальними й протизапальними ЦК, що свідчить про нормалізацію ЦП крові даного пацієнта. Із клінічного плану в К. досягнута клініко-біохімічна ремісія НАСГ; за даними диспансерного обстеження протягом 1 року загострень НАСГ за цей період не було, стан здоров'я хворого був задовільний. За даними імунологічного моніторингу в цей період обстеження концентрація окремих ЦК у крові й співвідношення між прозапальними й протизапальними ЦК зберігаються в межах норми, тобто має місце нормалізація ЦП крові.

#### Приклад 2

Хвора С., 46 років, товаровзнавець, страждає на НАСГ протягом останніх 6-7 років, знаходиться на диспансерному обліку в міському гепатологічному центрі. Загострення НАСГ відмічаються 3-4 рази на рік, лікувалася неодноразово в умовах гастроентерологічного відділення й денного стаціонару. У період останнього епізоду загострення НАСГ була обстежена імунологічно. Встановлені такі показники імунограми: IL-1 $\beta$  - 46,5 пг/мл; IL-2 - 40,8 пг/мл; ФНП $\alpha$  - 73,2 пг/мл; IL-6 - 48,4 пг/мл; IL-4 - 30,2 пг/мл; IL-2/IL-4 - 1,35; IL-1 $\beta$ /IL-4 - 1,53; ФНП $\alpha$ /IL-4 - 2,4; IL-6/IL-4 - 1,6.

Отже, за даними імунограми у хворої С. відмічається суттєве підвищення концентрації в крові прозапальних ЦК (IL-1 $\beta$ , IL-2, ФНП $\alpha$ , IL-6), зниження рівня протизапального ЦК IL-4 і підвищення коефіцієнтів, які віддзеркалюють співвідношення ЦК з прозапальною й протизапальною активністю. Після завершення курсу введення імунофану дозволило встановити практично повну нормалізацію концентрації ЦК у крові С. І, таким чином, нормалізацію ЦП крові. Дійсно, при здійсненні імунологічного обстеження після завершення введення імунофану, встановлені такі показники: IL-1 $\beta$  - 20,2 пг/мл; IL-2 - 21,4 пг/мл; ФНП $\alpha$  - 39,9 пг/мл; IL-6 - 25,2 пг/мл; IL-4 - 45,5 пг/мл; IL-2/IL-4 - 0,47; IL-1 $\beta$ /IL-4 - 0,44; ФНП $\alpha$ /IL-4 - 0,88; IL-6/IL-4 - 0,55. Із клінічного плану була досягнута повноцінна ремісія захворювання. Проведення імунологічного моніторингу дозволило відмітити практично повну

нормалізацію ЦП крові й збереження нормальної концентрації ЦК протягом усього періоду диспансерного нагляду (1 рік).

Таким чином, отримані дані дозволяють вважати, що заявлений спосіб має суттєві переваги відносно відомого способу-прототипу, які характеризуються нормалізацією ЦП крові хворих, а в клінічному плані - досягненням стійкої й

тривалої ремісії НАСГ, відсутністю подальших його загострень. У зв'язку з цим, умовний економічний ефект при використанні заявленого способу складає біля 156грн на 1 хворого. Спосіб корисний, добре переноситься, а тому можна рекомендувати його для широкого використання в клінічній практиці.