



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **69009**

(13) **U**

(51) МПК

A61K 31/195 (2006.01)

G09B 23/28 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2011 08328**
(22) Дата подання заявки: **04.07.2011**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **25.04.2012**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.04.2012, Бюл.№ 8**

(72) Винахідник(и):
Олещук Олександра Михайлівна (UA),
Посохова Катерина Андріївна (UA),
Дацко Тамара Вікторівна (UA),
Лісничук Наталія Євгенівна (UA),
Шевчук Оксана Олегівна (UA)

(73) Власник(и):
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я.
ГОРБАЧЕВСЬКОГО,
Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001 (UA)

(54) СПОСІБ ПРЕВЕНТИВНОЇ ПРОФІЛАКТИКИ ІШЕМІЧНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ

(57) Реферат:

Спосіб превентивної профілактики ішемічного ураження печінки включає призначення лікарських засобів - модуляторів синтезу оксиду азоту. Призначають водний розчин L-аргініну інтраперитонеально один раз на день впродовж 3 діб у дозі 25 мг/кг, причому третє введення здійснюють за 10 хвилин до формування ішемічної реперфузії.

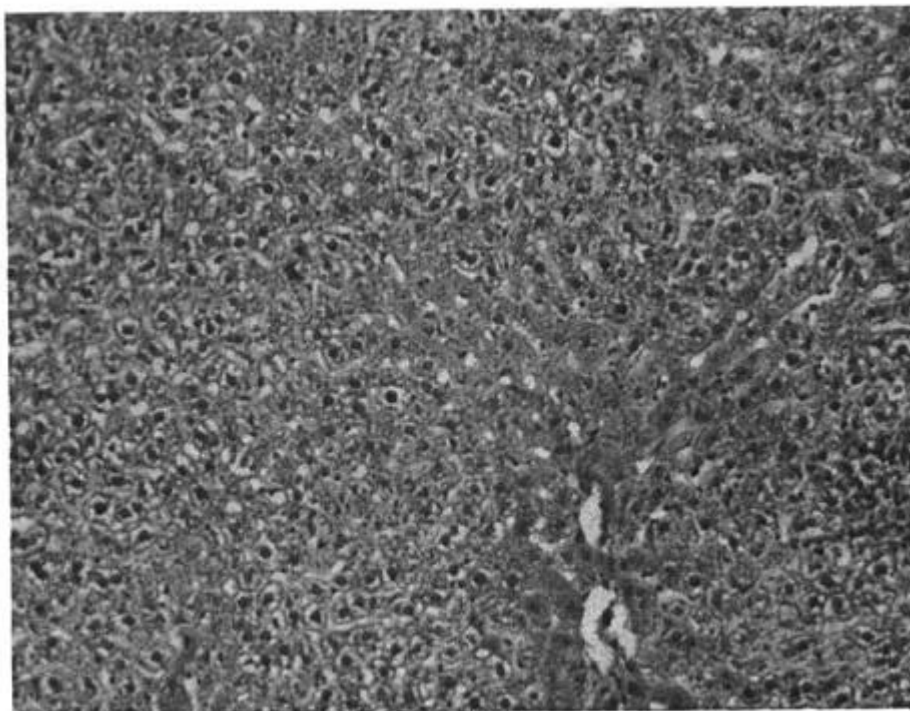


Fig. 1

U
69009
UA

Корисна модель стосується медицини, а саме експериментальної патології, і може бути використана для попередження ішемічного ураження печінки різного ґенезу.

Відомий спосіб превентивної профілактики ішемічного ураження печінки, що включає призначення лікарських засобів - модуляторів синтезу оксиду азоту [1]. За відомим способом, з метою превентивної профілактики реперфузійної ішемії вводять терапевтичні донори оксиду азоту, такі, як органічні нітрати та похідні сиднонімінів, попередники синтезу оксиду азоту, в тому числі аргінінвмісні препарати.

Недоліком відомого способу є недостатня клінічна ефективність профілактичних заходів, що впливає з того, що використання вказаних фармакологічних засобів забезпечує лише зниження інтенсивності ішемії та її наслідків, а не їх попередження. До того ж, притаманний відомому способу відносно швидкий розвиток толерантності до вказаних препаратів, недостатня їх біодоступність, пов'язана із швидкою утилізацією в печінці, тощо.

В основу корисної моделі поставлено задачу вдосконалити відомий спосіб, в якому шляхом зміни технології застосування фармакологічного засобу - коректора патологічного процесу, а саме модулятора реперфузійного ішемічного ураження печінки, спрямованого на створення в організмі, перш за все в печінці, депо попередника оксиду азоту, досягають зниження проявів ішемії та лікувальної підвищення ефективності в цілому.

При вирішенні поставленої задачі було взято до уваги те, що порушення, які виникають при ішемічно-реперфузійних ураженнях печінки, асоціюється з гострою реактивною відповіддю запального характеру та дисфункцією капілярів мікроциркуляторного апарату, що в кінцевому результаті призводить до незворотного ураження гепатоцитів [2]. Лікувальний ефект L-аргініну полягає у покращанні мікроциркуляції в печінці. Так, L- аргінін виступає попередником оксиду азоту (NO) з притаманною йому роллю ендogenous фактора релаксації в судинній стінці [3]. Протекторний вплив препарату за вказаних умов пов'язаний також із здатністю його попереджувати агрегацію та адгезію тромбоцитів. Позитивним слід вважати і те, що L-аргінін виявляє стрес-протекторну дію в організмі і тканині печінки за рахунок зниження інтенсивності процесів вільно-радикального окиснення та підвищення активності антиоксидантних ферментів. При цьому, оксид азоту, що утворюється з L- аргініну, активує синтез цитопротекторних білків теплового шоку родини HSP-70, які належать до важливої системи захисту клітин печінки при шоківій реакції. Наведені позитивні ефекти L-аргініну посилюються за рахунок здатності його мобілізувати мікосомальну систему печінки, що супроводжується підвищенням рівня мембрано-протекторної функції [4].

Беручи до уваги наведені міркування, у відомому способі превентивної профілактики ішемічного ураження печінки, що включає призначення лікарських засобів - модуляторів синтезу оксиду азоту, відповідно до корисної моделі призначають водний розчин L- аргініну інтраперитонеально один раз на день впродовж 3 діб у дозі 25 мг/кг, причому третє введення здійснюють за 10 хвилин до формування ішемічної реперфузії.

Перелік фігур.

Фіг. 1. Мікроструктура печінки тварини при ішемії-реперфузії. Забарвлення гематоксилін-еозином; $\times 160$.

Фіг. 2. Гістологічна картина печінки тварини після профілактичного введення L-аргініну і наступній ішемії-реперфузії. Забарвлення гематоксилін-еозином; $\times 160$.

Спосіб здійснюють наступним чином. Лабораторній тварині - білому щуру інтраперитонеально вводять водний розчин L-аргініну один раз на день впродовж 3 діб у дозі 25 мг/кг. Третє введення здійснюють за 10 хвилин до формування ішемічної реперфузії. Ішемію медіальної та лівої латеральної часток печінки проводять шляхом перетискання судинного пучка, що містить порталну вену і гілки печінкової артерії, атравматичним капілярним затискачем протягом 45 хв. Наприкінці експериментальної ішемії судинний затискач знімають і спостерігають за відновленням реперфузії, яка триває зазвичай 2 год. Матеріал - сироватку крові і тканину печінки беруть на біохімічні та морфологічні дослідження. Результати оцінюють за показниками активності печінкових ферментів, а саме АлАТ, АсАТ; показників перекисного окиснення ліпідів - гідроперексидів ліпідів (ГПЛ), ТБК - активних продуктів (ТБП); антиоксидантного захисту - активності супероксиддисмутази (СОД) та каталази; рівню відновленого глутатіону (GSH), вмісту нітриту (NO_2^-) і нітрату (NO_3^-) аніону в сироватці крові. За результатами порівнювання показників активності ферментів в контролі і досліді, даних гістологічного дослідження роблять висновки про ефективність превентивної профілактики реперфузійного ішемічного ураження печінки.

Приклад 1. Білому щуру-самцю масою 180 г L-аргінін вводили інтраперитонеально 3,5 мг один раз на добу впродовж 3 днів, третє введення здійснили за 10 хв. до моделювання реперфузійного ішемічного ураження печінки. Ішемію медіальної та лівої латеральної часток

печінки проводили шляхом перетискання судинного пучка, що містить портальну вену і гілки печінкової артерії протягом 45 хв. Далі кровотік відновлювали на 2 години, після чого тварину декапітували під кетаміновим наркозом, а матеріал - сироватку крові і тканину печінки взяли на біохімічні та морфологічні дослідження. Результати оцінювали за показниками активності печінкових ферментів: АлАТ, АсАТ; показників перекисного окиснення ліпідів - гідроперексидів ліпідів (ГПЛ), ТБК - активних продуктів (ТБП); антиоксидантного захисту - активності супероксиддисмутази (СОД) та каталази; рівню відновленого глутатіону (GSH), вмісту нітриту (NO_2^-) і нітрату (NO_3^-) аніону в сироватці крові. Висновки про ефективність превентивної профілактики реперфузійного ішемічного ураження печінки робили за результатами порівнювання показників активності ферментів у контрольних і дослідних тварин.

Приклад 2. За запропонованим способом провели оцінку впливу L-аргініну на функціональний стан печінки в експерименті на 18 тваринах (по 6 у кожній групі). Результати наведені в таблиці.

Таблиця

Біохімічні показники контрольної та експериментальних груп тварин

Серії дослідів	Контрольна група	Ішемія-реперфузія печінки	Аргінін+Ішемія-реперфузія печінки
АлАТ, (ммоль/год. х л)	0,44±0,10	2,35±0,09 $p<0,001$	1,10±0,09 $p_1<0,001$
АсАТ, (ммоль/год. х л)	1,63±0,12	4,27±0,37 $p<0,001$	2,83±0,20 $p_1<0,001$
КАТ, кат/кг	4,47±0,12	2,87±0,27 $p<0,0025$	3,21±0,2 $p_1<0,05$
СОД, ум.од/кг	5,61±0,25	2,16±0,16 $p<0,001$	3,59±0,08 $p<0,05$
ГПЛ, ум.од. /кг	3,53±0,29	6,10±0,26 $p<0,001$	4,93±0,18 $p_1<0,05$
ТБК (печ.), мкмоль/кг	3,04±0,12	5,18±0,33 $p<0,002$	3,66±0,07 $p_1<0,005$
GSH, ммоль/кг	4,07±0,09	2,82±0,04 $p<0,005$	3,84±0,19 $p_1<0,01$
NO_2^- (сир.), мкмоль/л	1,62±0,08	0,78±0,06 $p<0,001$	2,84±0,07 $p_1<0,002$
NO_3^- (сир.), мкмоль/л	10,18±0,42	9,90±0,46 $p>0,05$	2,84±0,07 $p_1<0,002$

Примітка, p - рівень значущості відносно контролю, p_1 - відносно ураження

Із наведених у таблиці даних видно, що попереднє повторне введення попередника NO L-аргініну сприяло покращанню функціонального стану печінки. Активність ферментів цитолізу АлАТ, АсАТ була вірогідно нижчою, ніж за умов ураження. Рівень продуктів ПОЛ (ГПЛ та ТБК) у печінці знижувався в порівнянні з ураженням. Рівень GSH зростав у 1,36 рази. Активність антиоксидантних ферментів КАТ та СОД підвищувався на 23 % та 54 %. Рівень NO_2^- та NO_3^- зростав відповідно в 3 та 1,3 рази.

Про досягнення позитивного коригуючого впливу L-аргініну на печінку за умов її ішемічно-реперфузійного ураження свідчать дані морфологічного дослідження. При гістологічному дослідженні тканини печінки у тварин, яким моделювали ішемію-реперфузію виявлено, що структура печінкової часточки була збереженою частково. Центральні вени помірно розширювались, містили невелику кількість еритроцитів. Синусоїди контурувались слабо. Дистрофічні зміни в гепатоцитах проявлялися в дифузній формі, поширюючись на всю дольку печінки. Гідропічна дистрофія, яка трансформувалась у балонну, переважала у центролобулярно розміщених гепатоцитах. Ядра клітин переважно зменшувались у розмірі, пікнотично зморщувались, що проявлялось конденсацією хроматину. Подекуди вказані зміни поєднувалися із некрозом клітин, в інших місцях спостерігалися поля некрозу (фіг. 1).

При гістологічному дослідженні тканини печінки тварин на фоні попереднього введення препарату L-аргініну та наступному моделюванні ішемії-реперфузії виявлено збереженість трабекулярної структури печінкової часточки (фіг. 2.). Центральні вени розширені, без вмісту

еритроцитів. Синусоїди були дещо розширеними і вільними від еритроцитів. Жовчні протоки порталних трактів розширені, без ознак холестазу. При світлооптичному дослідженні центролобулярні гепатоцити були звичайної форми, цитоплазма насиченого кольору, клітини містили чітко окреслені ядра. Гепатоцити центральної частини печінкової часточки представлені

5 крупними клітинами з дрібнозернистою цитоплазмою.

Таким чином, попереднє перед ішемією застосування L-аргініну впливає на метаболічні процеси у гепатоцитах, сприяє нормалізації показників прооксидантно-антиоксидантної системи, зменшує прояви цитолізу, попереджує пошкодження та сприяє регенерації тканини печінки на

10 фоні ішемічно-реперфузійного ушкодження. Отже запропонований спосіб превентивної профілактики ішемічного ураження печінки забезпечує вищу, ніж за відомим способом-прототипом, лікувальну ефективність при ішемії-реперфузії печінки, що може бути використано у подальшій його інноваційній реалізації.

Джерела інформації:

1. Ткач Є. П. Ішемічна хвороба органів травлення: патогенетичне підґрунтя превентивної

15 фармакотерапії / Є. П. Ткач // Рациональна фармакотерапія.-2008.-№ 4.-С. 85-88.
2. Ярошенко И. Ф. Патогенез ишемии-реперфузии (обзор литературы) / И. Ф. Ярошенко, Т. Ю. Каланчина // Бюл. Волгоградского науч. центра РАМН.-2006. -№ 1.-С. 29-34.

3. Беленічев І. Ф. Роль оксиду азоту в регулюванні фізіологічних функцій у нормі та при ішемічній патології / І. Ф. Беленічев, В. А. Дмитряков, О. О. Беляева // Військова медицина

20 України - 2002.- Т. 2, № 3. - С. 48-52.
4. Аргинин в медицинской практике (обзор литературы) / Ю. М. Степанов, И. Н. Кононов, А. И. Журбина [та ін.] // Журн. АМН України.-2004. -Т. 10, № 1.-С. 340-352.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

25 Спосіб превентивної профілактики ішемічного ураження печінки, що включає призначення лікарських засобів - модуляторів синтезу оксиду азоту, який **відрізняється** тим, що призначають водний розчин L-аргініну інтраперитонеально один раз на день впродовж 3 діб у дозі 25 мг/кг, причому третє введення здійснюють за 10 хвилин до формування ішемічної

30 реперфузії.

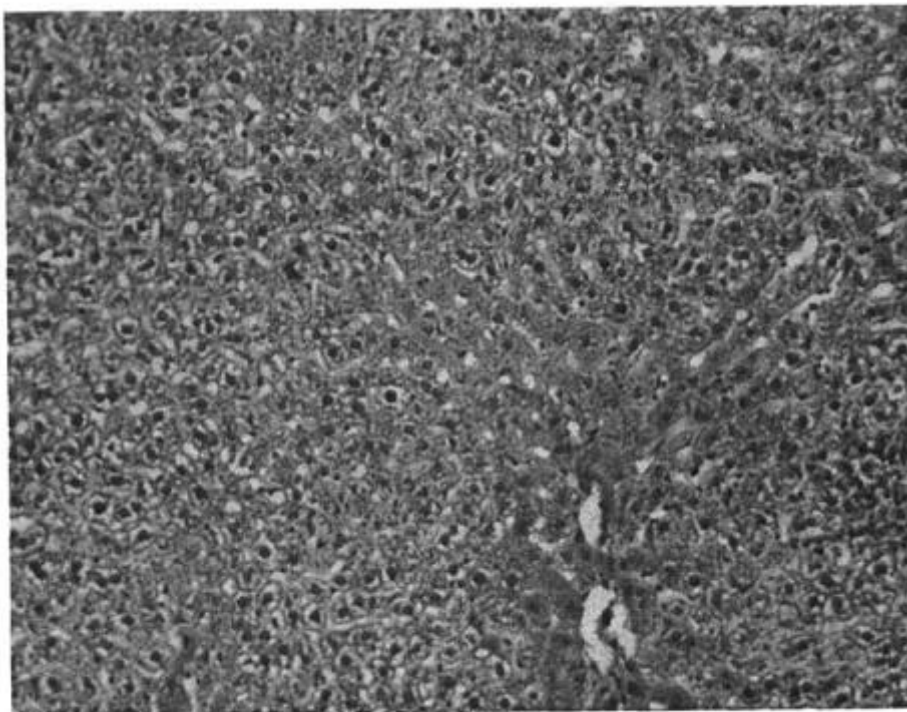


Fig. 1

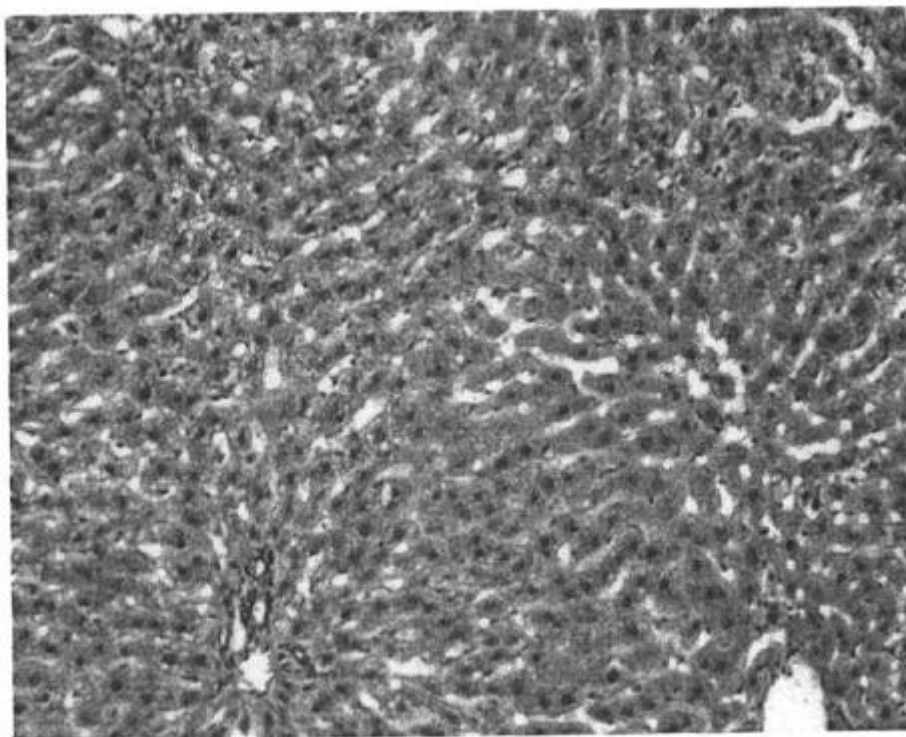


Fig. 2

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

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