



УКРАЇНА

(19) UA (11) 20924 (13) U
(51) МПК (2007)
A61P 37/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПОКРАЩЕННЯ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ ЕПІТАЛАМІНОМ

1

(21) u200609657

(22) 08.09.2006

(24) 15.02.2007

(46) 15.02.2007, Бюл. № 2, 2007 р.

(72) Пішак Василь Павлович, Захарчук Олександр
Іванович, Пішак Ольга Василівна, Магалаєс Віктор
Миколайович, Висоцька Віолетта Георгіївна

2

(73) Магалаєс Віктор Миколайович

(57) Спосіб покращення клітинного імунітету епіта-
ламіном здійснюється за допомогою введення
тваринам внутрішньом'язово 1,0мг/кг маси тіла
епіталаміну на 1 добу для активації реакції клітин-
ного імунітету.

Корисна модель відноситься до галузі медицини, а саме до патологічної фізіології, імунології і може бути використана у науково-практичній діяльності та при виконанні дослідної роботи.

Епіталамін - комплекс фізіологічне активних речовин поліпептидної природи, виділених із епіталамо-епіфізарної ділянки мозку великої рогатої худоби, з молекулярною масою 1000-1200 [Анисимов В.Н., Морозов В.С., Хавинсон В.Х. Увеличение продолжительности жизни и снижение частоты опухолей у мышей с 3 H/Sp под влиянием полипептидных факторов тимуса и эпифиза. - ДАН. - 1982. -Т.263, №3. - С.742-745; Анисимов В.Н., Морозов В.С., Хавинсон В.Х., Дильман В.М. Сопоставление противоопухолевой активности экстрактов эпифиза, гипоталамуса, мелатонина и серотонина у мышей с перевивочным раком молочной железы. - 1973. - №10, -99-101].

Це ліофілізований стерильний порошок білого кольору, легко розчинний у воді. Інструкція клінічного вивчення епіталаміну затверджена Фармакологічним комітетом 11 листопада 1978 р. крім мелатоніноподібної дії, епіталамін має цитостатичний ефект, гальмує ріст раку молочної залози, асцитних пухлин клітин саркоми - 37, відновлює центральну регуляцію репродуктивної системи на рівні гіпоталамуса, нормалізує циклічність виділення ФСТ та ЛГ, зменшує синтез СТГ та вміст циклу в крові [В.И.Анисимов и соавт., 1973].

Щодобове введення в дозі 2мг епіталаміну гальмувало ріст щепленого дрібноальвеолярного раку молочної залози (штам РСМ) на 76-88%, раку шийки матки (штам SCC) на 55-87%, гепатоми 22А на 31-51%. Ця доза препарату продовжувала тривалість життя мишам з внутрішньом'язово інюльованим лімфолейкозом ЛІО-1. Епіталамін зни-

жував на 45% щеплюваність клітин асцитної карциноми Ерліка, зменшував об'єм асцитичної рідини, значно підсилював протипухлинний ефект циклофосфату на ріст плоскоклітинного раку шийки матки у мишей. Щодобові ін'єкції 0,5мг епіталаміну істотно гальмували бластоомогенез індукований - 7,12 -диметилбенз(а) антраценом.

Хронічне введення препарату щурам в дозах 0,1мг і 0,5мг продовжувало тривалість життя тварин пропорційно дозі: на 10% і 25% відповідно. Через 100 діб в контролі частота спонтанних новоутворень складала 69%, а при введенні 0,5мг епіталаміну - 37% [Dilman V.M., Anisimov V.N., Ostroymova M.N. et al. Increase in lifespan of rats following polypeptide pineal extract treatment. - Exp. Path. - 1979. -В.17, Н.9.-Р.539-545].

Тривале введення епіталаміну самкам мишей лінії С 3Н/Sp, починаючи з 3,5міс. віку по 5 діб щомісячно підшкірно в дозі 0,5мг до фізіологічної смерті, продовжувало на 31% середню тривалість життя тварин. Епіталамін в 2,5 рази зменшував відносну частоту виникнення новоутворень, особливо аденокарцином молочної залози.

Встановлено, що між 5-9міс. життя клітинний імунітет у контрольних мишей за реакцією бласто-трансформації лімфоцитів з ФГА знижувалася в 2,5 рази. Цей показник зростав після ін'єкції епіталаміну, у віці 9міс. був на 143% вищим, ніж у контрольних тварин.

Отже, тривале введення епіталаміну затримує вікове зниження клітинного імунітету, що має виняткове значення в протипухлинному механізмі впливу епіталаміну [Анисимов В.Н., Морозов В.С., Хавинсон В.Х. Увеличение продолжительности жизни и снижение частоты опухолей у мышей с 3 H/Sp под влиянием полипептидных факторов ти-

(19) UA (11) 20924 (13) U

муса и эпифиза. - ДАН. -1982. -Т.263, №3. -С.742-745].

Епіталамін активує реакції клітинного імунітету. Одноразове введення його викликає дозозалежне підвищення ($p < 0,05$) титру тимічного сироваткового фактора (табл. 1). При цьому значення цього показника у мишей, які отримували 0,1; 0,5 і 1,0 мг препарату, а також 0,9% розчин хлориду натрію, складала $3,15 \pm 0,16$, $4,65 \pm 0,25$, $6,47 \pm 0,21$ і $3,66 \pm 0,24$ відповідно.

Моделювання гіперфункції шишкоподібного тіла шляхом введення епіталаміну підсилює функціональну активність більшості імунологічних показників.

У мишей після ін'єкції епіталаміну (0,5мг) збільшується відносна маса тимуса і селезінки, а також їх клітинність. Зі збільшенням дози препарату (1,0мг) зазначені показники зменшуються до контрольних величин.

Одноразова ін'єкція епіталаміну (1мг/кг) здоровим мишам значно знижує цАМФ в тимусі ($77,8 \pm 11,2$ пмоль/г) порівняно з контролем ($138,4 \pm 17,9$ пмоль/г) [Васильєв Н.В. О некоторых иммунологических перспективах адаптационного процесса // Бюлл. Сиб. отд. АМН СССР. - 1986. - №3. - С.21-28].

Введення епіталаміну хворій на рак молочної залози сприяло покращенню кількісних і функціональних показників клітинного імунітету (збільшення числа Т-лімфоцитів, підсилення реакції бластотрансформації лімфоцитів на ФГА і шкірної реакції на ДНХБ) [Дильман В.М. Улучшение показателей клеточного иммунитета под влиянием полипептидного эпизарного экстракта (эпителина) // Вопр. онкол., -1977.-№6.-С.7-9].

Л.І.Декстер та співавтори (1979) довели, що після ін'єкції епіталаміну на протязі 10 діб 25 хворим на плоскоклітинний рак шийки матки у 20 істотно збільшилася відносно і абсолютна кількість Т-лімфоцитів. Нормалізація показників клітинного імунітету узгоджувалася з покращенням самопочуття (зменшення болю) і зменшенням кровоточивості пухлини.

Р.С.Ксерлов та співавтори (1985) провели серію досліджень щодо впливу епіталаміну на клітинний імунітет у 172 онкологічних хворих. Хворим (284 чол.) із стійкою лейкопенією епіталамін вводили по 10-20мг щодобово на протязі 10-15 діб (100-300мг на курс). Після лікування майже в 2 рази зросла кількість лімфоцитів, Т-лімфоцитів і В-лімфоцитів (табл. 2). У хворих під час лікування епіталаміном підвищився м'язевий тонус, покращився апетит.

У II групі (25 чол.) де різка лейкопенія не дозволила провести повний курс хіміотерапії, епіталамін застосовували по 10мг двічі на добу протягом 15-20 діб (300-400мг на курс) на фоні хіміотерапії. Отримані результати наведені у табл.3.

Однчасне застосування епіталаміну і хіміотерапії не супроводжувалося зменшенням кількості лейкоцитів і лімфоцитів. Через 20 діб показники імунітету залишилися стабільними. Крім цього встановлені зменшення явищ інтоксикації.

Цього не вдалося досягнути за умов застосування однієї хіміотерапії.

В III групі хворих (164 чол.) епіталамін призначали на фоні променевої терапії. Застосування епіталаміну попереджувало зменшення показників імунітету. Через 30 діб після курсу променевої терапії і епіталаміну практично всі показники мали тенденцію до відновлення.

У групі хворих, яким епіталамін призначається після хіміотерапії (табл. 4), зростала кількість лейкоцитів, лімфоцитів і їх субпопуляції, особливо Т-лімфоцитів. через 30 діб всі показники практично нормалізувалися.

Імунологічне обстеження групи хворих, які отримували від 6 до 10 курсів (по 2 курси на рік з інтервалом 6міс.) епіталаміну показало, що після першою курсу вірогідно зростає кількість лімфоцитів, Т-лімфоцитів, "активних" Т-лімфоцитів. При наступних дослідженнях імунологічні показники нормалізувалися. Через 2 роки мала місце тільки тенденція до їх зниження. Клінічне обстеження показало добрий стан хворих, клінічних рецидивів і метастазів не виявлено.

У групі хворих на операбельні форми раку епіталамін сприяє зменшенню інтоксикації, змінював температуру тіла, покращував самопочуття хворих зменшував болі в ділянці первинного вогнища пухлини і в області метастазів.

Покращення наставало через 3-4 ін'єкції епіталаміном і зберігалось від 2 до 4 тижнів, а потім симптоми інтоксикації зростало. Це вимагало повторних ін'єкцій епіталаміном. Не виявлено побічних негативних впливів та алергічних реакцій при застосуванні клітинного імунітету, позитивна динаміка загальної протипухлинної резистентності після застосування епіталаміну - свідчення причетності шишкоподібного тіла до реакцій імунного захисту організму.

Отримано нові докази ролі біологічних активних факторів шишкоподібного тіла у функціонуванні імунної системи, що проявляється на різних рівнях її організації: клітинному, системному та на рівні цілісного організму.

Вище проведені дослідження є основою для способу покращення клітинного імунітету епіталаміном.

Мета корисної моделі.

Розробити спосіб покращення клітинного імунітету епіталаміном.

Поставлена мета досягається тим, що тваринам внутрішньом'язово вводили епіталамін в дозі 1,0мг/кг маси тіла на 1 добу, який активує реакцію клітинного імунітету.

Технічне рішення: спосіб покращення клітинного імунітету епіталаміном здійснюється за допомогою введення тваринам внутрішньом'язово 1,0мг/кг маси тіла епіталаміну на 1 добу для покращення клітинного імунітету.

Суть даного способу заключається в тому, що спосіб покращення клітинного імунітету епіталаміном необхідний для активації реакції клітинного імунітету.

Спосіб покращення клітинного імунітету епіталаміном необхідний для активації реакції клітинного імунітету.

Відповідність критерію "новизна" даного способу полягає в тому, що вперше використовується

епіталамін в якості способу активації реакції клітинного імунітету.

Відповідність критерію "суттєві відмінності" даного способу полягають у тому, що на основі багатьох досліджень нами запропонований спосіб покращення клітинного імунітету епіталаміном, який необхідний для активації реакції клітинного імунітету.

Відповідність даного винаходу критерію "позитивний ефект" забезпечується результатами експериментальних досліджень, які засвідчують ефективність покращення активації реакції клітинного імунітету тварин.

Література:

1. Анисимов В.Н., Морозов В.С., Хавинсон В.Х. Увеличение продолжительности жизни и снижение частоты опухолей у мышей с 3 H/Sp под влиянием полипептидных факторов тимуса и эпифиза. - ДАН. - 1982. - Т.263, №3. -С.742-745.

2. Анисимов В.Н., Морозов В.С., Хавинсон В.Х., Дильман В.М. Сопоставление противоопухолевой активности экстрактов эпифиза, гипоталамуса, мелатонина и серотонина у мышей с перививочным раком молочной железы. -1973.-№10.-99-101.

3. Васильев Н.В. О некоторых иммунологических перспективаспектах адаптационного процесса // Бюлл. Сиб. отд. АМН СССР. - 1986. - №3. - С.21-28.

4. Dilman V.M., Anisimov V.N., Ostroumova M.N. et al. Increase in lifespan of rats following polypeptide pineal extract treatment. - Exp. Path. - 1979. - В.17, Н.9. -Р.539-545.

5. Дильман В.М. Улучшение показателей клеточного иммунитета под влиянием полипептидного эпизарного экстракта (эпипаламина) // Вопр. онкол., -1977.-№6.-С.7-9.

Таблиця 1

Вплив гіпер (А)-і гіпо (Б)- функції епіфіза на стан Імунної системи у мишей (Мзм) (за І.Ф.Лабунець, Г.М.Бутенко, 1993)*

Варіант дослід (група тварин)	Число тварин	Тимусний індекс	Селезінковий індекс	Загальна клітинність, 1 ¹⁰ лімфоцитів		Вміст речовин з тимозино-подібною активністю, log титру
				тимуса	селезінки	
А. Осліплені тварини	8	1,26±0,085	3,19±0,25	33,65±4,68*	88,5±9,99	3,19±0,53*
Інтактні тварини (контроль)	8	1,32±0,17	3,20±0,24	20,5±3,18	90,7±10,22	7,73±0,40
Введення епіталаміну:						
0,1мг	10	1,91±0,17	4,29±0,35	7,20±3,08	---	---
0,5мг	10	2,24±0,075*	5,30±0,26*	78,15±5,41	110,6±5,93*	---
1,0мг	10	2,13±0,11	4,30±0,30 ^	65,71±4,65 ^	82,05±3,89* ^	4,07±0,62*
0,9% р-н NaCl (контроль)	10	1,92±0,096	4,20±0,17	79,06±15,15	94,0±4,38	1,0±0,3
Б. Введення анаприліну	8	0,89±0,092	3,54±0,36	22,42±0,38	78,01±10,98	0,17±0,05*
0,9% р-н NaCl (контроль)	8	0,95±0,041	3,43±0,27	24,51±3,85	75,33±7,40	1,75±0,5

Примітка:

* - різниця між показниками контрольних і дослідних тварин в межах кожної експериментальної групи, достовірна (P<0,05);

- різниця між показниками у мишей, що отримали мінімальну дозу препарату, достовірна (P < 0,05);

^ - різниця між показниками у мишей, що отримали середню і максимальну дози препарату, достовірна (P<0,05)

^

Таблиця 2

Показники імунологічної реактивності у хворих 1 групи з стійкою лейкоїміао (-10⁹/л) (за Р.С.Карпов и соавт., 1985)

Показники	Норма	До лікування	Після лікування епіталаміном
Лейкоцити	5,9±0,2	3,1±0,3	4,6±0,4
Лімфоцити	2,0±0,06	0,7±0,1	1,3±0,2*
Т-лімфоцити	1,1±0,05	0,3±0,05	0,6±0,07*
Активні Т-лімфоцити	0,6±0,04	0,2±0,03	0,3±0,05
В-лімфоцити	0,5±0,04	0,2±0,04	0,5±0,06*
О-лімфоцити	0,4±0,03	0,2±0,04	0,3±0,07

Примітка:

* - статично вірогідні показники порівняно з показниками до лікування (P<0,05)

Таблиці 3

Показники імунологічної реактивності у хворих II групи
(в процесі проведення хіміотерапії) ($10^9/\text{л}$) (за: Р.С.Карпов и соавт., 1985)

Показники	До лікування	Після лікування епіталаміном	Через 20 дів після закінчення лікування епіталаміном
Лейкоцити	5,4±0,7	4,4±0,6	4,9±0,9
Лімфоцити	1,7±0,3	1,4±0,2	1,6±0,3
T-лімфоцити	0,7±0,1	0,5±0,08	0,6±0,07
Активні T-лімфоцити	0,4±0,06	0,2±0,03*	0,3±0,03
B-лімфоцити	0,5±0,06	0,4±0,05	0,4±0,05
O-лімфоцити	0,4±0,07	0,5±0,07	0,5±0,09

Примітка:

* - статистично вірогідні зміни щодо показників до лікування ($P<0,05$)

Таблиці 4

Показники імунологічної реактивності у хворих III групи
(після проведення хіміотерапії) ($10^9/\text{л}$) (за: Р.С.Карпов и соавт., 1985)

Показники	До лікування	Після лікування епіталаміном	Через 30 дів після лікування епіталаміном
Лейкоцити	3,1±0,4	4,9±0,6	5,3±0,5
Лімфоцити	0,8±0,07	1,4±0,08*	1,7±0,2
T-лімфоцити	0,3±0,03	0,8±0,06*	1,0±0,09
Активні T-лімфоцити	0,2±0,01	0,3±0,03	0,5±0,04
B-лімфоцити	0,3±0,04	0,4±0,02	0,4±0,05
O-лімфоцити	0,2±0,02	0,2±0,01	0,3±0,02

Примітка:

* - вірогідні зміни щодо показників до лікувати ($P<0,05$)