



(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)
A61M 37/00 (2006.01)
A61K 35/48 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 41/00 (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011107690/14, 28.02.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 28.02.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 28.02.2011

(45) Опубликовано: 10.07.2012 Бюл. № 19

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **ДИМОВ П.Г. Влияние трансплантации фетальных тканей на репаративные процессы при экспериментальном циррозе печени. - Бюл. эксперим. биологии и медицины, 2000, т.130, №8, с.216-219. RU 2239398 C2, 10.11.2004. RU 2272638 C1, 27.03.2006. RU 2368384 C2, 27.09.2009. EA 14296 B1, 29.10.2010. CN 101469322 A, 01.07.2009. KR 2009065720 A, 23.06.2009. (см. прод.)**

Адрес для переписки:

660022, г.Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1, КрасГМУ, патентный отдел

(72) Автор(ы):

**Дударев Вадим Александрович (RU),
 Киргизов Игорь Витальевич (RU),
 Якимова Светлана Ивановна (RU),
 Фокин Дмитрий Владимирович (RU),
 Воробьева Евгения Леонидовна (RU),
 Складнева Валерия Олеговна (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации" (RU)

(54) СПОСОБ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ФИБРОЗНЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к хирургии и гепатологии, и касается стимуляции регенерации печени при фиброзных изменениях различного генеза. Для этого в условиях создания модели цирроза печени в эксперименте с помощью иглы-инжектора в ткань печени вводят препарат «EMBRYOBLASTE» на глубину до 0,1 см. Введение осуществляют по передней поверхности печени в каждую долю печени по 2 инъекции до образования папулы. Объем

одной инъекции составляет 0,3 мл. Способ обеспечивает снижение фиброзного перерождения ткани печени посредством усиления пролиферации клеток печени и резорбции внеклеточного матрикса, при уменьшении степени выраженности веноулярного и перипортального фиброза, уменьшении гемо- и лимфостаза, восстановлении капилляризации синусоидов печени без нарушения клеточной архитектоники органа. 4 табл., 1 пр.

(56) (продолжение):

US 20050142121 A1, 30.06.2005. KIM TH, et al. Tracking of transplanted mesenchymal stem cells labeled with fluorescent magnetic nanoparticle in liver cirrhosis rat model with 3-T MRI. Magn Reson Imaging. 2010 Sep; 28 (7): 1004-13. CHEN Z, et al. Stem cells and hepatic cirrhosis Panminerva Med. 2010 Jun; 52 (2): 149-65.

RU 2 4 5 5 7 0 1 C 1

RU 2 4 5 5 7 0 1 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
G09B 23/28 (2006.01)
A61M 37/00 (2006.01)
A61K 35/48 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 41/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2011107690/14, 28.02.2011

(24) Effective date for property rights:
28.02.2011

Priority:

(22) Date of filing: 28.02.2011

(45) Date of publication: 10.07.2012 Bull. 19

Mail address:

660022, g.Krasnojarsk, ul. Partizana Zheleznjaka,
1, KrasGMU, patentnyj otdel

(72) Inventor(s):

Dudarev Vadim Aleksandrovich (RU),
Kirgizov Igor' Vital'evich (RU),
Jakimova Svetlana Ivanovna (RU),
Fokin Dmitrij Vladimirovich (RU),
Vorob'eva Evgenija Leonidovna (RU),
Skladneva Valerija Olegovna (RU)

(73) Proprietor(s):

Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie
vysshego professional'nogo obrazovanija
"Krasnojarskij gosudarstvennyj meditsinskij
universitet imeni professora V.F. Vojno-
Jasenetskogo Ministerstva zdravookhraneniya i
sotsial'nogo razvitija Rossijskoj Federatsii" (RU)

(54) METHOD FOR STIMULATING LIVER REGENERATION IN FIBROTIC CHANGES IN EXPERIMENT

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: under the conditions of modelling cirrhosis in experiment, the preparation EMBRYOBLASTE is introduced in liver tissue by means of an injector needle at the depth up to 0.1 cm. The preparation is introduced along a front surface of the liver, 2 injections in each lobe of the liver to form a papula. The volume of one injection makes 0.3 ml.

EFFECT: reduced fibrotic regeneration of liver tissue by means of intensifying liver cell proliferation and extracellular matrix resorption with reducing a degree of manifestation of venular and periportal fibrosis, reducing haemo- and lymphostasis, regenerating capillarisation of liver sinusoids without affecting cell architectonics of the organs.

4 tbl, 1 ex

Изобретение относится к медицине, а именно к хирургии: к способу стимуляции регенерации печени при фиброзных изменениях в ткани печени различного генеза.

Известен способ лечения фиброзных изменений при хронических гепатитах и циррозах печени за счет медикаментозной стимуляции регенерации печени. До
5 операции экспериментальным животным вводили «Тамерит», относящийся к группе иммуномодуляторов, в дозе 2 мг/кг [1]. Также известна стимуляция препаратом «Мексидол» - синтетический антигипоксанта с мембраностабилизирующими свойствами [2].

10 Данный способ имеет ряд недостатков:

1) низкий эффект вследствие малого накопления препарата в печени, из-за наличия нарушений тканевого кровообращения, свойственных хроническим гепатитам и циррозам;

15 2) недостаточная биодоступность препаратов для ткани печени, так как препарат не вводили интрапаренхиматозно;

3) отсутствие значимых положительных морфологических признаков регенерации.

Наиболее близким по технической сущности является способ стимуляции регенераторных процессов в печени электрокоагуляцией [3].

20 Но и этот способ имеют ряд недостатков:

1) не оказывает стимулирующее действие на метаболическую активность гепатоцитов, что в условиях нарушения метаболизма при ХГ и ЦП не дает возможности адекватной регенерации печеночной ткани;

25 2) механическое повреждение без медикаментозной коррекции функции гепатоцитов не приводит к полному восстановлению архитектоники органа в зоне воздействия.

Задачей предлагаемого способа является снижение фиброзного перерождения в ткани печени посредством усиления пролиферации клеток печени и резорбции внеклеточного матрикса.

30 Поставленную задачу достигают за счет того, что лапароскопически с помощью иглы-инжектора вводят препарат «EMBRYOBLASTE» на глубину до 0,1 см по передней поверхности печени в каждую долю по 2 инъекции до образования папулы, объем одной инъекции 0,3 мл.

Способ осуществляют следующим образом.

35 Экспериментальным животным (беспородным собакам весом 7-10 кг) цирроз моделировали путем подкожного введения 50% раствора четыреххлористого углерода (CCl₄) на растительном масле, в дозе 0,4 мл на 100 г массы животного, 2 раза в неделю в течение 4 недель [4], с последующим забором морфологического материала.

40 На 60-е сутки беспородным собакам весом 7-10 кг лапароскопически с помощью иглы-инжектора вводили препарат «EMBRYOBLASTE» на глубину до 0,1 см по передней поверхности печени в каждую долю (1, 2, 3, 4, 5 доли) по 2 инъекции до образования папулы, объем одной инъекции 0,3 мл.

45 Эксперимент проводили на 15 беспородных собаках весом от 7 до 10 кг. Сроки наблюдения составили 10, 30 и 60 дней. Все собаки были разделены на три группы по 5 собак в каждой: контрольную группу составили собаки без изменений в ткани печени, в I исследуемую группу включены собаки с моделированным циррозом печени без стимуляции регенерации, II исследуемая группа представлена собаками с
50 моделированным циррозом печени со стимуляцией регенерации печени препаратом «EMBRYOBLASTE».

Для оценки эффективности регенерации печеночной ткани изучена морфологическая картина стромально-паренхиматозных взаимоотношений печени

животных, в норме и после моделирования цирроза печени на 60 сутки от начала эксперимента (таблица 1).

5

Таблица 1		
Сравнительная оценка морфологических изменений в печени при моделированном циррозе печени у собак		
Объем, в %	Контрольная группа, n=5	Исследуемая группа I, n=5
Жировые клетки	2,49±0,49	15,33±0,47*
Содержание гликогена	76,02±2,21	11,83±0,22*
Волокна	11,22±0,31	38,21±0,36*
Гепатоциты	59,21±1,24	39,56±1,15*
Ацинусы	29,11±0,43	17,41±0,59*
Перипортальные тракты	6,02±0,42	16,31±0,29*
Примечание: *p<0,05 при сравнении с показателями до операции, где n - число экспериментальных животных в данной группе		

15 Сравнивая изменения, развившиеся у животных на 60-е сутки затравки, пришли к заключению: морфологическая картина ткани печени соответствует сформированному компенсированному циррозу. Из таблицы видно, что в ткани печени отмечено увеличение объема перипортальных трактов до 16,31±0,29% за счет
20 увеличения диаметра центральных вен и уменьшения диаметра портальных вен, что свидетельствует о внутрпеченочном венозном шунтировании, гемо- и лимфостазе. Преимущественно встречаются гепатоциты небольших размеров, объем их по сравнению с контрольной группой снижен до 39,56±1,15%, в то же время содержание жировых клеток увеличивается до 15,33±0,47% (умеренная жировая инфильтрация).
25 Содержание гликогена снижается до 11,83±0,22%. Наряду с дистрофически-воспалительной реакцией значительно увеличен объем волокон до 38,21±0,36% по сравнению с контрольной группой.

30 После проведения стимуляции регенерации печени препаратом «EMBRYOBLASTE» экспериментальная оценка эффективности стимуляции регенерации ткани печени проводилась в динамике на 10, 30 и 60 сутки после операции (таблицы 2, 3, 4).

35

Таблица 2			
Сравнительная оценка морфологических изменений в печени после проведения стимуляции регенерации на 10 сутки.			
Объем, в %	Контрольная группа, n=5	Исследуемая группа I, n=5	Исследуемая группа II, n=5
Жировые клетки	2,49±0,49	15,33±0,47*	12,33±0,24*
Гликоген	76,02±2,21	11,83±0,22*	28,42±0,36*
Волокна	11,22±0,31	38,21±0,36*	25,81±1,01*
Гепатоциты	59,21±1,24	39,56±1,15*	47,31±1,42*
Перипортальные тракты	6,02±0,42	16,31±0,29*	12,34±0,16*
Примечание: *p<0,05 при сравнении с показателями до операции, 40 где n - число экспериментальных животных в данной группе			

45 Из вышеприведенной таблицы видно, что уже на 10 сутки происходит снижение объема перипортальных трактов до 12,34±0,16% за счет снижения диаметра печеночных клеток. Объем гепатоцитов увеличился до 47,31±1,42%, а количество жировых клеток снизилось до 12,33±0,24%. Напротив, количество гликогена возрастает до 28,42±0,36%. А объем волокон снижается до 25,81±1,01%.

50

Таблица 3			
Сравнительная оценка морфологических изменений в печени после проведения стимуляции регенерации на 30 сутки			
Объем, в %	Контрольная группа, n=5	Исследуемая группа I, n=5	Исследуемая группа II, n=5
Жировые клетки	2,49±0,49	15,33±0,47*	8,41±0,14*
Гликоген	76,02±2,21	11,83±0,22*	59,51±1,25*
Волокна	11,22±0,31	38,21±0,36*	12,44±1,03*

Гепатоциты	59,21±1,24	39,56±1,15*	62,42±1,26*
Перипортальные тракты	6,02±0,42	16,31±0,29*	10,26±0,39*
Примечание: *p<0,05 при сравнении с показателями до операции, где n - число экспериментальных животных в данной группе			

5 На 30 сутки отмечаются выраженные компенсаторно-регенераторные процессы за счет продолжающегося увеличения объема гепатоцитов и, как следствие, кумулирование гликогена, удельный вес которого к 30 суткам составляет 59,51±1,25%. Количество жировых клеток составляет 8,41±0,14%. Объем волокон снижается до 12,44±1,03%.

Таблица 4			
Сравнительная оценка морфологических изменений в печени после проведения стимуляции регенерации на 60 сутки			
Объем, в %	Контрольная группа, n=5	Исследуемая группа I, n=5	Исследуемая группа II, n=5
Жировые клетки	2,49±0,49	15,33±0,47*	4,07±0,33*
Гликоген	76,02±2,21	11,83±0,22*	78,02±2,14*
Волокна	11,22±0,31	38,21±0,36*	7,54±0,81*
Гепатоциты	59,21±1,24	39,56±1,15*	65,32±0,98*
Перипортальные тракты	6,02±0,42	16,31±0,29*	5,94±0,23*
Примечание: *p<0,05 при сравнении с показателями до операции, где n - число экспериментальных животных в данной группе			

Из таблицы следует, что объем перипортальных трактов на 60-е сутки снижается до 5,94±0,23% также за счет снижения диаметра печеночных клеток, что способствует увеличению портального кровотока. Именно увеличение кровотока в системе внутрпеченочной микроциркуляции повышает проницаемость капилляров, уменьшается гемо- и лимфостаз, что важно для торможения фибриллогенеза и рассасывания соединительной ткани. К 60 суткам наблюдается увеличение объема гепатоцитов до 65,32±0,98%. Количество жировых клеток снижено до 4,07±0,33%. Гликоген имеет вид крупных зерен, распределенных по периферии клеток, и его чистый вес составляет 78,02±2,14%. Объем волокон уменьшился до 7,54±0,81%. Как следствие, уменьшается выраженность веноулярного и перипортального фиброза.

Таким образом, при морфологическом исследовании определяется стойкая регенераторная реакция ткани печени на экспериментальное воздействие, результатом которой является компенсаторная гипертрофия - увеличение количества гепатоцитов в единице площади по сравнению с нормой на 10-12% (и на 60-65% по сравнению с циррозом) и адекватное снижение концентрации элементов стромы.

Пример конкретного применения

40 Собаке весом 10 кг в течение 28 дней проводилось моделирование цирроза печени путем подкожного введения четыреххлористого углерода 50% масляного раствора. Через 60 дней под наркозом лапароскопически с помощью иглы-инжектора вводили препарат «EMBRYOBLASTE» на глубину до 0,1 см по передней поверхности печени в каждую долю по 2 инъекции до образования папулы, объем одной инъекции 0,3 мл.

45 При последующем морфологическом изучении отдельных препаратов на 10, 30 и 60 сутки, определяется пролиферация клеток в дольке печени, где отмечается увеличение диаметра гепатоцитов и выявляются многоядерные клетки. Повысилось содержание гликогена, происходит нормализация локального кровотока, что приводит к увеличению объема ткани печени в среднем на 10-12% по сравнению с показателями нормы и на 60-65% по сравнению с циррозом, преимущественно за счет снижения волокнистых структур ацинусов.

Предлагаемый способ позволяет:

- 1) проводить стимуляцию лапароскопически либо под контролем УЗИ;
2) получить достоверное увеличение объема гепатоцитов без нарушения клеточной архитектоники органа;
3) уменьшить степень выраженности веноулярного и перипортального фиброза, с
5 уменьшением внутрипеченочного гемо- и лимфостаза, а также восстановить капилляризацию синусоидов печени.

Список литературы

1. Абидов М.Т., Караулов А.В. // Тамерит в эксперименте и клинике. - М., 2002. -
10 С.22-23.
2. Н.Ф.Фарашук // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - №1. -
2006. - С.29-30.
3. Д.В.Усов. Регенерация печени и обратимость цирроза в клинической практике //
Вектор Бук ЛТД. - Тюмень. - 1993. - 380 с.
15 4. Ажунова Т.А., Николаев С.М. // Моделирование и фармакотерапия органов
пищеварения. Улан-Удэ, 1990. С.3-14.

Формула изобретения

20 Способ стимуляции регенерации печени при фиброзных изменениях в эксперименте,
включающий воздействие на ткань печени, отличающийся тем, что воздействие
осуществляют лапароскопически, с помощью иглы-инжектора вводят препарат
«EMBRYOBLASTE» на глубину до 0,1 см по передней поверхности печени в каждую
25 долю по 2 инъекции до образования папулы, объем одной инъекции 0,3 мл.

30

35

40

45

50