



УКРАЇНА

(19) UA (11) 20416 (13) A

(51) 6 A 61 K 35/60

ДЕРЖАВНЕ  
ПАТЕНТНЕ  
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ  
НА ВІНАХІДбез проведення експертизи по суті  
на підставі Постанови Верховної Ради України  
№ 3769-XII від 23 XII. 1993 рПублікується  
в редакції заявника

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ БРОНХО-ЛЕГЕНЕВОЇ СИСТЕМИ

1

2

(21) 96124819

(22) 24.12.96

(24) 15.07.97

(46) 27.02.98, Бюл. № 1

(47) 15.07.97

(72) Гаврисюк Володимир Костянтинович,  
Морозова Наталія Аронівна, Ячник Анатолій  
Іванович, Лещенко Сергій Іванович, Коржов  
Віталій Іванович, Осадчук Тетяна Вален-  
тинівна, Дзюблик Ярослав Олександрович,  
Морська Наталія Дмитрівна, Яхниця Тетяна  
Василівна(73) Інститут фтизіатрії і пульмонології ім.  
Ф.Г. Яновського Академії медичних наук Ук-  
раїни(57) Способ лечения воспалительных заболе-  
ваний бронхо-легочной системы путем вве-  
дения лекарственных веществ, отличаю-  
щийся тем, что вводят смесь омега-3  
полиненасыщенных жирных кислот в дозе  
0,1 мл/кг массы тела ежедневно перорально  
в течение 30 дней.

Изобретение относится к области меди-  
цины и может быть использовано в лечении  
воспалительных заболеваний бронхо-легоч-  
ной системы.

Заболевания воспалительной природы  
относятся к одним из наиболее распростра-  
ненных состояний в медицине и, в частно-  
сти, воспалительные заболевания бронхов и  
легких относятся к одним из наиболее рас-  
пространенных патологических состояний в  
пульмонологии.

Воспалительные заболевания бронхов и  
легких различаются как по причине возник-  
новения (инфекционный, физический, хими-  
ческий факторы), так и по тому, является ли  
синдром воспаления основополагающим,  
ведущим в клинике данного заболевания,  
либо осложнением течения процесса с иным  
механизмом патогенеза. Однако, во всех  
случаях в развитии заболевания имеют мес-

то воспалительные реакции, реализующие-  
ся в тканях бронхов и легких.

Наиболее типичными примерами воспа-  
лительных заболеваний бронхо-легочной си-  
стемы являются: различного происхождения  
пневмонии, бронхиты, туберкулез легких,  
абсцессы легких.

Даже в случае проведения адекватного  
этиотропного, целенаправленного антибак-  
териального лечения, ликвидация очага вос-  
паления зависит от множества  
привходящих, сложно поддающихся учету и  
оценке причин. Снижение эффективности  
защитных систем организма может приво-  
дить к тому, что воспалительные реакции в  
бронхах и легких приобретают характер за-  
тяжных, очаги воспаления резорбируются в  
неполной мере, и недостаточно подвергаясь  
обратному развитию, вызывают выражен-  
ную фибротизацию.

(19) UA (11) 20416 (13) A

По данным В.П.Сильвестрова, П.И.Федотова [Сильвестров В.П., Федотов П.И. Пневмония. — М., Медицина, 1987, — 248 с.], острая пневмония приобретает характер затяжной в 25-30% случаев.

Поэтому, чрезвычайно важным является поиск средств, обладающих противовоспалительной активностью, способных уменьшить степень воспалительной реакции в очаге и предотвратить развитие поствоспалительных осложнений.

Известно несколько классов веществ, способных снижать активность воспалительных реакций. К ним, прежде всего, относятся глюкокортикоиды (ГК) и нестероидные противовоспалительные вещества (НСПВ), оказывающие воздействие на метаболизм эйкозаноидов — биологически активных веществ, предшественниками которых являются полиненасыщенные жирные кислоты, преимущественно арахидоновая кислота (АК). Путем биохимических реакций с различными ферментами из АК образуются разные классы биоактивных веществ.

Так под воздействием фосфолипазы АК освобождается из фосфолипидов мембран клеток, затем под влиянием циклооксигеназы начинается синтез простагландинов и тромбоксанов различных серий, а при воздействии липооксигеназы — лейкотриенов. Простагландины оказывают полиморфное влияние на организм, в зависимости от своего вида. Это влияние может быть усиливающим воспаление, так и противовоспалительным. Тромбоксаны влияют на степень агрегации тромбоцитов и могут быть четко идентифицированы по их эффекту на уровень агрегации тромбоцитов. Лейкотриены же обладают однозначно эффектом усиления воспалительной реакции.

Известен способ лечения воспалительных заболеваний бронхо-легочной системы путем применения антибиотиков и глюкокортикоидов [Сильвестров В.П., Федотов П.И. Пневмония. — М., Медицина, 1987. — с. 203]

ГК оказывают противовоспалительное действие, прекращая синтез простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов путем ингибирования фосфолипазы, предупреждая высвобождение полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) из фосфолипидов мембран [Herbaczynska-Cedro K., Staczewska-Barczak J. Suppression of the release of prostaglandin-like substances by hydrocortisone in vivo // Prostaglandins. — 1977. — Vol.13, N. 3. — P. 517-531].

Однако применение ГК имеет целый ряд недостатков.

Во-первых, они небезопасны, так как могут вызывать ряд побочных эффектов, в том числе, симптомокомплекс Иценко — Кушинга (задержка натрия и воды в организме с возможным появлением отеков, усиление выведения калия, повышение артериального давления), гипергликемию вплоть до диабета (стероидный диабет), усиление выделения кальция и остеопороз, замедление процессов регенерации, обострение язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, изъязвление пищеварительного тракта, прободение нераспознанной язвы, геморрагический панкреатит, понижение сопротивляемости к инфекциям, повышение свертываемости крови с возможностью тромбообразования, появление лунообразного лица, ожирения, нарушений менструального цикла у женщин, появление угрей, иммунодепрессивное действие, снижение антителогенеза и др.

Возможны также нервные и психические нарушения: бессонница, возбуждение (с развитием в некоторых случаях психозов), эпилептиформные судороги, эйфория.

Во-вторых, при длительном приеме ГК могут вызывать угнетение коры надпочечников, вплоть до их атрофии, приводить к лекарственной зависимости, необходимости постоянного приема этих препаратов, несмотря на побочные эффекты.

В-третьих, резкое уменьшение дозы ГК или их отмена при развитии лекарственной зависимости может приводить к синдрому отмены, который может иметь фатальные последствия в виде резкого снижения артериального давления, бронхоспазма, кишечного расстройства.

Применение антибиотиков может вызывать аллергические реакции, приводить к снижению иммунобиологической защиты.

Известен также способ лечения воспалительных заболеваний бронхо-легочной системы путем использования антибиотиков и нестероидных противовоспалительных средств [Сильвестров В.П., Федотов П.И. Пневмония. — М.: Медицина, 1987. — С. 201].

Противовоспалительный эффект НСПВ связан с ингибированием фермента циклооксигеназы, в связи с чем уменьшается синтез простагландинов и тромбоксанов [Большая медицинская энциклопедия: В 30-ти т. / АМН СССР. Гл. ред. В.В.Петровский. — 3-е изд. — М.: Советская энциклопедия. — Т. 21. Преднизолон-растворимость, 1983, XXI, 163 с.].

Однако, во-первых, применение, особенно длительное, НСПВ может вызывать диспептические явления, из-за ulcerogonic эффекта (поражение слизистой оболоч-

ки желудка и двенадцатиперстной кишки), сопровождающегося повышением кровоточивости, могут возникать желудочные кровотечения.

Во-вторых, при длительном применении НСПВ существует возможность появления анемии, апластической лейкопении, что может приводить к летальному исходу. Это вынуждает систематически проводить анализы крови и кала на наличие крови при лечении НСПВ, что повышает как риск использования данной группы медикаментов, так и стоимость лечения.

В-третьих, при применении НСПВ могут наблюдаться аллергические реакции: бронхоспазм, ангионевротический отек, кожные реакции и т.д. Особенно высокий риск развития аллергических реакций на НСПВ наблюдается у лиц с непереносимостью препаратов пенициллинового ряда.

В-четвертых, из-за обилия возможных побочных реакций терапии, лечение НСПВ имеет большое количество ограничений и противопоказаний. Их не рекомендуется применять при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки в анамнезе, при портальной гипертензии, венозном застое (в связи с понижением резистентности слизистой оболочки желудка), при нарушениях свертывания крови. Их использование требует проведения контрольных лабораторных исследований за состоянием организма (анализы крови).

В-пятых, в связи с имеющимися экспериментальными данными о тератогенном действии НСПВ, не рекомендуется их прием женщинам в первый триместр беременности.

Использование же антибиотиков может приводить к развитию иммунодепрессии и аллергическим реакциям.

В связи с этим нами было предпринято изучение в качестве противовоспалительного средства принципиально иного класса веществ, которые однако реализуют свое действие в организме также путем влияния на обмен эйкозаноидов – смеси омега-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), содержащих С 20:5 эйкозопентаеновую (ЭПК) и докозгексаеновую С 22:6 (ДГК) кислоты. Их эффект обусловлен конкурентным взаимодействием с арахидоновой кислотой (АК) – основным источником синтеза простагландинов и лейкотриенов – важнейших медиаторов воспаления. В результате такого конкурирующего действия ферменты циклооксигеназа и липоксигеназа расходуются на метаболизм ЭПК и ДГК вместо АК, что приводит к выработке менее активных серий простагландинов и лейкотриенов и уменьшению активности воспалительной реакции

[Lee T.H., Hoover R.L. Williams J.D. et al. Effects of dietary enrichment with eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on in vitro neutrophil and monocyte leucotriene generation and neutrophil function // New Engl. Journ. Med. – 1985. – V. 312. – P. 1217-1224. Strasser T.H., Fisher S., Weber P.C. Leucotriene B 5 is formed in human neutrophils after dietary supplementation with eicosapentaenoic acid // Proc. Nat. Aca. Sci. USA – 1985. – V. 82. – P. 1540-1543]. При этом, побочные эффекты препарата не отмечаются так как его действие не обуславливается прерыванием метаболической цепи биологически активных веществ как при воздействии ГК и НСПВ.

Для лечения воспалительных заболеваний бронхо-легочной системы нами был использован препарат, представляющий собой смесь омега-3 полиненасыщенных жирных кислот, содержащую от 43% эйкозопентаеновой и докозгексаеновой кислот, который защищен патентом Украины на изобретение [Патент Украины № 7180 А, кл. А 61 К 35/60. Препарат для лечения и профилактики атерогенных дислипидотемий и состояний, сопровождающихся повышенной свертывающей способностью крови. /В.К.Гаврисюк, Ю.М.Золотов, В.И.Коржов, Л.А.Корнейчук, Т.В.Осадчук, Н.А.Морозова, А.Н.Алферов, Ю.И.Фещенко, А.И.Ячник, В.И.Чернышенко, В.Г.Тригубенко (Украина). – № 94032056; заявлено 28.03.94].

В основу изобретения поставлена задача усовершенствования способа лечения воспалительных заболеваний бронхо-легочной системы, в котором, путем применения препарата смеси омега-3 полиненасыщенных жирных кислот, содержащей в своем составе от 43% С 20:5 (эйкозопентаеновой) и С 22:6 (докозгексаеновой) кислот, достигается уменьшение воспалительной реакции и исключаются побочные эффекты лечения.

Поставленная задача решается тем, что в известном способе лечения воспалительных заболеваний бронхо-легочной системы путем введения лекарственных веществ, согласно изобретению, вводят смесь омега-3 ПНЖК в дозе 0,1 мл/кг массы тела ежедневно перорально в течение 30 дней.

Для исследования противовоспалительного эффекта омега-3 ПНЖК было предпринято изучение в эксперименте его воздействия на течение воспалительной реакции в бронхо-легочной ткани. Экспериментальному изучению смеси омега-3 ПНЖК было отдано предпочтение ввиду невозможности оценки его эффективности в клинических условиях как ввиду отсутствия

патогномоничных симптомов воспаления, так и сложности проведения оценки активности воспалительной реакции по этическим соображениям (необходимость повторных исследований у больных с применением небезопасных инвазивных методов диагностики, например, бронхоскопий, рентгенологических исследований).

С этой целью была изображена модель неспецифического воспалительного процесса в бронхо-легочной системе по М.А.Захарьевской, Н.Н.Аничкову (Захарьевская М.А., Аничков Н.Н. Об изменении легочной ткани при введении инородного тела в бронх. // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. — 1952. — № 6. — С. 62-67).

Преимуществом данной модели воспалительного процесса является вторичное присоединение инфекционного фактора, на фоне первичного раздражения слизистой оболочки трахео-бронхиального дерева, что приближает данную модель к формированию бронхита и пневмонии согласно современным представлениям.

Способ осуществляют следующим образом.

30 белым беспородным крысам весом 250-300 г под эфирным наркозом было произведено рассечение тканей передней поверхности шеи, туло отсекарирована трахея и после ее пункции иглой большого диаметра, в ее просвет был введен стерильный отрезок пластиковой нити (лески) диаметром 0,25 мм и длиной 2,5 см. С целью предотвращения откашливания чужеродного тела, нить закрепляли в ране путем подшивания к мышечному лоскуту. Рана ушивалась.

Оперированные животные были разделены на две группы. Обе группы экспериментальных животных содержались в одинаковых условиях вивария на одинаковом рационе питания, однако крысам 1 группы (15 крыс) исследуемый препарат не назначали, а крысам 2-й группы (15 крыс) в послеоперационном периоде препарат вводили ежедневно перорально в дозе 0,1 мл/кг массы тела в течение 30 дней.

Предварительно в эксперименте *in vitro* была определена доза препарата путем ее ступенчатого повышения. Изначально были определены пределы возможного воздействия препарата по данным литературы 0,05-0,15 мл/кг массы тела (Hay C.R.M., Durrer A.P., Sayvor R. // Lancet. — 1932. — V. 1, N 8389. — P. 1269-1272; Weber P.C., Fisher S. // Med. Biol. — 1984. — V. 62, N 2. — P. 129), что соответствует 2% концентрации омега-3 ПНЖК в крови, согласно определенной в серии экспериментов фармакодинамике данного препарата.

Затем в качестве известного и хорошо верифицируемого маркера действия препарата был избран уровень агрегации тромбоцитов. Выбор этого маркера активности препарата был обусловлен отсутствием унифицированных критериев оценки уровня воспалительной реакции лабораторного и патогномоничных тестов для ее идентификации при подборе доз *in vitro*.

Известно, что смесь омега-3 ПНЖК (Gryglewski R.J., Salmon J.A., Ulatura F.B. // Prostaglandins. — Vol. 18. — P. 453-478), при добавлении к плазме полностью ингибирует агрегацию тромбоцитов, вызванную аденозиндифосфатом (АДФ), в связи с продукцией из ЭПК и ДГК тромбоксанов серии А 3, не являющихся индукторами агрегации тромбоцитов, в отличие от тромбоксанов серии А 2, являющихся активными индукторами агрегации тромбоцитов и образующихся при метаболизме арахидоновой кислоты — обычного предшественника синтеза простагландинов, лейкотриенов и тромбоксанов, с которой вступают в конкурентные отношения за ферменты ЭПК и ДГК.

Исследование антиагрегатной активности смеси омега-3 ПНЖК с целью подбора его дозы для эксперимента на животных была проведена в плазме 11 пациентов с клинико-лабораторно определенным синдромом гиперкоагуляции по унифицированной методике, прилагаемой к агрегометру "Cronolog", Канада.

Во всех пробах, содержащих 0,1 мл и 0,15 мл смеси омега-3 ПНЖК наблюдалось уменьшение показателя агрегации даже при использовании высокой дозы индуктора АДФ. Кроме того отмечалось появление признаков дезагрегации тромбоцитов.

При этом существенной разницы по направленности и степени выраженности дезагрегационного эффекта между пробами с дозами смеси омега-3 ПНЖК 0,1 и 0,15 мл не было обнаружено.

В пробах же, содержащих 0,05 мл смеси омега-3 ПНЖК степень дезагрегационного эффекта была выражена слабее.

Суммируя результаты, был сделан вывод, что в пробах *in vitro* препарат смеси омега-3 ПНЖК в дозе 0,1 мл и 0,15 мл уменьшает агрегационную способность тромбоцитов. Ввиду отсутствия выраженной разницы в степени эффективности более высокой дозы, для эксперимента на модели бронхо-легочного воспалительного заболевания у крыс была избрана доза 0,1 мл/кг.

Сроки эксперимента заранее были ограничены 30-дневным наблюдением, после чего выжившие крысы забивались.

Через 30 дней все животные были забиты путем передозировки эфирного наркоза.

В результате случайной травматизации несколько крыс скончались до наступления контрольных сроков: 1 крыса из 1-й группы и 2 крысы из второй группы на 8-9 день и по две крысы каждой группы на 10-й день.

При морфологическом исследовании крыс, павших раньше срока были выявлены выраженные проявления пневмонии и гнойного бронхита у всех крыс обеих групп скончавшихся на 8-9 день. При этом отмечалась несколько меньшая распространенность гнойного воспаления у крыс 2-й группы. У крыс же, скончавшихся на 10-й день разница между особями разных групп была очевидной: если у крыс 1-й группы четко определялся распространенный гнойный бронхо-легочный воспалительный процесс, то у крыс 2-й группы воспалительная реакция носила ограниченный и негнойный характер.

При микроскопическом исследовании внутренних органов всех животных оценивался наличие пневмонии, гнойных процессов в легких, состояние бронхиального дерева.

Наличие пневмонии было зарегистрировано у 100% в 1 группе оперированных животных, в случае же приема смеси омега-3 ПНЖК (во 2 группе), воспаление легких наблюдалось в 63,6% случаев. Явления бронхита в 1 группе обнаруживались в 100% наблюдений. Крысы, которые принимали смесь омега-3 ПНЖК, болели бронхитом в 90,9% наблюдений. Воспалительные изменения в легких сопровождались гнойными осложнениями в первой группе в 30,0%, во второй эти явления наблюдались лишь в 18,2% случаев.

При микроскопическом исследовании тканей животных оценивался характер пневмонического процесса, толщина межальвеолярных перегородок и диаметр альвеол, в качестве показателей воздушности легких.

Так, в тканях легких животных первой группы, пневмонические очаги занимали бо-

лее значительную площадь, в них обнаруживались значительные безвоздушные поля с замещением паренхимы легких соединительнотканнми элементами. Фиброз распространялся на более удаленные участки легких, не пораженных воспалительным пневмоническим процессом. Большинство альвеол было заполнено экссудатом с большим количеством альвеолярных макрофагов. Однако, много бактериальных тел находились и вне макрофагов — имел место как заверченный, так и незавершенный фагоцитоз. Стенки альвеол были фибротизированы, набухшие, среднее значение их толщины составляло  $(0,026 \pm 0,11)$  мм. При этом их внутренний диаметр был  $(0,114 \pm 0,034)$  мм.

В тканях легких животных второй группы пневмонические очаги были ограничены, часто имели характер парабронхиальной очаговой инфильтрации. Степень экссудации при этом была незначительной, выпотевание наблюдалось не во всех альвеолах. Бактериальные тела находились только внутри макрофагов, что свидетельствовало об активности заверченного фагоцитоза.

Межальвеолярные перегородки были утолщены далеко не во всех случаях, фиброз наблюдался редко. Среднее значение толщины перегородок в этой группе было  $(0,010 \pm 0,006)$  мм, а внутренний их диаметр в среднем составлял  $(0,124 \pm 0,030)$  мм (см.таблицу).

Таким образом, достоверные изменения степени активности и характера воспалительной реакции в проведенных исследованиях свидетельствуют о том, что прием смеси омега-3 ПНЖК в дозе 0,1 мл/кг массы тела ежедневно перорально в течение 30 дней, предотвращает развитие воспаления в тканях легких (позволяет уменьшить их фибротизацию, повышает эффективность фагоцитоза), при этом не наблюдаются побочных эффектов, лечение упрощается ввиду отсутствия необходимости регулярного клиннко-лабораторного контроля лечения.

Результаты микроскопического исследования тканей легких экспериментальных животных  
( $M \pm m$ ,  $n = 15$ )

Группы	Диаметр перегородок (мм)	Диаметр альвеол (мм)
1 (оперированные)	$0,028 \pm 0,011$	$0,114 \pm 0,004$
2 (оперированные + омега-3 ПНЖК)	$0,010 \pm 0,006$	$0,124 \pm 0,030$

\* Разница между группами достоверная ( $p < 0,05$ ).

Упорядник

Техред М.Келемеш

Коректор Л.Лукач

Замовлення 4383

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,  
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101