

(19)



(10) **LT 4074 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patento numeris: **4074**

(51) Int. Cl.⁵: **A61K 35/12**
A61K 35/14
A61K 45/05

(21) Paraiškos numeris: **IP2071**

(22) Paraiškos padavimo data: **1994 12 23**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1996 07 25**

(45) Patento paskelbimo data: **1996 12 27**

(72) Išradėjas:

Aušra Dagelienė, LT
Rolandas Mikaliūnas, LT

(73) Patento savininkas:

Aušra Dagelienė, Viršuliškių g. 24-72, 2056 Vilnius, LT
Rolandas Mikaliūnas, Viršuliškių g. 15-29, 2056 Vilnius, LT

(74) Patentinis patikėtinis:

Nijolė Aliukaitė, 16, Patentinių paslaugų centras, UAB,
J. Basanavičiaus g. 11/1, 2600 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Imunostimuliuojantis preparatas

(57) Referatas:

Išradimas priskiriamas veterinarijai, būtent veterinariniams preparatams - imunostimuliatoriams.

Išradimo tikslas - sukurti naują vaistinį preparatą, pasižymintį imunostimuliuojančiu aktyvumu, skatinančiu organizmo imuninės sistemos veiklą bei didinančiu jo atsparumą.

Tikslas pasiekiamas tuo, kad kaip imunostimuliuojantis preparatas panaudojamas fetalinis embrioninis veršelių serumas.

Išradimas priskiriamas veterinarijai, būtent veterinariniams preparatams, ir susijęs su žinomo fetalinio embrioninio veršelių serumo nauju panaudojimu kaip imunostimuliuojantis preparatas, skirtas gyvūnams su imuniniu nepakankamumu gydyti.

Plačiai naudojami imunostimuliatoriai, tokie kaip timolinas bei timozinas. Jie reguliuoja sutrikusį organizmo imunologinį reaktyvumą, limfocitų kiekį, stimuliuoja ląstelinio imuniteto reakcijas (žiūr. Машковский М.Л. Лекарственные средства. Изд. – 10-е., М.: Медицина, 1985, ч.2, с.171). Tačiau šie preparatai nepasižymi greitu ir dideliu biologiniu aktyvumu.

Žinomi imunostimuliuojantys specifiniai serumai, tokie kaip imunoparv bei imunočium, kurie naudojami gyvūnams su virusiniais susirgimais gydyti (žiūr. V. Citvaras. Epizootologija, V.: 1991, p.307-315). Specifiniai antikūniai, esantys šiuose serumuose jungiasi su ligos sukėlėjais ir juos neutralizuoja, tačiau jie nestimuliuoja ligos eigoje išsekusios organizmo imuninės sistemos veiklos atstatymo bei nepasižymi imunostimuliuojančiu aktyvumu.

Išradimo tikslas - surasti naują vaistinį imunostimuliuojantį preparatą, pasižymintį dideliu ir greitu imunostimuliuojančiu aktyvumu, skatinančiu guvūnų organizmo imuninės sistemos veiklą bei didinančiu jo atsparumą.

Tikslas pasiekiamas tuo, kad kaip imunostimuliuojantis preparatas, gyvūnams su imuniniu nepakankamumu gydyti panaudojamas fetalinis embrioninis veršelių serumas.

Fetalinis embrioninis veršelių serumas gaunamas iš paskerstos karvės vaisiaus kraujo ir pasižymi biologiniu aktyvumu, kurį lemia ontogenezės periode besivystančio veršelio organizmo pagamintos medžiagos: peptidai, angliavandeniai, fermentai, hormonai, steroidai, amino rūgštys, mikroelementai ir kiti faktoriai. Preparato efektyvumas priklauso nuo jo gamybos technologijos bei pagaminto serumo fiziko-cheminių ir biologinių parametrų (kokybiškas serumas), kurie nurodyti

1 lentelėje (žiūr. Изготовление биологически активной фетальной сыворотки телят (FEVS). Институт биохимии АН ЛССР. Методические рекомендации. – В., 1989).

Lentelė 1

Vertinimo kriterijus	Parametras
1. Bendras vaizdas	skaidrus, be eritrocitų ir baltymo priemaišų skystis
2. Spalva	gintarinė
3. Skaidrumas (535 nm)	ne daugiau 0,45 JE
4. pH	7,0-7,8
5. Bendras baltymas	≤5
6. Hemoglobinas	60 mg%
7. Imunoglobulinai	nerasta
8. Proliferacinis indeksas	≥2,0
9. Citotoksiškumas	0,5
10. Mikroorganizmai	nerasta
11. Mikoplazmos	nerasta
12. Latentiniai virusai	nerasta

Fetalinis embrioninis veršelių serumas žinomas ir naudojamas kaip komponentas, kultivuojant įvairias ląstelių kultūras in vitro. Serumas skatina ląstelių dauginimąsi, apsprendžia adhezijos procesus, suriša ir detoksikuoja kenksmingas medžiagas ir ląstelių metabolizmo produktus, veikia kaip apsauginis fiziologinis buferis (žiūr. Культура животных клеток. Под ред. Фрешни., М. – "Мир", 1989, стр. 27–42).

Eksperimentų metu nustatyta, kad fetalinis embrioninis veršelių serumas - biologiškai aktyvus neogaleninis preparatas, bendro veikimo stirpus biostimuliatorius, aktyvuojantis ląstelių regeneraciją, migraciją, proliferaciją, detoksikuojantis kenksmingas medžiagas ir ląstelių metabolizmo produktus, sudėtyje neturintis imunoglobulinų, stimuliuojantis bendrą organizmo imunitetą.

Dėka šių savybių, fetalinis embrioninis veršelių serumas panaudojamas kaip imunostimuliuojantis preparatas gyvūnams su imuniniu deficitu gydyti.

Fetalinis embrioninis veršelių serumas kaip preparatas švirkščiamas sergantiems gyvūnams po oda 0,5 ml/kg gyvūno masei, bet ne

daugiau kaip 15 ml bendro kiekio, po 1 injekciją, 1 kartą dienoje, 2 dienas iš eilės

Eksperimentų metu buvo nustatyta, kad fetalinis embrioninis veršelių serumas kaip imunostimuliuojantis preparatas, skirtas gyvūnų su imunodeficitu gydyti, pasižymi dideliu ir greitu biologiniu aktyvumu, palyginus su kitais preparatais - timolinu, timozinu, imunoparv, imunočium. Per 36 valandas, t.y. per 1,5 paros, ligoniams su imunodeficitu kraujyje normalizuojasi leukocitų skaičius. Timolino, imunoparv, timozino ir imunočium poveikis į leukocitų skaičiaus kitimą gyvūnams (šunims), sergantiems įvairiomis ligomis, parodytas lentelėje 2, o fetalinio embrioninio veršelių serumo poveikis į leukocitų bei limfocitų skaičiaus kitimą - lentelėje 3 (skaitiklyje - leukocitų skaičius prieš panaudojimą imunostimuliatorių, o vardiklyje - panaudojus).

Lentelė 2

Susirgimas (gyvūnai)	Sergančiųjų sk., n	Leukocitų sk., tūkst./ mm ³				
		norma	imuno- defic./ timolinas	imuno- defic./ imuno- parv.	imuno- defic./ timozi- nas	imuno- defic./ imuno- čium
Sveiki (šunys)		9,5±3,0				
Parvo virusinis enteritas (šunys)	20		<u>3,0±1,5</u> 3,5±1,5	<u>3,0±1,5</u> 3,2±1,5		
Maras (šunys)	25				<u>2,5±1,0</u> 3,5±1,0	<u>2,5±1,0</u> 3,0±1,0

Lentelė 3

Susirgimas (gyvūnai)	Serg. sk., n	Leukocitų sk. tūkst./ mm ³		Limfocitų sk., %	
		norma	imunodef./ fet.embr.verš. serumas	norma	imunodef./ fet.embr.verš. serumas
Sveiki		9,5±3,0		30,5±9,5	
Parvo virusinis enteritas (šunys)	20		<u>3,0±1,5</u> 8,0±2,1		<u>36,0±5,4</u> 50,5±8,5
Maras (šunų)	25		<u>2,5±1,0</u> 6,2±1,0		<u>31,6±4,2</u> 45,1±8,3

Patikimumo koeficientas $p < 0,05$.

Tyrimų rezultatai įvertinti variacinės statistikos metodu, naudojant Stjudento kriterijų t. Patikimais rezultatais laikomi rezultatai, kai patikimumo koeficientas $p < 0,05$. Apskaičiuotas aritmetinis vidurkis (M), vidurkio vidutinė paklaida (m) pagal Petersoną naudojant Moldenganerio faktorių (k).

Eksperimentų duomenys pateikti lentelėse 2 ir 3 parodo, kad sveikų šunų kraujyje normalus leukocitų skaičius - $9,5 \pm 3,0$ tūkst./mm³, o esant virusiniams susirgimams, kaip šunų parvo virusinis enteritas, maras, kurie silpnina ligonių imuninės sistemos aktyvumą, organizmo atsparumas krenta ir leukocitų skaičius kraujyje sumažėja iki $3,0 \pm 1,5$, $2,5 \pm 1,0$ tūkst./mm³. Organizmas nekovoja su infekcija, nusilpusi imuninė sistema - imuniteto deficitas. Leukocitų skaičiaus kitimą, ligos (šunų parvo virusinis enteritas - fig.1, šunų maras - fig.2) eigoje, ir panaudojus imunostimuliuojančius preparatus, parodo kreivės, nubrėžtos fig.1 ir fig.2, kur taškas I - sveiko šuns leukocitų skaičius, II - šuniui susirgus. Po 48 val., panaudojus imunostimuliuojančius preparatus - matomas leukocitų kiekio kraujyje pakitimas: timoliną - kreivė 1 (fig.1), imunoparv - kreivė 2 (fig.1), fetalinį embrioninį veršelių serumą - kreivė 3 (fig.1 ir fig.2), timoziną - kreivė 1 (fig.2), imunočium - kreivė 2 (fig.2). (Fig.1 ir fig.2 nubrėžtos kreivės pagal lentelėje 2 ir 3 pateiktų duomenų aritmetinius vidurkius, t.y. vid. reikšmes).

Fetalinis embrioninis veršelių serumas kaip imunostimuliuojantis preparatas pagreitina imuninės sistemos regeneraciją, padidina organizmo imunologinį aktyvumą ir palengvina daugelio patologinių procesų tėkmę.

1 PAVYZDYS. Ligonis - devynių mėn. šuo (rotveileris) neėda, nelaka, dažnai vemia, viduriuoja, išmatos su kraujo priemaišom, pūvėsių kvapo, temperatūra pakilusi 40,0-41,5°C. Šuo guli, visiškai nesikelia, serga antrą parą. Atliktus kraujo tyrimus, pastebėtas žymus leukocitų skaičiaus sumažėjimas - 2,1 tūkst./mm³, limfocitų skaičius - 34%. Diagnozė - šuo serga parvo virusiniu enteritu. Ligos eigoje negaudamas maisto ir vandens organizmas badauja ir dehidratuoja. Vykstant žarnose hemoraginiam uždegimui, su išmatomis pasišalina daug eritrocitų, vystosi stipri anemija. Įrstant žarnų gleivinėms, organizmas intoksikuojamas audinių irimo bei mikroorganizmų metabolizmo produktais. Dėl intoksikacijos kepenyse vyksta stiprūs distrofiniai pakitimai, pakenkiama širdies ir kraujagyslių sistema.

Ligos eiga ūmi, tačiau palaikant organizmo gyvybines funkcijas, detoksikuojant bei slopinant antrinę infekciją, panaudojamas fetalinis embrioninis veršelių serumas (15 ml švirkščijama ligoniniui po oda, po 1 kartą dienoje, 2 dienas iš eilės) organizmo imuninei sistemai stimuliuoti. Imunostimuliuojantis preparatas suaktyvina imunokompetentinių ląstelių produkciją ir organizmas pats pasigamina specifinius antikūnius - vaistą kovojantį prieš virusą.

Jau po 12 valandų šuns savijauta buvo žymiai geresnė. Jis pradėjo vaikščioti, normalizavosi kūno temperatūra, vemdavo žymiai rečiau, o dar po 12 valandų noriai lakė, jau nebevėmė.

Buvo pakartoti kraujo tyrimai: leukocitų skaičius pakilo iki 7,3 tūkst./mm³, leukoformulėje limfocitų padidėjo iki 45%. Šuo pasveiko po 7 dienų.

2 PAVYZDYS. Ligonis - 10 mėn. šuo (vokiečių aviganis) gulinėja, iš akių, nosies skiriasi pūlingos išskyros, čiaudo, pakilusi temperatūra - 41,3°C. Šuo serga trečią dieną. Atlikus kraujo tyrimus, leukocitų kiekis - 2,0 tūkst./mm³, leukoformulėje limfocitų skaičius - 29%. Diagnozė - šuo serga maru. Virusų įtakoje, pažeidžiami gyvybiškai svarbūs organai (kepenys, širdis, smegenys ir kt.). Palaikant organizmo gyvybines funkcijas ir slopinant antrinę infekciją buvo panaudotas

imunostimuliuojantis preparatas - fetalinis embrioninis veršelių serumas (švirkščiamas 15 ml 1 kartą dienoje po oda, 2 dienas iš eilės).

Po 24 val.padaryta šuns kraujo analizė parodė, kad leukocitų kiekis kraujyje 5,6 tūkst./mm³, limfocitų - 40%. Kūno temperatūra normalizavosi. Šuo visiškai pasveiko po 10, nuo gydymo pradžios, dienų.

Naudojant kitus žinomus imunostimuliuojančius preparatus, pirmieji sveikimo požymiai pasirodo tik 5 - 8 dieną, o dažnokai liga iš ūminės formos pereina į lėtinę su letaline baigtimi. Tokiu būdu, siūlomas fetalinis embrioninis veršelių serumas kaip naujas imunostimuliuojantis preparatas gali būti plačiai naudojamas veterinarijoje gydant įvairius susijusius su imuniteto deficitu, susirgimus.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

Fetalinis embrioninis veršelių serumas, panaudojamas kaip imunostimuliuojantis preparatas.

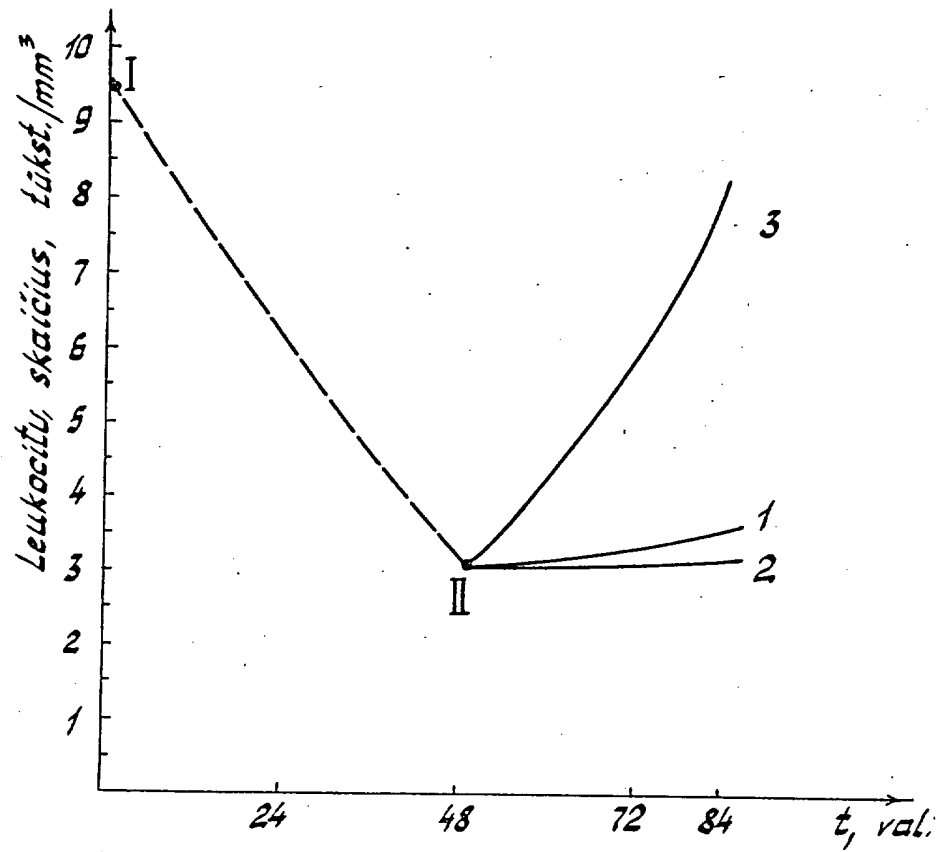


Fig.1

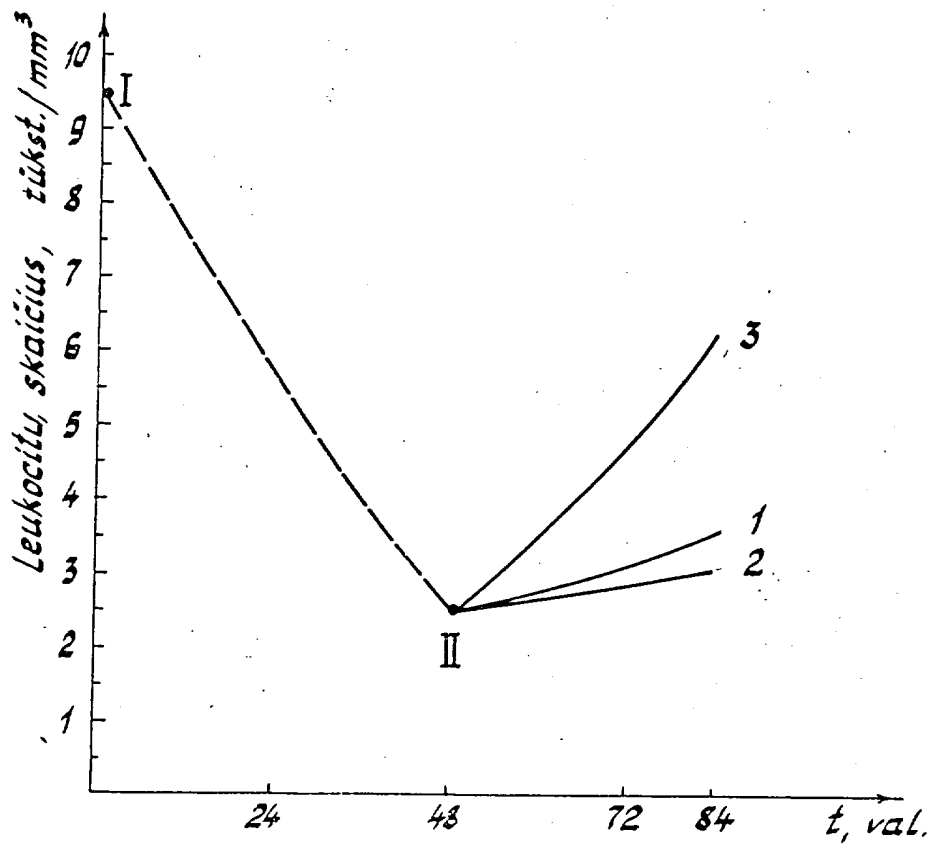


Fig.2