



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ(21)(22) Заявка: **2008152700/15**, **29.12.2008**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
29.12.2008

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: **29.12.2008**(43) Дата публикации заявки: **10.07.2010** Бюл. № 19(45) Опубликовано: **20.01.2011** Бюл. № 2

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **ЗОЛОТЫХ М.А. Обоснование применения янтарной кислоты для инфузионной терапии у больных с острым пиелонефритом с целью коррекции почечной ишемии. Автореферат дисс. канд. мед. наук. - М., 2008. RU 2136320 C1, 10.09.1999.**

Адрес для переписки:

**103735, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО
"Союзпатент"**

(72) Автор(ы):

**Зоров Дмитрий Борисович (RU),
Сухих Геннадий Тихонович (RU),
Плотников Егор Юрьевич (RU),
Васильева Алена Константиновна (RU),
Кирпатовский Владимир Игоревич (RU),
Казаченко Александр Викторович (RU),
Хряпенкова Татьяна Геннадьевна (RU),
Исаев Николай Константинович (RU),
Зорова Любава Дмитриевна (RU),
Певзнер Ирина Борисовна (RU),
Марей Мария Владимировна (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (RU)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ СОЛЕЙ ЛИТИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к нефрологии, и может быть использовано для лечения больных, страдающих почечной недостаточностью, и особенно для лечения острой почечной недостаточности. Лечение и профилактику острой и хронической почечной

недостаточности проводят с помощью введения физиологически приемлемых солей лития в физиологическом растворе с концентрацией 10-100 мг/мл из расчета для достижения концентрации соли лития 0,5-2 ммоль/л в сыворотке крови. 3 н. и 13 з.п. ф-лы, 5 ил.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

A61K 33/00 (2006.01)**A61P 13/12** (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2008152700/15, 29.12.2008**(24) Effective date for property rights:
29.12.2008

Priority:

(22) Date of filing: **29.12.2008**(43) Application published: **10.07.2010 Bull. 19**(45) Date of publication: **20.01.2011 Bull. 2**

Mail address:

**103735, Moskva, ul. Il'inka, 5/2, OOO
"Sojuzpatent"**

(72) Inventor(s):

**Zorov Dmitrij Borisovich (RU),
Sukhikh Gennadij Tikhonovich (RU),
Plotnikov Egor Jur'evich (RU),
Vasil'eva Alena Konstantinovna (RU),
Kirpatovskij Vladimir Igorevich (RU),
Kazachenko Aleksandr Viktorovich (RU),
Khrjapenkova Tat'jana Gennad'evna (RU),
Isaev Nikolaj Konstantinovich (RU),
Zorova Ljubava Dmitrievna (RU),
Pevzner Irina Borisovna (RU),
Marej Marija Vladimirovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Nauchno-issledovatel'skij institut fiziko-
khimicheskoy biologii imeni A.N. Belozerskogo
Moskovskogo gosudarstvennogo universiteta
imeni M.V. Lomonosova (RU)**

(54) LITHIUM SALTS ADMINISTRATION FOR TREATING ACUTE RENAL INSUFFICIENCY

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, namely to nephrology, and can be used for treating patients suffering renal insufficiency and especially for treating acute renal insufficiency. Treatment and prevention of acute and chronic renal insufficiency

are ensured by the administration of physiologically acceptable lithium salts in physiologic saline in concentration 10-100 mg/ml at lithium salts concentration 0.5-2 mmol/l in blood serum.

EFFECT: ensured treatment and prevention of acute and chronic renal insufficiency.

16 cl, 4 ex, 5 dwg

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к медицине, а именно к нефрологии, и может быть использовано для лечения больных, страдающих почечной недостаточностью, и особенно для лечения острой почечной недостаточности, спровоцированной ишемией, или хронической почечной недостаточности. Способ позволяет устранить побочные эффекты, сократить сроки лечения острой почечной недостаточности и уменьшить смертность от уремии.

Уровень техники

Острое и хроническое нарушение функции почек является частым состоянием, угрожающим жизни больного. При острой почечной недостаточности (ОПН) часто возникает необходимость поддержания или полной замены функции поврежденного органа путем диализа или трансплантации почки.

Известны способы лечения больных, страдающих почечной недостаточностью, путем фильтрации крови. Кровь последовательно пропускают через гемофильтрационный элемент и гемодиализный элемент, а ультрафильтрат через выпускной соединитель гемофильтрационного элемента и фильтр предпочтительно с активированным углем, не покрытым оболочкой, вводится в виде регенерированного ультрафильтрата в канал. Таким образом, очищенный ультрафильтрат используют в качестве реинфузионного раствора для повторного введения больному (RU 2086264). Или лечат путем комплексного воздействия бикарбонатного гемодиализа и гемодиализации и с изолированной ультрафильтрацией крови, медикаментозной нефропротективной терапией и автоматизацией управления лечебным процессом за счет использования гемодиализной базы данных, компьютерной обработки и оперативного вычисления исходных данных, организации и использования наглядного графического изображения, таблиц, речевых комментариев и внедрения урологических объектов о пациентах, времени, количестве, дозах выдачи-приема и результатах действия назначаемых лекарственных средств с указанием диагнозов и фамилий пациентов (RU 2154499).

Однако при проточном гемодиализе за один сеанс через диализатор пропускают до 200 л диализирующего раствора, который сливают, что требует большого расхода концентрата диализата и воды. Кроме того, наряду с токсинами из крови удаляется ряд полезных веществ, что приводит к возникновению различных осложнений и требует последующих дополнительных процедур по корректировке состава крови.

Проблемы детоксикации организма решаются в аппаратах «искусственная почка» способом, при котором в процессе циркуляции диализирующего раствора устанавливают время контакта диализирующего раствора с платинированным углем фильтра не менее 10 с, измеряют концентрацию гипохлорита натрия перед фильтром, поддерживая ее на уровне 50 ± 10 мг/л путем регулирования плотности тока питания электролизера, устанавливая в начале сеанса максимальную ее величину, а затем снижая ее так, чтобы концентрация гипохлорита натрия оставалась в указанных допустимых пределах. Кроме того, для коррекции pH в исходный состав диализирующего раствора очистного контура включена дополнительно буферная добавка, например бикарбонат натрия в концентрациях от 3 до 5 мг/л (RU 2110283).

Известен также способ профилактики и лечения хронической почечной недостаточности, лечения хронического пиелонефрита, а также нефрогенной гипертензии пиелонефритического и ангиогенного характера, основанный на уменьшении ишемии почки. При этом производится рентгеноэндоваскулярное чрескатетерное воздействие на сосуды почки (RU 2136320). Такое чрескатетерное

рентгеноэндоваскулярное воздействие осуществляют путем стенозирования субсегментарных почечных вен с помощью введения в вены окклюдизирующих приспособлений. К недостаткам метода относится необходимость операционного вмешательства и соответствующего длительного ведения больных в условиях стационара. Кроме того, способ не может быть применен в условиях острой ишемии, спровоцированной внезапной закупоркой почечных сосудов или при трансплантации почки.

Все описанные способы воздействуют, прежде всего, на последствия повреждения почки, а именно на удаление избытка продуктов метаболизма из крови, то есть замещают функции почки. Однако более важным представляется собственно защита почки от повреждения, сохранение ее функциональных свойств. Одним из наиболее эффективных используемых в клинической практике средств является применение янтарной кислоты. Наиболее близким аналогом заявленному изобретению, по мнению заявителя, является способ коррекции почечной недостаточности янтарной кислотой (Золотых М.А. Обоснование применения янтарной кислоты для инфузионной терапии у больных острым пиелонефритом с целью коррекции почечной ишемии. Автореф. дисс. канд. мед. наук, Москва, 2008) в виде инфузионного раствора Реамберин (RU 2266110). Было показано, что включение янтарной кислоты в комплекс инфузионной терапии больных гнойным пиелонефритом способствует более благоприятному течению послеоперационного периода у больных гнойным пиелонефритом, обеспечивает у них более быстрое уменьшение выраженности клинических симптомов синдрома эндогенной интоксикации, нормализацию общих анализов крови у достоверно большего количества пациентов по сравнению со стандартной терапией. Применение янтарной кислоты в лечении больных гнойным пиелонефритом приводит к значительному уменьшению активности лактатдегидрогеназы и содержания молочной и пировиноградной кислот в сыворотке крови и моче больных, что может быть объяснено ее антигипоксическим эффектом и способностью ограничивать развитие в почках метаболических нарушений, характерных для ишемии. Включение янтарной кислоты в комплекс лечения больных острым гнойным пиелонефритом в более ранние сроки способствует нормализации интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сыворотке крови и моче больных.

Тем не менее, не было показано эффективности описываемого способа терапии янтарной кислотой для восстановления функций почки при таких почечных патологиях, как ишемия/реперфузия почки и хроническая почечная недостаточность, спровоцированная ишемией. Кроме того, данный способ направлен на уменьшение уже развивающегося окислительного стресса, а не на его предотвращение, что могло бы быть более эффективным. Наконец, в данном способе не показано прямое улучшение функционирования почки и восстановление или защита нефронов. При введении янтарной кислоты в виде Реамберина регистрировалось лишь уменьшение продуктов перекисного окисления липидов в моче и крови, однако не исследовались такие показатели работоспособности почки, как клиренс креатинина, содержание в крови мочевины, диурез и др.

Раскрытие изобретения

Целью изобретения является разработка способа лечения острой и хронической почечной недостаточности и предоперационная подготовка больных, нуждающихся в операции на почке, путем уменьшения окислительного стресса и ишемического повреждения замещенными солями лития.

Это достигается введением раствора солей лития перед операцией на почке.

Таким образом, первым объектом изобретения является применение солей лития для изготовления лекарственного средства для лечения острой и хронической почечной недостаточности.

В качестве солей могут быть использованы любые фармацевтически приемлемые соли, растворимые в физиологическом растворе (0,9% раствор хлорида натрия), в частности сукцинат или хлорид лития.

Получаемый лекарственный препарат вводят в виде инфузий его раствора системно (внутривенно) или внутривентриально.

Вторым объектом изобретения является собственно способ лечения острой и хронической почечной недостаточности и предоперационная подготовка больных, нуждающихся в операции на почке, путем уменьшения окислительного стресса и ишемического повреждения замещенными солями лития.

Способ заключается в том, что пациенту, нуждающемуся таком лечении, вводят растворы солей лития в виде инфузий системно (внутривенно) или внутривентриально.

Согласно способу по изобретению раствор соли лития вводят пациенту из расчета 10-60 мг на кг веса. При острой почечной недостаточности вводят раствор соли лития предпочтительно из расчета 30-60 мг/кг веса пациента. В случае планируемой операции на почке раствор вводят непосредственно перед ишемией почки или после начала реперфузии почки для достижения концентрации 0,5-2 ммоль/л в сыворотке крови. В случае хронической почечной недостаточности режим дозирования подбирается индивидуально и предпочтительно составляет 10-30 мг/кг в сутки.

Способ по изобретению предполагает реализацию нескольких этапов, а именно этапа получения инфузионного раствора, содержащего соль лития, и этапа введения полученного препарата нуждающемуся пациенту.

Способ по изобретению иллюстрируется нижеследующими чертежами.

Краткое описание чертежей

На фиг.1 приведены данные оценки продукции АФК по интенсивности флуоресценции красителя 2,7-DCF в клетках почечных канальцев на витальных срезах.

На фиг.2 приведены данные оценки трансмембранного потенциала митохондрий в клетках после ишемии-реперфузии по интенсивности флуоресценции красителя TMRE в клетках почечных канальцев на витальных срезах.

На фиг.3 показано снижение гибели клеток эпителия почечных канальцев при действии ионов лития.

На фиг.4 показано улучшение функций почки при ишемической ОПН после терапии солями лития. Концентрации креатинина и мочевины в моче измерялись у здоровых крыс и после моделирования ишемии почки.

На фиг.5 приведены данные о влиянии ионов лития и сукцината на окислительный стресс в культуре почечного эпителия после гипоксии.

Осуществление изобретения

Способ по изобретению иллюстрируется нижеследующими конкретными примерами, в которых приведены наилучшие варианты осуществления изобретения, то есть не ограничивающие область притязаний изобретения.

ПРИМЕР 1

Снижение окислительного стресса и дисфункции митохондрий после ишемии почки при введении хлорида лития

Изучали терапевтический эффект внутривентриального введения хлорида лития на функционирование митохондриального аппарата клеток почки в условиях

ишемии/реперфузии почки и участие АФК и АФА в развитии повреждения. Для моделирования ишемии/реперфузии крыс наркотизировали тиопенталом Na внутрибрюшинно из расчета около 1 мг/кг веса животного. Выполняли срединную лапаротомию, выделяли почку и ее сосудистую ножку (почечная артерия и вена); почка отделялась от окружающих тканей для исключения латерального кровотока. Сосудистую ножку почки пережимали сосудистым зажимом типа «бульдог» из нержавеющей стали на 30-90 минут. Отсутствие кровотока в почке контролировалось визуально, по изменению цвета ткани почки. Через заданное время зажимы снимали, и кровь вновь начинала поступать в почку, с этого момента отсчитывали время реперфузии. После окончания периода реперфузии почку удаляли для дальнейших экспериментов.

В качестве контроля использовались ложнооперированные животные, которым проводилась лапаротомия без прекращения почечного кровотока.

Для изучения влияния ионов лития на изменения, происходящие в почке при ишемии/реперфузии, крысе вводили раствор LiCl в 0,9%-ном NaCl в дозе 5-15 мг. Раствор LiCl вводили внутрибрюшинно в два приема: около 5 мг за 20-60 минут до начала ишемии и непосредственно перед ишемией. Генерация активных форм кислорода была исследована на модели ишемии/реперфузии почки с помощью окрашивания почечных срезов дихлорфлуоресцеином (DCF), специфическим зондом на АФК. Относительная интенсивность продукции АФК оценивалась по степени флуоресценции DCF. После ишемии/реперфузии в клетках почечной ткани образовывалось на 24% больше АФК, чем в контрольной почке (фиг.1). Это подтверждает развитие окислительного стресса в клетках, подвергшихся ишемии/реперфузии. Воздействие ионов лития в предышемический период приводит к значительному снижению флуоресценции DCF (фиг.1) в клетках после ишемии/реперфузии, то есть уменьшает выраженность генерации АФК и окислительного стресса.

Обнаружено значительное падение трансмембранного потенциала в митохондриях почки, подвергшейся ишемии/реперфузии (фиг.2). Доля высокоэнергизованных митохондрий в клетках почечных канальцев после ишемии/реперфузии снизилась с $59 \pm 2,9\%$ до $24 \pm 1,2\%$.

Ионы лития, подавляющие открытие неспецифической поры через инактивацию GSK-3b, в значительной мере предотвращали падение митохондриального потенциала в клетках почки (фиг.2).

Для доказательства GSK-опосредованного действия лития мы исследовали фосфорилированность GSK-3 в митохондриях клетки методами иммуноцитохимии и иммуноблота. При анализе митохондрий из почек животных, получавших терапию хлоридом лития, было показано значительное повышение количества фосфорилированной изоформы GSK-3 по сравнению с контрольными животными. Таким образом, ионы лития вызывают значительное фосфорилирование, то есть ингибирование активности фермента GSK-3.

ПРИМЕР 2

Снижение гибели клеток эпителия почечных канальцев при действии ионов лития. Исследования проводили на культуре клеток почечных канальцев, полученных из почек крыс. Клетки подвергали ишемии в течение 24 часов в камере, продуваемой азотом, под контролем содержания кислорода. Затем среда заменялась на стандартную с нормальным содержанием кислорода, и начинали реоксигенацию, длившуюся еще 24 часа. Для оценки влияния лития его добавляли в культуральную

среду перед ишемией в концентрации 9 мМ. Оценка жизнеспособности клеток почки показала, что количество живых клеток после 24 ч ишемии и 24 ч реоксигенации сократилось до 45% по сравнению с контролем (фиг.3). Исследование действия LiCl показало, что при добавлении 9 мМ LiCl на все время ишемии количество живых
 5 клеток после ишемии/реоксигенации возросло до 75,5% соответственно. Таким образом, ионы лития почти в 1,5 раза повышали выживаемость клеток в условиях ИР.

ПРИМЕР 3

Эффективность введения ионов лития для нормализации функций почки при ОПН
 10 В данной работе моделировали острую почечную недостаточность (ОПН) путем пережатия сосудистой ножки единственной почки на приблизительно 60-90 минут. Изучали терапевтический эффект введения хлорида и сукцината лития. После ишемии кровотоков восстанавливали удаляя зажим. После операции брюшная полость была закрыта с наложением на рану швов. Животных наблюдали две недели после
 15 операции с периодической оценкой функционирования почки.

Было показано, что введение хлорида лития в дозе 5-15 мг за час до ишемии значительно улучшало функциональные параметры почки, нарушенные после ишемии (фиг.4).

ПРИМЕР 4

Влияние ионов лития и сукцината на окислительный стресс в культуре почечного эпителия при гипоксии

Были проведены эксперименты по исследованию влияния лития и сукцина на генерацию активных форм кислорода (АФК) в культивируемых клетках почечного
 25 эпителия. Исследования проводили на культуре клеток почечных канальцев, полученных из почек крыс. Клетки подвергали ишемии в течение 24 часов в камере, продуваемой азотом, под контролем содержания кислорода. Затем среда заменялась на стандартную с нормальным содержанием кислорода, и начинали реоксигенацию, длившуюся еще 10 минут. Для оценки влияния лития его добавляли в культуральную
 30 среду перед ишемией в концентрации 9 мМ.

Клетки инкубировали в течение ишемии с LiCl и сукцинатом натрия в концентрациях по 3-9 мМ соответственно. Ишемия длилась в течение приблизительно 24 часов, через 10 мин после начала реоксигенации клетки
 35 окрашивали флуоресцентным зондом DCF в течение 10 мин и оценивали соответственно уровень АФК по интенсивности флуоресценции. Результаты эксперимента представлены на фиг.4. Выявлено, что обработка ионами лития приводит к снижению флуоресценции DCF (фиг.5) в клетках после
 40 ишемии/реоксигенации приблизительно на 15%, что означает соответствующее снижение уровня генерации АФК. К аналогичному эффекту приводит и инкубация первичной культуры клеток почки с сукцинатом. Эти данные говорят о том, что и сукцинат, и ионы лития препятствуют развитию окислительного стресса в клетках, подвергавшихся действию ишемии/реоксигенации. Поскольку механизмы действия
 45 этих соединений различны, то совместное использование этих веществ в виде препарата сукцината лития позволяет добиться более чем 30% снижения окислительного стресса в почечном эпителии после гипоксии.

Формула изобретения

1. Применение фармацевтически приемлемой соли лития для изготовления лекарственного средства для лечения острой и хронической почечной недостаточности.

2. Применение по п.1, при котором солью лития является сукцинат лития.

3. Применение по п.1, при котором солью лития является хлорид лития.

4. Лекарственное средство для лечения острой и хронической почечной недостаточности, представляющее собой инфузионный раствор, содержащий 10-60 мг/кг фармацевтически приемлемой соли лития в 0,9%-ном растворе хлорида натрия.

5. Способ лечения острой и хронической почечной недостаточности, заключающийся во введении пациенту, нуждающемуся в таком лечении, инфузионного раствора 10-60 мг/кг фармацевтически приемлемой соли лития в 0,9%-ном растворе хлорида натрия.

6. Способ по п.5, в котором раствор соли лития вводят за 0,5-2 ч до предполагаемой ишемии больным, нуждающимся во временном отключении кровотока в почке.

7. Способ по п.5, в котором раствор соли лития вводят больным хронической почечной недостаточностью из расчета 10-30 мг/кг веса пациента.

8. Способ по п.5, в котором раствор соли лития вводят дробно за 1-2 ч или за 0,5-1 ч до предполагаемой ишемии и через 10-30 мин после восстановления кровотока в почке больным, нуждающимся во временном отключении кровотока в почке.

9. Способ по п.5, в котором раствор соли лития вводят внутривенно.

10. Способ по п.6, в котором раствор соли лития вводят внутривенно.

11. Способ по п.7, в котором раствор соли лития вводят внутривенно.

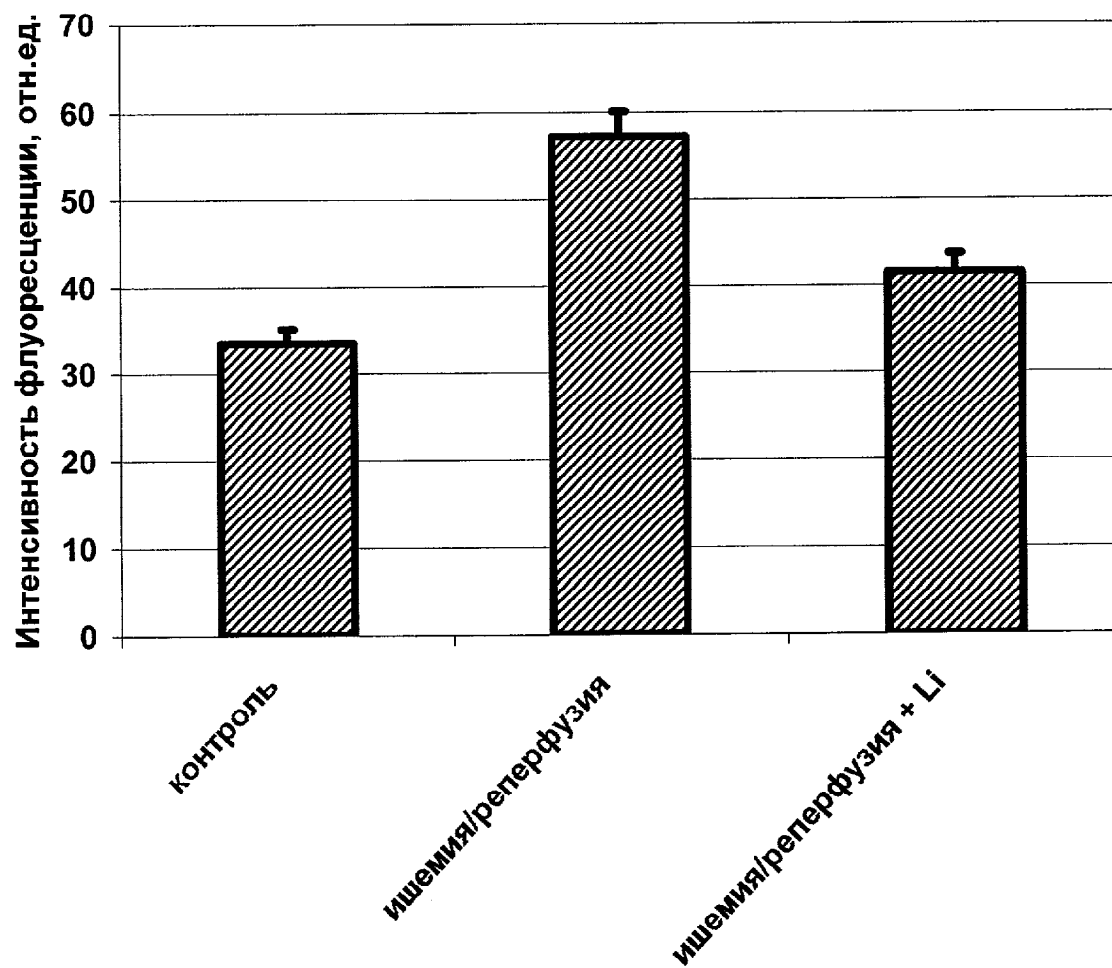
12. Способ по п.8, в котором раствор соли лития вводят внутривенно.

13. Способ по п.5, в котором раствор соли лития вводят внутримышечно.

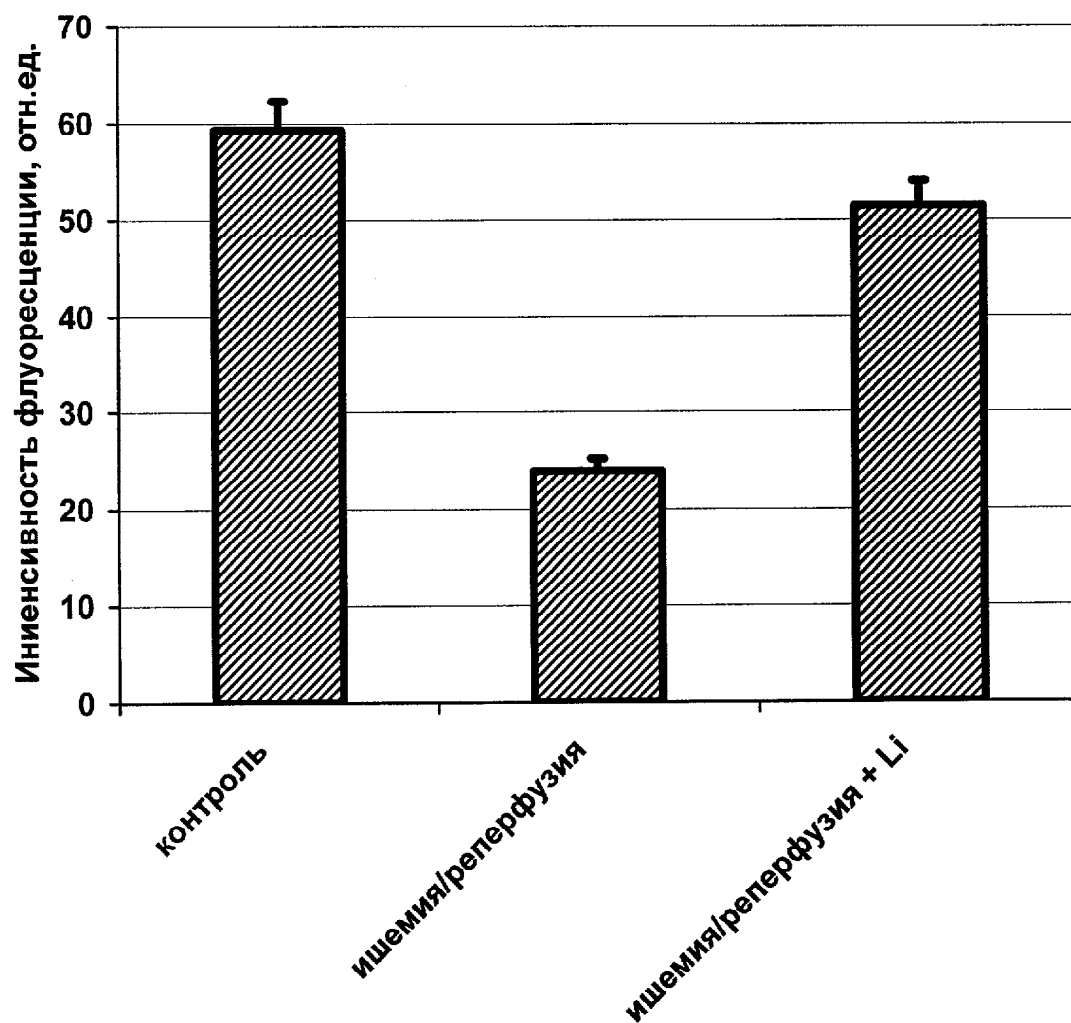
14. Способ по п.6, в котором раствор соли лития вводят внутримышечно.

15. Способ по п.7, в котором раствор соли лития вводят внутримышечно.

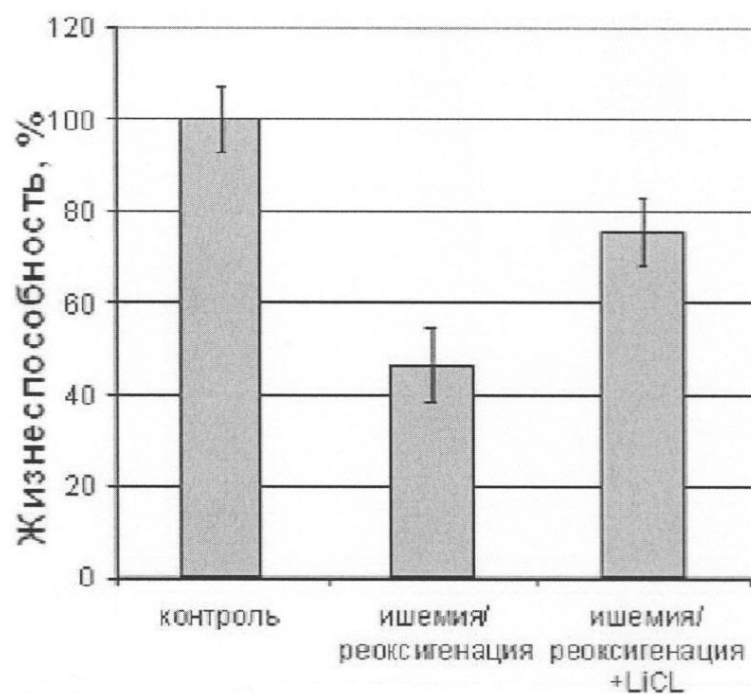
16. Способ по п.8, в котором раствор соли лития вводят внутримышечно.



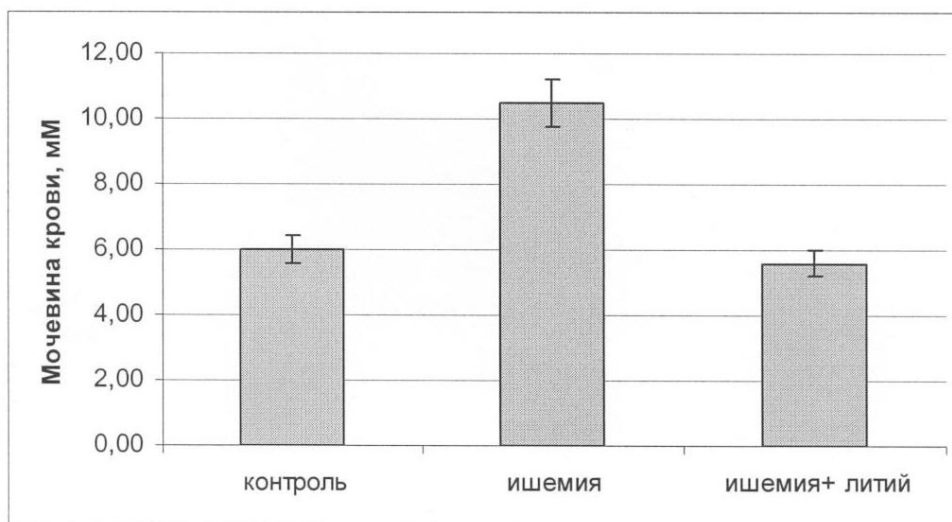
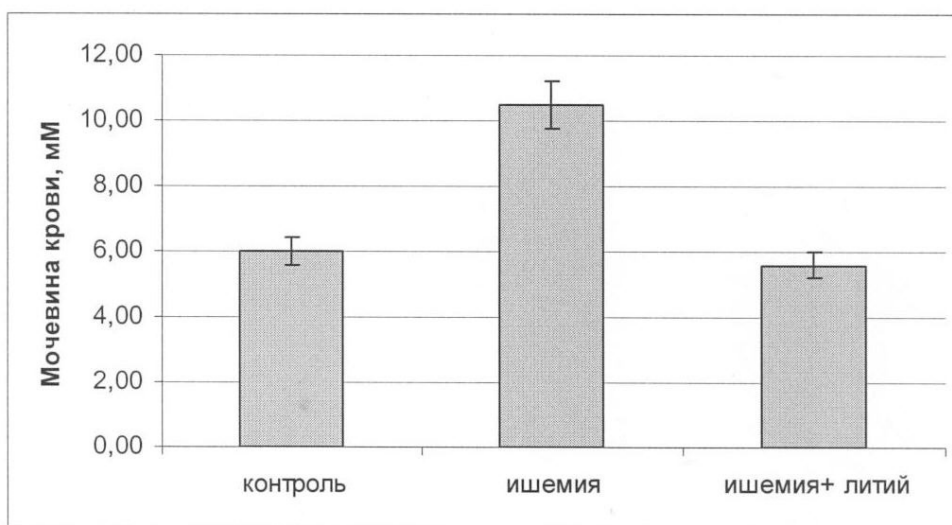
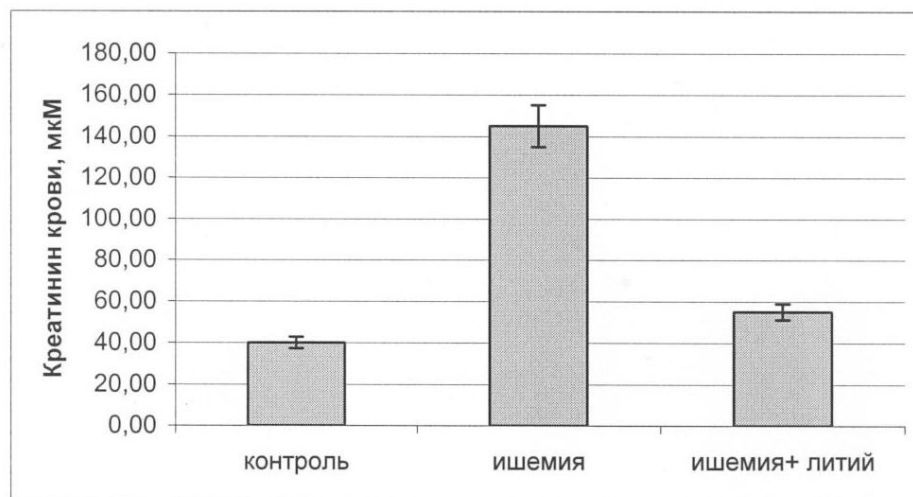
Фиг. 1



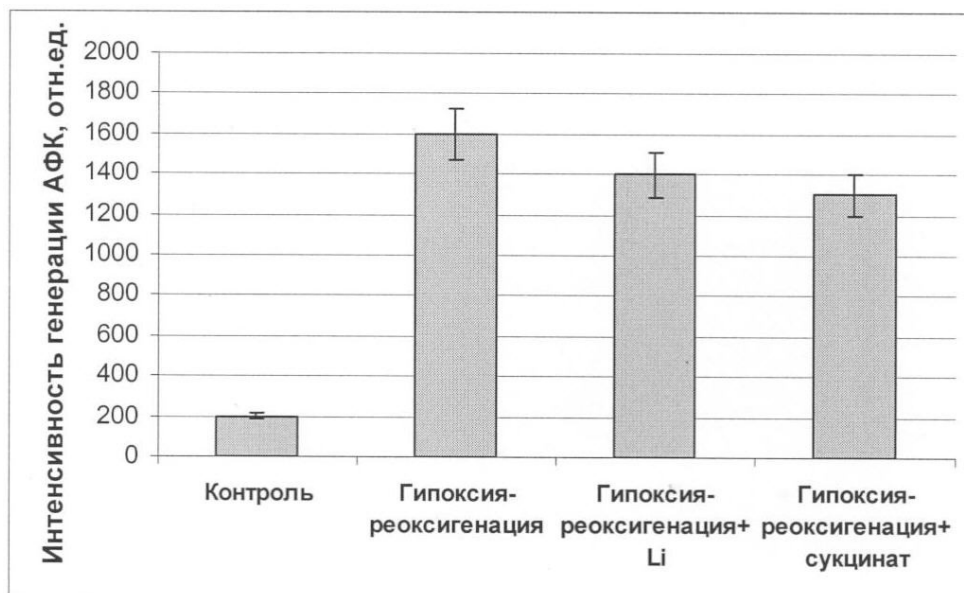
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5