



MD 2876 B1 2005.10.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **2876** ⁽¹³⁾ **B1**
(51) Int. Cl.: *A61K 35/12* (2006.01)
A61K 35/14 (2006.01)
A61K 35/32 (2006.01)
A61K 35/34 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării	
(21) Nr. depozit: a 2004 0150 (22) Data depozit: 2004.06.15	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2005.10.31, BOPI nr. 10/2005
(71) Solicitant: PANEA Hristofor, MD (72) Inventator: PANEA Hristofor, MD (73) Titular: PANEA Hristofor, MD (74) Reprezentant: MARGINE Ion, MD	

(54) **Remediu biostimulator al sistemului locomotor**

(57) **Rezumat:**

1 Invenția se referă la medicină, și anume la
traumatologie, și este destinată pentru tratamentul
fracturilor, pseudoartrozelor, osteomielitei post-
traumatice și al maladiilor degenerativ-distrofice
ale sistemului osteoarticular.

Esența invenției constă în aceea că remediu
biostimulator conține în cantitate eficientă cultură

2
5 tisulară primară, obținută din sistemul locomotor al
embrionului de porc la vârsta de 35...39 de zile cu
adăugarea celulelor din sângele embrionului în
cantitate de 5,5...9,5% de la masa ei. Cantitatea
eficientă de celule primare poate constitui 50 mln.
10 Revendicări: 3

MD 2876 B1 2005.10.31

Descriere:

Invenția se referă la medicină, în special la traumatologie, și este destinată pentru tratamentul fracturilor, pseudoartrozelor, osteomielitei posttraumatice și al maladiilor degenerativ-distrofice ale sistemului osteoarticular.

5 Este cunoscut un remediu cu acțiune biostimulatoare, ce conține o cultură tisulară primară obținută din embrioni de găină sau prepeliță din ziua a 9-a...a 12-ea a perioadei de incubare și supernatantul obținut la separarea culturii tisulare, în raportul componentelor respectiv de 1,0:1,5...1,0:3,0 [1].

10 Dezavantajul acestui remediu este pericolul de transmitere a diverselor maladii prin agenții patogeni din cultura tisulară, deoarece prepararea remediei necesită colectarea materiei prime de la un număr mare de embrioni de pasăre de la diferiți donori. Ouăle nu pot fi supuse unui control riguros până a fi puse la incubat, deci nu pot fi excluse erorile codului genetic în dezvoltarea embrionilor, deoarece nu pot fi controlate păsările de la care sunt luate ouăle. Nu poate fi garantată vârsta identică a embrionilor și, ca urmare, gradul necesar de dezvoltare a celulelor organotrope.

15 Un alt dezavantaj constă în aceea că remediuul nu conține grupe de celule diferențiate după sistemele de celule organotrope, ci reprezintă un amestec de celule ale diferitor sisteme. Grupele de celule ale sistemelor au un grad diferit de dezvoltare și un grad diferit de concentrație, de aceea remediuul administrat în zona unor anumite țesuturi este mai puțin efektiv față de remediuul ce conține celule ale aceluiași sistem organotrop în concentrația lor eficientă.

20 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în crearea unui remediu biostimulator din materie embrionară accesibilă, capabil să inițieze și să regenereze complet țesuturile sistemului locomotor al organismului uman și care ar exclude pericolul de infectare a recipientului.

Remediuul biostimulator, conform invenției, înlătură dezavantajele menționate mai sus prin aceea că conține în cantitate eficientă cultură tisulară primară, obținută din sistemul locomotor al embrionului de porc la vârsta de 35...39 de zile cu adăugarea celulelor din sângele embrionului în cantitate de 5,5...9,5% de la masa culturii tisulare primare. Cantitatea eficientă de celule primare poate constitui 50 mln.

Este cunoscut faptul că celulele embrionare conțin o cantitate semnificativă de enzime, inclusiv citochine – interleuchină etc., care posedă o activitate pronunțată biostimulatoare de regenerare, de formare a țesuturilor noi, îndeosebi în primul stadiu al acestui proces – stadiul metabolismului celular. Un rol important în acest sens îl are proteina morfogenetică ce se conține în celulele embrionare. Celulele embrionare, de exemplu ale sistemului locomotor, fiind introduse în zona cu regenerare deprimată a osului, unde predomină formarea țesutului fibros, provoacă la început resorbția țesutului fibros cu formarea ulterioară pe acest teren a țesutului osos primar și transformarea lui treptată în os compact cortical și canal osteomedular. La fel este cunoscut faptul că organismul porcului genetic este cel mai apropiat de cel uman. Din aceste considerente invenția propune pentru pregătirea remediei biostimulator folosirea embrionului de porc ca donor de material tisular primar. Soluția propusă în invenție, adică folosirea embrionului de porc are un șir de avantaje, cum ar fi:

- 40 • celulele primare nu sunt ereditabile;
- dezvoltarea embrionilor la mamifere nu depinde de mediul înconjurător, au condiții vitale constante, periodicitate strictă în evoluție (К. Вилли, Биология, «Мир», Москва, 1968);
- donatorul de embrioni (scroafă) poate fi selectat, supus unui control veterinar strict pentru a garanta sănătatea animalului, a embrionilor și a numărului de embrioni;
- 45 • vârsta de dezvoltare a embrionului, pentru a selecta grupa necesară de celule primare organotrope, poate fi ușor controlată în cazul fecundării artificiale a scroafelor în perioada cea mai favorabilă și prin supravegherea strictă veterinară;
- masa materiei prime pentru pregătirea remediei biostimulator din embrionii de porc este cu mult mai mare decât în cazul folosirii embrionilor de pasăre, ceea ce scade substanțial sinecostul remediei. Mai mult decât atât, masa totală de embrioni poate fi mărită prin alegerea corectă a scroafelor donor, din punct de vedere al fertilității speciei.

Remediuul se prepară în modul următor.

- 50 • Pentru obținerea grupei de celule embrionare primare organotrope de la scroafa donor se extrag embrionii la o vârstă optimă pentru dezvoltarea unui anumit sistem de celule (de exemplu, pentru sistemul locomotor vârsta de dezvoltare este de 38,7 zile, iar pentru sistemul cardiovascular și organele interne este cu 7,5 zile mai mică).

• Se lucrează concomitent cu toți embrionii de la scroafă. Se extrag și se colectează țesuturile sistemului locomotor. Pe tot parcursul colectării țesuturilor, vasele de colectare și conținutul lor sunt păstrate la rece. De menționat că țesuturile extrase nu sunt spălate de sânge, din

MD 2876 B1 2005.10.31

4

contra, este de dorit de micșorat pierderile de sânge. Sângele în cazul dat joacă un rol important pentru celulele embrionare primare extrase, fiind pentru ele un mediu natural conservant și nutritiv (vezi tabelul 1).

Tabelul 1

5

Particularitățile sângelui la diferite vertebrate (după Terentiev (1961), Prosser și Braun (1967));
(С.П. Наумов, Зоология позвоночных, Кишинэу, 1989)

Grupa de vertebrate	Cantitatea de sânge (% față de masa corpului)	Cantitatea de eritrocite într-un mm ³ de sânge (mln)	Capacitatea oxigenică a sângelui (% la o unitate de volum)
Păsări	5,7...9,0	2,7...3,5	10,0...22,0
Mamifere	5,5...9,5	8,4	15,0...24,0

10 După cum se vede din tabel indicii de concentrație a eritrocitelor și capacitatea de oxigenare sunt mai mari la mamifere, de aceea și vitalitatea celulelor embrionare primare în acest mediu este mai mare.

• După extragerea țesuturilor se efectuează mărunțirea masei de țesut împreună cu sângele conținut în ea într-un aparat original până la consistența de pastă omogenă. Studiul arată că acest grad de mărunțire permite de a evidenția în această masă atât colonii (conglomerate) de celule primare, cât și celule primare separate.

15 • Se determină concentrația de celule embrionare primare într-o unitate de masă a amestecului obținut, pentru a aprecia doza terapeutică a remediei, ținând cont și de cantitatea celulelor de sânge prezente în amestec conform tabelului 1. Determinarea se efectuează după metoda clasică, în camera Goreaev, prin marcarea celulelor embrionare primare organotrope cu o substanță luminoasă standard.

20 • După calcularea dozei terapeutice, amestecul se repartizează conform acestei doze în flacoane în dependență de identitatea sistemului de celule sau a organului colectate.

25 • Remediu poate fi administrat în stare proaspătă. În flaconul cu doza de amestec proaspăt se adaugă în proporție de 1:1 o cantitate de mediu nutritiv 199, soluția se aduce la temperatura corpului și se administrează prin injecție.

• Pentru a păstra remediu un timp mai îndelungat, amestecul distribuit pe doze se supune procesului de liofilizare în forma sa clasică și se astupă ermetic. Remediu biostimulator obținut după liofilizare reprezintă un praf de consistență amorfă de culoare sur-cafenie. Se păstrează la 30 temperatura de 4...6°C, într-un loc apărut de razele solare, termenul de păstrare este de cel mult 24 de luni. După dizolvare în mediul nutritiv 199 remediu capătă o consistență lichidă omogenă, de culoare roșie-cafenie, ușor injectabilă, cu termen de administrare de cel mult 24 ore.

Remediu propus în invenție este inofensiv, lipsit de toxicitate, nu provoacă alergizarea și infectarea organismului și nu are contraindicații pentru aplicare.

35 Remediu biostimulator propus are proprietăți antibacteriene. Analiza proprietăților antibacteriene ale remediei s-a făcut în laborator, în mod obișnuit. S-au studiat trei feluri de remedii:

- 1 – remediu din celule primare embrionare ale sistemului nervos;
- 2 – remediu din celule primare embrionare ale sistemului locomotor;
- 3 – remediu din celule primare embrionare ale sistemului organelor interne.

40 Culturile de microbi patogeni au fost următoarele:

- 1 – *E. coli* ATCC 25922;
- 2 – *Ps. aeruginosa* 27853;
- 3 – *Stafilococcus aureus* ATCC 25923.

45 După 20 de ore de contact cu culturile la temperatura de 37°C, s-au obținut rezultatele expuse în tabelul 2.

Tabelul 2

Remediu controlat	Mediu pentru control		
	<i>Stafilococcus aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>
	Diametrul zonelor de lizis în jurul discurilor (mm)		
1	35	30	20
2	30	25	17
3	10	0	0

MD 2876 B1 2005.10.31

5

În concluzie putem spune că preparatele 1 și 2 au proprietăți antimicrobiene asupra culturilor *Stafilococcus aureus*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli*, iar preparatului 3 aceste proprietăți îi lipsesc.

Remediul biostimulator se utilizează intramedular, intramuscular, subcutanat, intraarticular și exterior sub formă de aplicații prin pansament pe plăgi atonice și ulcere trofice.

- 5 Remediul biostimulator a fost administrat la 94 de bolnavi voluntari cu diferite patologii și maladii, printre care, fracturi proaspete – 52, consecințe ale fracturilor – 11, necroze aseptice de cap de femur – 9, artrite și artroze ale articulațiilor mari – 7, maladii osteodistrofice ale scheletului – 6 ș.a.

Exemple de utilizare a remediului biostimulator

10 Exemplul 1

- Bolnava R., 60 de ani, cu diagnoza fractură cominutivă a treimii inferioare a osului brahial pe dreapta. Intervenția chirurgicală a fost refuzată de anesteziolog și traumatolog din cauza hipertenziei de gradul III. La o săptămână de la fracturare au fost administrate între fragmentele moderat deplasate ale fracturii două doze terapeutice (100 mln de celule) de remediu preparat din celulele sistemului locomotor extrase de la un embrion de porc de 35 de zile. Consolidarea totală a fost confirmată prin control radiologic.

Exemplul 2

- 20 Bolnavul Z., 56 ani, cu diagnoza atrit-atroza ambelor articulații ale genunchilor cu acutizări des repetate și sinovite cronice. Tratamentele medicamentos, fiziofuncțional și balneoclimaterice în decurs de 4 ani (1998...2001) nu au adus rezultate satisfăcătoare. La 1 februarie 2002 și 25 martie 2002 au fost administrate intramedular, pentru fiecare os tibial câte o doză terapeutică (50 mln de celule) de remediu preparat din celulele sistemului locomotor extrase de la un embrion de porc de 37 de zile. Din martie 2002 până în prezent nici o acutizare cu riscul de a fi inapt de lucru.

Exemplul 3

- 25 Bolnavul S., 27 ani, cu diagnoza pseudoartroză a oaselor gambei pe stânga în treimea inferioară și osteomielită a ambelor oase ale gambei pe dreapta. Trauma produsă la 21 decembrie 2001. Din martie 2003 până în octombrie 2003 au fost administrate la oasele gambei stângi cu scop de consolidare a pseudoartrozei intramedular 4 doze terapeutice (200 mln de celule) de remediu preparat din celulele sistemului locomotor extrase de la un embrion de porc de 37 de zile, iar pentru tratarea și stoparea osteomielitei la oasele gambei drepte, tot intramedular, au fost administrate 8 doze terapeutice (400 mln de celule) de remediu preparat din celulele sistemului locomotor extrase de la un embrion de porc de 39 de zile. Suplimentar s-au aplicat pe plaga zonei afectate de osteomielită 4 doze de remediu în formă de pansament pe toată durata tratamentului cu periodicitatea de 3...7 zile. În iulie 2003 s-a constatat consolidarea pseudoartrozei, iar în octombrie 2003 s-a constatat clinic și radiologic stoparea completă a osteomielitei.

- 35 Practica utilizării remediului propus demonstrează că remediul biostimulator preparat din embrioni de porc cu accentul pe selectarea de celule ale sistemului locomotor este eficient pentru tratarea unui spectru larg de maladii ale sistemului locomotor la bolnavi de diferite vârste și grad diferit de netratate a bolilor.

40

MD 2876 B1 2005.10.31

6

(57) Revendicări:

1. Remediu biostimulator al sistemului locomotor ce conține cultură tisulară xenoembri-
nară primară, în cantitate eficientă, **caracterizat prin aceea că** cultura tisulară primară este obținută
5 din sistemul locomotor al embrionului de porc la vârsta de 35...39 de zile cu adăugarea celulelor
din sângele embrionului în cantitate de 5,5...9,5% de la masa ei.
2. Remediu biostimulator, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** cultura
tisulară xenoembriionară primară este obținută preferențial din embrioni la vârsta de 37 de zile.
3. Remediu biostimulator, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** cantitatea
10 eficientă de cultură tisulară primară obținută din sistemul locomotor al embrionului de porc în
remediul o constituie doza de 50 mln celule primare.

15

(56) Referințe bibliografice:

1. MD 1585 G2 2001.01. 31

Șef Secție:

GUȘAN Ala

Examinator:

TIMONIN Alexandr

Redactor:

LOZOVANU Maria

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2004 0150		
(22) Data depozit: 2004.06.15		
(51) ⁷ : A 61 K 35/12, 35/14, 35/32, 35/34; A 61 P 19/00		
(54) Titlul : Remediu biostimulator al sistemului locomotor		
(71) Solicitantul : PANEA Hristofor, MD		
Termeni caracteristici :		
a) limba română: cultură tisulară primară, sistemul locomotor, embrionul, porc		
b) limba engleză: primary tissue culture, locomotor system, embryo, pig		
I. Minimul de documente consultate (sistemul clasificării și indici de clasificare Int. Cl.- 7)		
Int. Cl. ⁷ A 61 K 35/12, 35/14, 35/32, 35/34; A 61 P 19/00 (SU) colecția de certificate de autor la BRTȘ		
II. Literatura tehnico-științifică consultată adăugător la minim de documentație (autori, titluri, editura, țara și data publicării)		
III. Baze de date electronice consultate (denumirea BD și termen de documentare)		
(MD) Baza de date naționale: 1994-2005		
(EA)) Baza de date: http://www.eapo.org/private/		
http://www.fips.ru/russite/		
http://ipdl.wipo.int/		
http://www.nal.usda.gov/bic/Biotech_Patents/		
http://ep.espacenet.com		
IV. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD 1585 G2 2001.01. 31	
☐ Documentele următoare sunt indicate în rubrica IV		☐ Informația referitoare la brevete paralele se anexează
* categoriile speciale ale documentelor consultate:		P - document publicat înainte de data depozit, dar după data priorității invocate
A - document care definește stadiul anterior general		T - document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția
E - document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta data		X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat de unul singur
L - document care poate pune în discuție data priorității invocate sau poate contribui la determinarea datei publicării altor divulgări sau pentru un motiv expres (se va indica motivul)		Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură, aceasta combinație fiind evidentă pentru o persoană de specialitate
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere sau orice altă divulgare		& - document care face parte din aceeași familie de documente
Data finalizării documentării: 04.08.2008		
Examinatorul:		TIMONIN Alexandr