



MD 1226 G2

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) 1226 (13) G2
(51) Int. Cl.⁶: A 61 K 39/395, 35/18

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: 98-0206 (22) Data depozit: 06.10.1998	(42) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 31.05.1999, BOPI nr. 5/99
(71) Solicitant: Mordvinov Ghenadie, MD (72) Inventator: Mordvinov Ghenadie, MD (73) Titular: Mordvinov Ghenadie, MD	

(54) Preparat pentru tratamentul afecțiunilor reumatoide

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la medicină și este destinată
tratamentului bolnavilor cu afecțiuni reumatoide.

Preparatul propus conține imunoglobulină G
umană modificată termic în formă de soluție apoasă
de 10% și un purtător corpuscular în formă de
suspensie apoasă de 10-16% de eritrocite umane
sterile conservate în raportul de volum al consti-
tuentelor respectiv în limitele de 1:6 ... 1:10.

2
Rezultatul tehnic constă în inhibarea sintezei
factorului reumatoid, în acțiunea antiinflamatoare
și de imunostimulare și în crearea unui efect de
depozitare.

Revendicări: 3

5

10

MD 1226 G2

MD 1226 G2

3

Descriere:

Invenția se referă la medicină și este destinată tratamentului bolnavilor cu afecțiuni reumatoide.

5 Afecțiunile reumatoide (artrita reumatoidă, colagenozele sistemice) prezintă o patologie gravă, circa 5% din populația globului suferind de aceasta. Factorul reumatoid se consideră veriga principală în patogeneza acestor afecțiuni. El formează complexi antigen-anticorp cu imunoglobulina G (IgG) care, depunându-se în capilare, activează reacțiile inflamatoare și conduc la dezvoltarea semnelor clinice ale patologiei reumatoide. Acțiunea asupra formării factorului reumatoid poate preveni dezvoltarea afecțiunilor reumatoide.

10 Este cunoscut preparatul de imunoglobulină G umană, care se utilizează în tratamentul afecțiunilor reumatoide. Preparatul se obține prin separarea imunoglobulinei clasei G din serul sangvin uman și fragmentarea ei cu ajutorul fermentilor. Acest preparat se folosește pentru administrare intravenoasă în doze mari și în termene îndelungate de terapie. Mecanismul acțiunii terapeutice a acestui preparat este necunoscut, dar se presupune că el blochează sistemul reticuloendotelial și lucrul B-limfocitelor [1].

15 Acest preparat are o serie de neajunsuri. Principalul neajuns constă în aceea că preparatul acționează nesemnificativ asupra sintezei factorului reumatoid, totodată suprimând imunoglobulinele necesare în organismul pacientului. Preparatul se administrează doar intravenos, ceea ce poate duce la dezvoltarea reacțiilor anafilactice. Pentru a atinge un efect terapeutic sunt necesare doze mari de preparat (până la 10 g) administrate timp îndelungat (până la 4-10 luni).

20 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție este de a spori eficacitatea și inofensivitatea tratamentului bolnavilor cu afecțiuni reumatoide.

25 Neajunsurile sus-menționate se înlătură prin aceea că se propune un preparat ce conține imunoglobulină G umană modificată termic în formă de soluție apoasă de 10% și un purtător corpuscular în formă de suspensie apoasă de 10-16% de eritrocite umane sterile conservate, în raportul de volum al constituenților, respectiv, în limitele de 1:6...1:10.

30 Sporirea eficacității tratamentului afecțiunilor reumatoide cu IgG modificată poate fi explicată astfel. Este cunoscut faptul că factorul reumatoid reprezintă o imunoglobulină a serului sangvin uman, de regulă, din clasa IgM, care reacționează cu anumiți receptori situați pe fragmentele Fc ale imunoglobulinelor clasei IgG. Adică, factorul reumatoid reprezintă un anticorp contra propriilor autoantigeni - imunoglobulinelor G. Una din metodele de suprimare a sintezei anticorpilor este introducerea în organism a acelor antigeni, contra cărora se produc anticorpulii. Astfel de metodă este pe larg utilizată în tratamentul reacțiilor alergice produse de diverse alergene (polen ș.a.). În scopul tratamentului afecțiunilor reumatoide utilizarea IgG pentru administrare intravenoasă sau IgG nemodificate este nejustificată, deoarece astfel de forme ale IgG nu reacționează cu factorul reumatoid și nu joacă rol de antigen pentru acesta. Însă, în urma tratării termice a IgG (în regimul de temperatură indicat) are loc modificarea structurii conformaționale a lor și, ca rezultat, se deschid receptorii pentru factorul reumatoid, inaccesibili de obicei. Astfel, IgG modificată posedă proprietatea de a fixa factorul reumatoid, acționând, în așa mod, asupra sintezei acestuia. Modificarea termică a IgG este cea mai simplă din punct de vedere tehnic și mai inofensivă, de aceea în preparatul propus se utilizează IgG modificată termic.

40 Pentru suprimarea sintezei anticorpilor este necesară activarea sistemului reticuloendotelial, fapt care a necesitat transformarea IgG umane modificate solubile în formă depozitată insolubilă prin adsorbția lor pe un purtător corpuscular. Anume astfel de forme acționează cel mai eficace asupra macrofagelor. În calitate de purtători corpusculari în medicină se utilizează hidroxizi de aluminiu, zinc etc. Una din variante a fost utilizarea eritrocitelor umane conservate cu formaldehidă.

45 Eritrocitele, fiind introduse în țesuturile moi, provoacă o reacție macrofagală locală, ce activează sistemul opsono-fagocitar și, ca rezultat, are loc mobilizarea capacității de protecție a organismului. Eritrocitele conservate cu formaldehidă se păstrează un timp mai îndelungat în locul de introducere, deoarece membrana lor devine mai rezistentă la acțiunea fermentilor proteolitici și a altor factori ai rezistenței nespecifice. Are loc un efect de depozitare, când eritrocitele se distrug lent, ceea ce condiționează o eliberare mai lentă și de lungă durată a IgG în organismul pacientului și prelungeste acțiunea de stimulare a preparatului asupra sistemului opsono-fagocitar. Mai mult decât atât, este cunoscut că elementele tisulare în urma conservării formează substanțe biologice active, care intensifică procesele fermentative și biochimice, reacțiile imune și inhibă reacția inflamatoare. Astfel, utilizarea eritrocitelor în calitate de purtător corpuscular permite de a

MD 1226 G2

4

folosi preparatul intr-o formă originală de hemoterapie, ce produce o acțiune antiinflamatoare, de biostimulare și imunostimulare, cu eliberarea treptată a IgG în organismul pacientului. Eliberarea treptată a IgG permite de a reduce cantitatea de IgG necesară pentru a atinge un efect clinic de la 10 g (doza terapeutică a preparatului celei mai apropiate soluții analoge) până la 50 mg, adică de 200 ori, preparatul posedând o acțiune durabilă.

5 Conservarea eritrocitelor cu formaldehidă a rezolvat simultan două probleme: stabilizarea membranelor eritrocitelor și sterilizarea preparatului. Este cunoscut faptul că eritrocitele native se distrug în decurs de 15 zile, pe când cele conservate cu formaldehidă, conform supravegheților noastre, se păstrează până la 5 ani fără a-și pierde proprietățile. Formaldehida se utilizează pe larg in calitate de conservant (de ex., în transplantologie), demonstrându-și cu plenitudine inofensivitatea și capacitățile crescute de conservare. Concomitent, formaldehida posedă și proprietăți de imunostimulare și de reducere a activității antigenice a elementelor tisulare.

10 Pe parcursul cercetărilor noastre s-a stabilit că în preparatul propus raportul de volum al agentului activ - IgG umană modificată, față de purtătorul corpuscular - suspensie de 10-16% de eritrocite sterile conservate cu formaldehidă, în limita valorilor corespunzătoare de 1:6...1:10 este optimă, deoarece anume la acest raport al constituenților are loc adsorbția completă a IgG pe eritrocite și se atinge un efect clinic favorabil și stabil. Creșterea acestui raport conduce la un efect clinic mai slab pronunțat, iar reducerea lui este nejustificată, intrucat la dozele crescute de IgG efectul clinic rămâne același.

20 Ansamblul factorilor prezentați ne demonstrează o eficacitate crescută a preparatului propus în tratamentul afecțiunilor reumatoide în comparație cu cel al celei mai apropiate soluții analoge. Acest fapt se atinge prin: 1) acțiunea specifică asupra sintezei factorului reumatoid; 2) creșterea eficacității tratamentului prin producerea unui efect de depozitare; 3) reducerea riscului reacțiilor anafilactice, datorită introducerii subcutanate a preparatului; 4) reducerea considerabilă a cantității de IgG necesară pentru o serie de terapie de la 10 g la 50 mg, adică de 200 ori.

25 Eficacitatea terapeutică a preparatului constă în combinarea acțiunii specifice a IgG asupra sintezei factorului reumatoid și acțiunii nespecifice a eritrocitelor conservate cu formaldehidă, ceea ce produce un efect antiinflamator, de imunostimulare și sporire a capacității de protecție a organismului, precum și în acțiunea prelungită a preparatului.

30 Astfel, rezultatul invenției constă în inhibarea sintezei factorului reumatoid, în acțiunea antiinflamatoare și de imunostimulare și în crearea efectului de depozitare. Totodată, preparatul mai posedă o serie de avantaje: reducerea cantității de IgG necesară pentru o serie de terapie, a riscului de reacții anafilactice, a termenelor de tratament și prevenirea proceselor de suprimare a formării imunoglobulinelor normale ale serului sangvin.

35 Preparatul prezintă o suspensie de particule de culoare brun-roșcată, fără miros. Se păstrează în flaconașe de sticlă astupate ermetic cu dop de cauciuc și un căpăcel de aluminiu. La păstrare se formează un sediment de culoare brun-roșcată și un supernatant străveziu. Durata de păstrare a preparatului, la temperatura de +4-8°C, este de 3,5 ani. Înainte de întrebuințare flaconașul minuțios se resuspensionează.

40 Preparatul se obține în modul următor.

De la stația de hemotransfuzie se iau 100 ml de sange uman de donator cu grupa sangvină AB0 Rh-negativ, cu testele negative la antigenii virușilor HIV, hepatită virală și sifilis. Eritrocitele se separă de serul sangvin. În condiții de asepsie eritrocitele se spală de 3 ori cu 1L de ser fiziologic steril și în componența acestuia se suspensionează, obținând o suspensie de 10-16%. 45 Atent se adaugă soluție izotonică neutră de formaldehidă până la obținerea concentrației finale a acesteia de 0,2-2%. Suspensia obținută se menține în termostat la temperatura de 37°C în decurs de 24 ore, fiind amestecată periodic în primele 8 ore. După aceasta eritrocitele se spală triplu cu ser fiziologic steril, se resuspensionează, obținând o concentrație a eritrocitelor în ser fiziologic de 10-16%. Suspensia de eritrocite conservate se amplasează în fiole sterile astupate ermetic și se păstrează la temperatura de 4-5°C timp de 5 ani până la utilizare.

50 Pentru obținerea preparatului eritrocitele sterile conservate se spală cu ser fiziologic steril și în componența acestuia în formă de suspensie de 10-16% se toarnă în flaconașe sterile, se acoperă cu un dop de cauciuc și un căpăcel și se amplasează în termostat. După menținerea la temperatura de 37°C în decurs de 24 ore se controlează la sterilitate. Acest preparat steril se utilizează pentru adsorbția IgG umane modificate. Fiola cu preparatul comercial de IgG umană de 10% pentru administrare intramusculară se aduce la temperatura de 56°C în decurs de 15 min, apoi până la temperatura de 60°C în decurs de 15 min. În fiola ce conține 2-4 ml de suspensie de 10-16% de eritrocite sterile conservate cu formaldehidă se introduc 0,5 ml de IgG umană agregată de 10%. Se

MD 1226 G2

5

menține în termostat la temperatura de 37°C timp de 24 ore. După confirmarea sterilității preparatul poate fi utilizat. Preparatul obținut este valabil în decurs de 3,5 ani.

5 **Exemplul 1.** Pacientei B. cu diagnosticul de artrită reumatoidă s-a administrat preparatul propus subcutanat de 5 ori în doză de 0,5 ml zilnic. Preparatul administrat a fost pregătit conform metodei descrise mai sus în raportul de volum al constituentelor de 1:10, conținând 0,5 ml de soluție de 10% de imunoglobulină G umană și 5 ml de suspensie de 16% de eritrocite umane sterile conservate cu formaldehidă. Înainte de seria de terapie titrul factorului reumatoid determinat prin reacția Vaaler-Rose constituia 1:4, iar cel determinat cu ajutorul antigenului - test Refa-Dac (ce conține IgG umană agregată și IgG de iepure orientată în spațiu - PTMD 13-15796482-013-96) - 1:16 (în normă valorile acestor teste sunt negative). Peste 4 zile după seria de terapie titrul factorului reumatoid a devenit negativ. Clinic starea pacientei s-a ameliorat intrat, 10 că după a 3-a injecție ea a încălțat pantofi cu tocuri înalte, pe care nu-i putea purta deja de 3 ani.

15 **Exemplul 2.** Pacientei M. cu diagnosticul de lupus eritematos sistemic s-a administrat preparatul subcutanat de 5 ori în doză de 1 ml zilnic. Preparatul administrat a fost pregătit conform metodei descrise mai sus în raportul de volum al constituenților de 1:6, conținând 0,5 ml de soluție de 10% de imunoglobulină G umană și 3 ml de suspensie de 16% de eritrocite umane sterile conservate cu formaldehidă. Înainte de seria de terapie titrul factorului reumatoid determinat prin reacția Vaaler-Rose constituia 1:2, cel determinat cu ajutorul antigenului - test Refa-Dac - 1:8, cel determinat prin latex-test - 1:4, titrul anticorpilor la ADN nativă constituia 1:8 20 (în normă valorile acestor teste sunt negative). Peste 4 zile după finisarea seriei de terapie se determinau următoarele titruri ale factorului reumatoid: prin latex-test 1:2, prin reacția Vaaler-Rose și prin intermediul diagnosticului Refa-Dag - negative. Titrul anticorpilor la ADN nativă a scăzut până la 1:1. Clinic starea pacientei s-a ameliorat semnificativ, complet a dispărut sindromul articular, din eritemul facial a rămas doar o mică pată.

25 Preparatul a fost utilizat în 5 cazuri de artrită reumatoidă și 1 caz de lupus eritematos sistemic. Toți pacienții au menționat ameliorarea stării generale într-o perioadă scurtă de timp de la începutul tratamentului (peste 5 zile), administrând o doză sumară de preparat relativ nu mare (în medie 3,8 ml). După tratamentul efectuat titrul factorului reumatoid complet a dispărut la 2 pacienți și semnificativ a scăzut la ceilalți pacienți. Efectul terapeutic se menținea pe parcursul întregii perioade de supraveghere (peste 3 luni). 30

Menționând cele expuse, poate fi trasă concluzia că preparatul propus pentru tratamentul afecțiunilor reumatoide va permite a spori semnificativ eficacitatea tratamentului unor astfel de pacienți.

35

(57) Revendicări:

1. Preparat pentru tratamentul afecțiunilor reumatoide, ce include imunoglobulină G umană, 40 **caracterizat prin aceea că** suplimentar conține un purtător corpuscular, iar în calitate de imunoglobulină G umană se utilizează imunoglobulină G umană modificată termic.

2. Preparat, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** în calitate de purtător corpuscular conține suspensie de eritrocite umane sterile conservate.

3. Preparat, conform revendicărilor 1 și 2, **caracterizat prin aceea că** conține soluție apoasă de 10% de imunoglobulină G umană modificată și suspensie apoasă de 10-16% de eritrocite 45 umane sterile conservate în raportul de volum al constituenților în limitele respectiv de 1:6 ... 1:10.

50

(56) Referințe bibliografice:

Combe B., Gosso B., Clot J., Bonneau N., Sany J. Human placenta-eluted gammaglobulins in immunomodulating treatment of rheumatoid arthritis. Am. J. Med., 1985, nr. 78, p. 920-928

Șef secție:

CRECETOV Veaceslav

Examinator:

CEBAN Aurelia

Redactor:

ANDRIUȚĂ Victoria