



(51) МПК
A61M 5/32 (2006.01)
A61K 38/14 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)
G09B 23/28 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61M 5/32 (2019.05); A61K 38/14 (2019.05); G09B 23/28 (2019.05)

(21)(22) Заявка: 2019118254, 13.06.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 13.06.2019

Дата регистрации:
 23.12.2019

Приоритет(ы):
 (22) Дата подачи заявки: 13.06.2019

(45) Опубликовано: 23.12.2019 Бюл. № 36

Адрес для переписки:
 308015, Белгородская обл., г. Белгород, ул.
 Победы, 85, стр. НИУ "БелГУ", ОИС,
 Цуриковой Н.Д.

(72) Автор(ы):

Гуреев Владимир Владимирович (RU),
 Покровский Михаил Владимирович (RU),
 Локтева Татьяна Ивановна (RU),
 Анциферова Оксана Евгеньевна (RU),
 Юракова Алеся Викторовна (RU),
 Покровская Татьяна Григорьевна (RU),
 Пересыпкина Анна Александровна (RU),
 Корокин Михаил Викторович (RU),
 Гудырев Олег Сергеевич (RU),
 Победа Анна Сергеевна (RU),
 Якушев Владимир Иванович (RU),
 Корокина Лилия Викторовна (RU),
 Лазарева Галина Анатольевна (RU),
 Гуреева Елена Геннадиевна (RU),
 Жилинкова Людмила Анатольевна (RU),
 Затолокина Мария Алексеевна (RU),
 Щуровская Кристина Владимировна (RU),
 Колесниченко Павел Дмитриевич (RU),
 Пахомов Сергей Петрович (RU),
 Северинова Ольга Владимировна (RU),
 Голубев Иван Владимирович (RU),
 Ивахно Елена Николаевна (RU),
 Поветка Елена Евгеньевна (RU),
 Гуреева Анастасия Владимировна (RU),
 Вайн Дарья Сергеевна (RU),
 Мурашев Борис Владимирович (RU),
 Прошин Антон Юрьевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное автономное
 образовательное учреждение высшего
 образования "Белгородский государственный
 национальный исследовательский
 университет" (НИУ "БелГУ") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: RU 2466462 C1, 10.11.2012. JP
 2015221816 A, 10.12.2015. АНЦИФЕРОВА О.Е.
 и др. "Коррекция триметазидином
 эндотелиальной (см. прод.)

RU 2 709 833 C1

RU 2 709 833 C1

(54) Способ коррекции микроциркуляции в плаценте асиалированным эритропоэтином при ADMA-подобной модели преэклампсии

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно экспериментальной фармакологии, и может быть использовано для коррекции нарушения микроциркуляции в плаценте при ADMA-подобной модели преэклампсии. Для этого воспроизводят модель преэклампсии у крыс линии Wistar путём ежедневного с 14 по 20 сутки беременности внутрибрюшинного введения L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг.

При этом для коррекции моделируемой патологии вводят асиалированный эритропоэтин подкожно в дозировке 2,4 мкг/кг 1 раз в сутки с 10 по 20 сутки беременности. Способ обеспечивает выраженную коррекцию микроциркуляции в плаценте при моделируемой патологии за счёт выраженного противоишемического и антиоксидантного действия вводимого асиалированного эритропоэтина. 1 табл., 1 пр.

(56) (продолжение):

дисфункции при ADMA-подобной модели преэклампсии" // "Смоленский медицинский альманах", N4, 2018, стр.174-175. ЕЛАГИН В.В. и др. "Исследование ренопротективных свойств производных эритропоэтина на модели ишемии-перфузии почек" // "Кубанский научный медицинский вестник", N25(6), 2018, стр.73-77. ЕЛАГИН В.В. и др. "Подходы к коррекции ишемических и реперфузионных повреждений почек в эксперименте" // "Научные результаты биомедицинских исследований", т.4, N3, 2018, стр.63-69. JOSHI D et al. "Review of the role of erythropoietin in critical leg ischemia". *Angiology*. 2010 Aug;61(6):541-50, реферат, найдено 09.08.2019 из PubMed PMID: 20462898. YANAGAVA T et al. "Asialoerythropoietin exerts stronger angiogenic activity than erythropoietin via its binding affinity to tissue". *Cardiovasc Drugs Ther*. 2013 Apr;27(2):117-24, реферат, найдено 09.08.2019 из PubMed PMID: 23314760.

R U 2 7 0 9 8 3 3 C 1

R U 2 7 0 9 8 3 3 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61M 5/32 (2006.01)
A61K 38/14 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)
G09B 23/28 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61M 5/32 (2019.05); A61K 38/14 (2019.05); G09B 23/28 (2019.05)(21)(22) Application: **2019118254, 13.06.2019**(24) Effective date for property rights:
13.06.2019Registration date:
23.12.2019

Priority:

(22) Date of filing: **13.06.2019**(45) Date of publication: **23.12.2019 Bull. № 36**

Mail address:

308015, Belgorodskaya obl., g. Belgorod, ul.
Pobedy, 85, str. NIU "BelGU", OIS, Tsurikovo
N.D.

(72) Inventor(s):

**Gureev Vladimir Vladimirovich (RU),
Pokrovskij Mikhail Vladimirovich (RU),
Lokteva Tatyana Ivanovna (RU),
Antsiferova Oksana Evgenevna (RU),
Yurakova Alesya Viktorovna (RU),
Pokrovskaya Tatyana Grigorevna (RU),
PeresyPKina Anna Aleksandrovna (RU),
Korokin Mikhail Viktorovich (RU),
Gudyrev Oleg Sergeevich (RU),
Pobeda Anna Sergeevna (RU),
Yakushev Vladimir Ivanovich (RU),
Korokina Liliya Viktorovna (RU),
Lazareva Galina Anatolevna (RU),
Gureeva Elena Gennadievna (RU),
Zhilinkova Lyudmila Anatolevna (RU),
Zatolokina Mariya Alekseevna (RU),
Shchurovskaya Kristina Vladimirovna (RU),
Kolesnichenko Pavel Dmitrievich (RU),
Pakhomov Sergej Petrovich (RU),
Severinova Olga Vladimirovna (RU),
Golubev Ivan Vladimirovich (RU),
Ivakhno Elena Nikolaevna (RU),
Povetka Elena Evgenevna (RU),
Gureeva Anastasiya Vladimirovna (RU),
Vajn Darya Sergeevna (RU),
Murashev Boris Vladimirovich (RU),
Proshin Anton Yurevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Belgorodskij gosudarstvennyj
natsionalnyj issledovatel'skij universitet" (NIU
"BelGU") (RU)**

(54) METHOD OF PLACENTAL MICROCIRCULATION CORRECTION BY ASIALIZED ERYTHROPOIETIN IN ADMA-LIKE MODEL OF PREECLAMPSIA

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, namely

experimental pharmacology, and can be used for correction of placental microcirculation in ADMA-like

model of preeclampsia. That is ensured by reproducing a model of preeclampsia in Wistar rats by daily intraperitoneal introduction of L-nitro-arginine-methyl ester 25 mg/kg from 14th to 20th day of pregnancy. That is combined with administration of asialized erythropoietin subcutaneously in dose of 2.4 mcg/kg once day from 10th to 20th day of pregnancy to correct

the simulated pathology.

EFFECT: method provides pronounced correction of microcirculation in placenta in simulated pathology due to pronounced anti-ischemic and antioxidant action of administered asialized erythropoietin.

1 cl, 1 tbl, 1 ex

R U 2 7 0 9 8 3 3 C 1

R U 2 7 0 9 8 3 3 C 1

Изобретение относится к медицине, в частности к экспериментальной фармакологии.

Наиболее близким к заявленному решению является способ коррекции нарушения микроциркуляции в плаценте с помощью рекомбинантного эритропоэтина (RU № 2466462, публ. 10.11.2012), включающий воспроизведение модели гестоза у крыс линии Wistar ежедневным с 14 по 20 сутки беременности внутрибрюшинным введением L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг, а для коррекции моделируемой патологии вводят подкожно рекомбинантный эритропоэтин в дозе 50 МЕ/кг на 7, 10, 13, 16, 19 сутки беременности.

Недостатком указанного способа является то, что связываясь с гомодимерным рецептором эритропоэтин может активировать эритропоэз, что приводит к нарушению реологических свойств крови и является нежелательным явлением при ишемии (Enhancement of ventricular-subventricular zone-derived neurogenesis and oligodendrogenesis by erythropoietin and its derivatives / N. Kaneko, E. Kako, K. Sawamoto // Front Cell Neurosci. – 2013.; Erythropoietin: recent developments in the treatment of spinal cord injury / S. Carelli, G. Marfia, A. Maria Di Giulio).

Данный факт обуславливает невозможность повышения дозы эритропоэтина при его низкой эффективности. Поэтому результаты коррекции микроциркуляции при ADMA-подобной модели патологии у беременных животных с использованием рекомбинантного эритропоэтина неудовлетворительны.

Одним из направлений устранения этого недостатка, является создание производных эритропоэтина с коротким периодом жизни. Для активации цитопротекторных эффектов эритропоэтину достаточно связаться с гетеродимерным рецептором на короткое время (5 минут). Для активации эритропоэза необходимо длительное постоянное нахождение эритропоэтина на гомодимерном рецепторе (Enhancement of ventricular-subventricular zone-derived neurogenesis and oligodendrogenesis by erythropoietin and its derivatives [Text] / N. Kaneko, E. Kako, K. Sawamoto // Front Cell Neurosci. – 2013; Erythropoietin: recent developments in the treatment of spinal cord injury [Text] / S. Carelli, G. Marfia, A. Maria Di Giulio [et al.] // Neurol Res Int. - 2011; The use of erythropoietin and its derivatives to treat spinal cord injury [Text] / A. Mofidi, A. Bader, S. Pavlica [et al.] // Mini Rev Med Chem. – 2011).

Однако, не смотря на очевидные предпосылки, вопрос об эффективности исследуемого производного в связи с изменением его времени жизни остается неоднозначным. Это связано с тем, что в различных тканях и органах метаболические, регуляторные и другие процессы имеют свои не только временные, но и другие особенности. Плацента представляет собой динамично развивающийся орган со сложным сочетанием процессов органогенеза и апоптоза. Кроме этого изменение пространственной структуры, массы и заряда так же оставляют открытым вопрос о проницаемости его через тканевые барьеры (и в частности фетоплацентарный).

В связи с выше изложенным, задачей изобретения является создание более эффективного способа коррекции нарушений микроциркуляции при ADMA-подобной модели преэклампсии, включающего использование асиалированного эритропоэтина (ООО «Протеиновый контур»), обладающего коротким периодом полувыведения.

Поставленная задача решается с помощью предлагаемого способа в котором на фоне моделирования преэклампсии в эксперименте внутрибрюшинным введением беременным самкам крыс линии Wistar в течение 7 суток ADMA-подобного блокатора эндотелиальной NO-синтазы - N-нитро-L-аргинин-метилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг проводится коррекция нарушений микроциркуляции подкожным введением асиалированного эритропоэтина в дозировке 2,4 мкг/кг 1 раз в день с 10 по 20 сутки

беременности. Это приводит к выраженной коррекции микроциркуляции в плаценте при моделируемой патологии. Данный эффект связан с выраженным противоишемическим и антиоксидантным действием асиалированного эритропозтина.

СПОСОБ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ СЛЕДУЮЩИМ ОБРАЗОМ

5 Опыты проводят на белых беременных крысах самках линии Wistar массой 250-300 г. N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) вводится внутривентриально в дозе 25 мг/кг/сут в течение 7 дней (с 14 по 20 день беременности). Асиалированный эритропозтин вводится подкожно с 10 по 20 сутки беременности в дозировке 2,4 мкг/кг 1р/день.

10 На 21 день беременности под наркозом измеряли микроциркуляцию в плаценте. Исследование микроциркуляции в плаценте проводили с помощью оборудования компании Viopac systems: полиграф MP100 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) LDf100C и датчиком TSD144. Регистрация результатов ЛДФ производилась программой Acqknowledge версии 3.8.1, значения микроциркуляции выражались в перфузионных единицах (ПЕд).

15 При статистической обработке данных рассчитывается среднее значение, величину стандартного отклонения. Различия считаются достоверными при $p < 0,05$.

ПРИМЕР КОНКРЕТНОГО ВЫПОЛНЕНИЯ.

20 Блокада NO-синтазы, вызванная 7-дневным введением L-NAME беременным крысам, приводила к нарушению микроциркуляции в плаценте, о чем свидетельствует снижение ее величины с $492,8 \pm 21,07$ ПЕд у интактных беременных животных до $211,8 \pm 6,03$ ПЕд ($p < 0,05$) в группе контроля. Подкожное введение асиалированного эритропозтина в дозировке 2,4 мкг/кг 1р/день с 10 по 20 сутки беременности на фоне ADMA-подобной модели преэклампсии у беременных крыс также приводило к достоверному повышению уровня микроциркуляции в плаценте до $443,2 \pm 22,96$ ПЕд, что выше, чем у животных в группе с введением L-NAME ($p < 0,05$), и несущественно ниже чем у животных в интактной группе.

30 Таким образом, полученные результаты убедительно свидетельствуют о выраженной коррекции нарушения микроциркуляции в плаценте в условиях воспроизводимой нами ADMA подобной модели преэклампсии у беременных крыс асиалированным эритропозтином. Влияние асиалированного эритропозтина на показатели артериального давления и микроциркуляцию приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Группа Показатель	Беременные <u>интактные</u>	Беременные + L-NAME	Беременные + L-NAME + <u>асиалированный</u> <u>эритропозтин</u> (2,4 мкг/кг)
Микроциркуляция, пер. ед.	492,8±21,07	211,8±6,03	443,2±22,96

(57) Формула изобретения

Способ коррекции нарушения микроциркуляции в плаценте при ADMA-подобной модели преэклампсии, включающий воспроизведение модели преэклампсии у крыс линии Wistar ежедневным с 14 по 20 сутки беременности внутривентриальным введением

L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг, отличающийся тем, что для коррекции моделируемой патологии вводят асиалированный эритропоэтин подкожно в дозировке 2,4 мкг/кг 1 раз в сутки с 10 по 20 сутки беременности.

5

10

15

20

25

30

35

40

45