



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 121577

(13) C2

(51) МПК

A61K 35/62 (2006.01)

A61P 37/04 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

- (21) Номер заявки: **a 2017 12102**
- (22) Дата подання заявки: **08.12.2017**
- (24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **25.06.2020**
- (41) Публікація відомостей про заявку: **25.04.2018, Бюл.№ 8**
- (46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.06.2020, Бюл.№ 12**
- (72) Винахідник(и):
**Амінов Руслан Флузович (UA),
Фролов Олександр Кирилович (UA),
Федотов Євген Рудольфович (UA)**
- (73) Власник(и):
**ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,
вул. Жуковського, 66, м. Запоріжжя, 69600
(UA)**

- (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
RU 2634631 C1, 02.11.2017
RU 2145500 C1, 20.02.2000
RU 2033173 C1, 20.04.1995
Амінов Р.Ф. та ін. Фагоцитарна та метаболічна активність нейтрофілів щурів на ранніх етапах постембріонального розвитку за впливу біологічно активних речовин сольового екстракту *Hirudo verbena*. Вісник Дніпровського університету. Біологія, медицина, 06.12.2016 р., С. 96-100
Амінов Р.Ф. та ін. Вплив біологічно активних речовин сольового екстракту медичної п'явки на фагоцитарну активність нейтрофілів і цитоморфометричні зміни лімфоцитів крові людини у культурі. Біологічні системи, 2015, Т. 7, Вип. 1, С. 108-112
UA 80665 U, 10.06.2013
Амінов Р.Ф. Вплив біологічно активних речовин медичної п'явки на імунологічну реактивність нейтрофілів і лімфоцитів крові людини у культурі. Актуальні питання біології, екології та хімії, 2014, Том 8, №2, С. 59-66
Фролов О.К. та ін. Вплив екзогенних біологічно активних речовин медичної п'явки на біологічні властивості *Escherichia coli* 3912/41. Мікробіологія і біотехнологія. 2014, № 1, С. 94-100
CN 107050058 A, 18.08.2017
CN 102920736 A, 13.02.2013
Амінов Р.Ф. Гемопоетична активність кісткового мозку щура на фоні впливу сольового екстракту *Hirudo verbena* Carena, 1820. Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, 2018, Вип. 30, С. 87-94
Аминов Р.Ф. и др. Влияние внутриутробной нагрузки биологически активными веществами солевого экстракта *Hirudo verbena* на морфометрические и гематологические показатели крыс на ранних этапах постэмбрионального развития. Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2016, №4, С. 6-11

UA 121577 C2

- | | |
|--|---|
| | <p>(56) Амінов Р.Ф. та ін. Морфометричні показники тіла щурів на ранніх етапах постембріонального розвитку на фоні впливу антигенів сольового екстракту медичної п'явки в передембріональний і ембріональний періоди розвитку. Вісник Запорізького національного університету, 2016, №1, С. 43-49</p> |
|--|---|

(54) СПОСІБ ІМУНОСТИМУЛЯЦІЇ ТВАРИН

(57) Реферат:

Винахід стосується способу імуностимуляції тварин природним фізіологічним імуномодулятором, де як імуномодулятор внутрішньочеревно вводять тварині фізіологічний екстракт із тіл медичної п'явки у кількості 5 мкг/г маси один раз на тиждень, впродовж місяця.

Винахід належить до ветеринарії, природничої фармації та медицини, і може бути використаний у сільському господарстві та ветеринарній медицині, для підвищення здоров'я, продуктивності та корекції імунodefіцитних станів тварин та їх приплоду.

Відомий спосіб імуностимуляції тварин [Пат. 2634631 Россия, МПК А61Н39/08, А61К35/32, А61Р37/02. Способ коррекции иммунодефицитных состояний биоматериалом "Аллоплант"/ Мирхайдаров Р.Ш., Уразбахтин Р.К., Мирхайдарова З.М, Ручко А. Ю.; заявитель и патентообладатель Мирхайдаров Р. Ш. - № 2016147494; заявл. 02.12.2016; опубл. 02.11.2017, Бюл. № 31], що включає підшкірне введення у біологічно активні точки (до 12 ін'єкцій одноразово) біоматеріалу "Аллоплант", розведеного у фізіологічному розчині у співвідношенні 30-50 мг біоматеріалу на 12 мл розчину, у кількості 0,5-1,0 мл у одній ін'єкції, від 1 до 10 сеансів за курс.

Недоліками цього способу є його складність, значна кількість ін'єкцій та об'єму введеної речовини, значний проміжок часу від введення біоматеріалу до досягнення ефекту.

Ознаками, спільними з рішенням, що заявляється є парантеральне введення тварині імунomodулятора.

Відомий спосіб імуностимуляції тварин [Пат. 2145500 Россия, МПК А61К35/14, А61К38/19. Средство для иммуностимуляции / Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В.; заявитель и патентообладатель Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. - № 98120969/14; заявл. 23.11.1998; опубл. 20.02.2000, Бюл. № 5], що включає зовнішнє використання комплексу імунопептидів, отриманих культивуванням стимульованих лейкоцитів периферійної крові ссавців з наступним виділенням цільового продукту у дозі 100 мкг/мл для лікування гнійно-запального процесу в експериментальних тварин.

Недоліками цього способу є складність отримання цільового продукту, використання значної кількості продукту, значний проміжок часу від введення біоматеріалу до досягнення ефекту, висока вартість та необхідність вузькоспеціалізованого обладнання.

Спільними ознаками з рішенням, що заявляється, є: використання фізіологічного імунomodулятора природного походження.

В основу винаходу поставлено задачу розробити спосіб імуностимуляції тварин, який шляхом парантерального введення фізіологічного екстракту із тіл медичних п'явок, що дозволяє ефективно стимулювати імунну систему та використовувати спосіб у сільському господарстві та ветеринарній медицині для підвищення здоров'я та продуктивності тварин і їх приплоду, для корекції імунodefіцитних станів у тварини.

Суттєвими ознаками способу, що заявляється, є внутрішньочеревне введення фізіологічного екстракту із тіл медичних п'явок у кількості 5 мкг/г маси тварини один раз на тиждень впродовж місяця.

Відмінними від прототипу ознаками, є внутрішньочеревне введення фізіологічного екстракту із тіл медичних п'явок у кількості 5 мкг/г маси тварини один раз на тиждень впродовж місяця.

Для підтвердження ефективності дії імунomodулятора виконані in vitro та in vivo імунологічні, фізіологічні, гістоморфологічні дослідження.

Новизна заявленого способу полягає в тому, що тварині вводять терапевтичну дозу біологічно активних речовин фізіологічного екстракту із тіл медичних п'явок.

Спосіб здійснюється так:

Дорослим статевозрілим нелінійним самкам щурів масою 200 грам внутрішньочеревно вводять фізіологічний екстракт у кількості 5 мкг/г маси тварини один раз на тиждень впродовж місяця.

Приклад конкретного виконання

Для підтвердження ефективності способу імуностимуляції тварин було проаналізовано 20 нелінійних статевозрілих самок після вигодовування приплоду, а також 60 одиниць (30 жіночої та 30 чоловічих статі) їх приплоду у динаміці на 1, 30, 60-ту добу. Сформовано по дві групи: контрольну та дослідну із рівною кількістю особин.

Було досліджено морфометричні параметри тіла тварин та їх кров, стабілізовану гепарином. Здійснено підрахунок кількості лейкоцитів за методом П'ятницького та проаналізовано лейкоцитарну формулу крові, кількість еритроцитів, гемоглобін, кольоровий показник та фагоцитарну активність лейкоцитів (фагоцитарний та нітросиній тетразолний тести) з дріжджами (*Saccharomyces cerevisiae*). Розраховано мітотичний індекс кісткового мозку. Досліджено морфометричний та морфологічний стан селезінки та тимусу.

У експериментальній групі самок нелінійних щурів порівняно з контрольною групою зареєстровано тенденцію до збільшення ваги та довжини тіла, окружності грудної клітки та живота, тварини були активніші із підвищеним апетитом, а після виведення їх з експерименту на

60 добу мали збільшену вагу, ширину та довжину імунних органів (селезінки та тимусу). Таку ж тенденцію до збільшення відмічали у їх приплоду, починаючи з першої доби.

Було проаналізовано вроджену ланку імунітету під впливом фізіологічного екстракту із тіл медичних п'явок при дослідженні поглинаючої та окисно-відновної активності нейтрофілів у тварин відмічено збільшення обох показників, як у самок щурів, так і їх припліді на всіх етапах досліджу.

Як свідчать отримані дані, наведені у табл. 1, у дослідних самок та їх приплоду на всіх етапах дослідження збільшується функціональна активність проліферативних клітин кісткового мозку і як наслідок збільшення всіх цитологічних показників у порівнянні з контрольною групою тварин $P \leq 0,05$.

Таблиця 1

Мітотична активність кісткового мозку щурів ($x \pm SE$, $n=10$)

Група тварин	Мітотичний індекс, %о	
	контроль	дослід
статевозрілі самки	17,86 $\pm$ 1,45	24,15 $\pm$ 1,71**
приплід - 1 доба	18,67 $\pm$ 0,94	33,22 $\pm$ 3,62***
приплід - 30 доба	12,05 $\pm$ 1,32	15,76 $\pm$ 0,46**
приплід - 60 доба	13,92 $\pm$ 0,64	16,83 $\pm$ 1,31*

Примітка: *- $P < 0,05$; **- $P < 0,01$; ***- $P < 0,001$, показники, що достовірно відрізняються від контролю.

Кількість лейкоцитів в артеріовенозній крові після декапітації самок була збільшена на 40,02 %, кількість еритроцитів - на 7,01 %, гемоглобін - на 20,5 % табл. 2.

Таблиця 2

Гематологічні показники крові ($x \pm SE$, $n=10$).

Група тварин		Показники			
		лейкоцити/л ($\times 10^9$)	еритроцити/л ($\times 10^{12}$)	гемоглобін, г/л	кольоровий показник
самки	контроль	6,79 $\pm$ 0,11	5,87 $\pm$ 0,11	147,95 $\pm$ 2,15	0,72 $\pm$ 0,02
	дослід	10,68 $\pm$ 0,33	6,19 $\pm$ 0,22	197,82 $\pm$ 8,12	0,89 $\pm$ 0,06
приплід - 1 доба	контроль	7,69 $\pm$ 0,51	1,79 $\pm$ 0,17	77,46 $\pm$ 3,45	1,77 $\pm$ 0,18
	дослід	8,22 $\pm$ 0,32	2,29 $\pm$ 0,05	103,14 $\pm$ 2,54	1,74 $\pm$ 0,29
приплід - 30 доба	контроль	4,97 $\pm$ 0,18	2,76 $\pm$ 0,08	108,42 $\pm$ 2,11	1,08 $\pm$ 0,13
	дослід	4,74 $\pm$ 0,07	3,81 $\pm$ 0,26***	116,04 $\pm$ 5,52	0,99 $\pm$ 0,13
приплід - 60 доба	контроль	5,54 $\pm$ 0,15	4,16 $\pm$ 0,14	133,01 $\pm$ 3,44	0,91 $\pm$ 0,07
	дослід	7,23 $\pm$ 0,47***	5,25 $\pm$ 0,06	146,41 $\pm$ 2,73**	0,88 $\pm$ 0,05

Примітка: *- $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$, показники, що достовірно відрізняються від контролю.

У приплоду дослідних щурів зареєстроване збільшення еритроцитарних та лейкоцитарних показників. При аналізі лейкоцитарної формули крові встановлено, що у відносному співвідношенні популяцій лейкоцитів дослідної групи щурів відсутній вплив імуномодулятора на гомеостатичне диференціювання лейкоцитів при мієлопоезі та лімфопоезі. Разом з тим абсолютні значення співвідношення популяції лейкоцитів у дослідної групи тварин суттєво збільшувалися, як наслідок збільшення їх загальної кількості під впливом стимуляції мітотичного індексу.

Дія фізіологічного екстракту із тіл медичних п'явок, як імуномодулятора, спрямована на морфогенетичні процеси імунної системи, спільним проявом дії було підвищення фізичних параметрів тіла дослідних тварин.

На тканинному рівні вплив фізіологічного екстракту із тіл медичних п'явок підтверджено стимуляцією мієлоїдної та лімфоїдної тканин (селезінки та тимусу) і, як наслідок, зареєстроване

збільшення кількості еритроцитів, лейкоцитів, розмірів селезінки та тимусу. При дослідженні морфологічних змін у імунних органів: у селезінці (білій пульпі) зареєстроване підвищення площі та діаметра лімфатичних фолікулів, центральних артеріол та кількості лімфоцитів на одиницю площі (400 мкм), у тимусі приплоду, як в корковій, так і мозковій речовинах

5 зареєстровано збільшення кількості клітин на одиницю площі, переважання коркової над мозковою речовиною, що свідчить про імуностимулюючу дію біологічно активних речовин фізіологічного екстракту з тіл медичних п'явок на розвиток кровотворного (селезінку) та імунного (тимус) органів.

10 Отже, використання запропонованого способу імуностимуляції тварин дозволяє підвищити здоров'я і продуктивність дорослих тварин та їх приплоду, здійснювати корекцію імунодефіцитних станів тварини у сільському господарстві та ветеринарній медицині. Спосіб маловитратний, простий у використанні та може бути впроваджений імунологічні лабораторії.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

15 Спосіб імуностимуляції тварин природним фізіологічним імуномодулятором, який **відрізняється** тим, що як імуномодулятор внутрішньочеревно вводять тварині фізіологічний екстракт із тіл медичної п'явки у кількості 5 мкг/г маси один раз на тиждень, впродовж місяця.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601