

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2676641

СПОСОБ СТИМУЛЯЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЬНО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО РОСТА В ЛЁГКИХ КРЫС

Патентообладатель: *федеральное государственное бюджетное учреждение "Ростовский научно-исследовательский онкологический институт" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Кит Олег Иванович (RU), Франциянц Елена Михайловна (RU), Каплиева Ирина Викторовна (RU), Трепитаки Лидия Константиновна (RU), Котиева Инга Мовлиевна (RU), Шалашная Елена Владимировна (RU), Ишониная Оксана Георгиевна (RU)*

Заявка № 2018112353

Приоритет изобретения 05 апреля 2018 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 09 января 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 05 апреля 2038 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев





ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G09B 23/28 (2018.08)

(21)(22) Заявка: 2018112353, 05.04.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
05.04.2018

Дата регистрации:
09.01.2019

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 05.04.2018

(45) Опубликовано: 09.01.2019 Бюл. № 1

Адрес для переписки:

344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63,
РНИОИ, Ишониной О.Г.

(72) Автор(ы):

Кит Олег Иванович (RU),
Франциянц Елена Михайловна (RU),
Каплиева Ирина Викторовна (RU),
Трепитаки Лидия Константиновна (RU),
Котиева Инга Мовлиевна (RU),
Шалашная Елена Владимировна (RU),
Ишонина Оксана Георгиевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
учреждение "Ростовский
научно-исследовательский онкологический
институт" Министерства здравоохранения
Российской Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2388064 C1, 27.04.2010. RU
2375758 C1, 10.12.2009. RU 2650587 C1,
16.04.2018. RU 2475864 C1, 20.02.2013. BY
13765 C1, 30.10.2010. КОТИЕВА И.М. и др.
Повышение степени злокачественности
меланомы на фоне хронической боли у
самок мышей. ж. Злокачественные опухоли,
2017, т. 7, N 3-S1, с. 123-124. КИТ О.И. и др.
Некоторые механизмы повышения (см.
прод.)

(54) СПОСОБ СТИМУЛЯЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЬЮ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО РОСТА В ЛЁГКИХ КРЫС

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к экспериментальной онкологии и может быть использовано для стимуляции хронической болью злокачественного роста в легких крыс. За 2 недели до перевивки опухоли создают модель хронической боли путем перевязки седалищных нервов с двух сторон. Проводят перевивку путем введения в подключичную вену суспензии опухолевых клеток саркомы М1 в

физиологическом растворе в объеме 0,5 мл и в разведении 1:10. Результаты эксперимента оценивают через 1,5-2 месяца после перевивки опухоли. Способ обеспечивает получение эффективной модели злокачественного процесса в легких с высокой воспроизводимостью за счет дополнительного воздействия хронической болью при перевивке опухолевых клеток. 1 табл.

(56) (продолжение):

злокачественности меланомы на фоне хронической боли у самок мышей. Российский журнал боли, 2017, N 2 (53), с. 14-20.

R U 2 6 7 6 6 4 1 C 1

R U 2 6 7 6 6 4 1 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

G09B 23/28 (2018.08)(21)(22) Application: **2018112353, 05.04.2018**(24) Effective date for property rights:
05.04.2018Registration date:
09.01.2019

Priority:

(22) Date of filing: **05.04.2018**(45) Date of publication: **09.01.2019** Bull. № 1

Mail address:

**344037, g. Rostov-na-Donu, 14-ya liniya, 63,
RNIIOI, Ishoninoj O.G.**

(72) Inventor(s):

**Kit Oleg Ivanovich (RU),
Frantsiyants Elena Mikhajlovna (RU),
Kapljeva Irina Viktorovna (RU),
Trepitaki Lidiya Konstantinovna (RU),
Kotieva Inga Movlievna (RU),
Shalashnaya Elena Vladimirovna (RU),
Ishonina Oksana Georgievna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe
uchrezhdenie "Rostovskij
nauchno-issledovatel'skij onkologicheskij
institut" Ministerstva zdravookhraneniya
Rossijskoj Federatsii (RU)****(54) METHOD OF STIMULATING CHRONIC PAIN OF MALIGNANT GROWTH IN LUNG RATS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, namely to experimental oncology and can be used to stimulate chronic pain of malignant growth in the lungs of rats. 2 weeks before tumor transplantation, is created a model of chronic pain by bandaging the sciatic nerves on both sides. Inoculation is carried out by introducing into the subclavian vein a suspension of tumor cells of sarcoma M1 in physiological solution in a volume of

0.5 ml and at a dilution of 1:10. Results of the experiment are assessed 1.5–2 months after tumor inoculation.

EFFECT: method provides an effective model of a malignant process in the lungs with high reproducibility due to the additional effect of chronic pain during the transplantation of tumor cells.

1 cl, 1 tbl

Изобретение относится к экспериментальной медицине, а именно - к экспериментальной онкологии, и может быть использовано для воспроизведения злокачественного процесса в легких крыс, путем стимуляции хронической болью.

В настоящее время определено, что хроническая боль не является симптомом какого-либо заболевания, а представляет собой самостоятельную нозологию (см. Яхно Н.Н., Кукушкин М.Л. Хроническая боль: медико-биологические и социально-экономические аспекты // Вестник РАМН. 2012; 9: 54-58). Известно, что хроническая боль запускает механизмы нарушения гомеостаза. Болевые воздействия разного характера вызывают изменения основных видов обмена веществ, мобилизацию адаптивных метаболических механизмов и повреждение тканей.

Установлено, что длительная хроническая боль перестраивает течение биохимических процессов в организме, изменяет работу ферментов, нарушает иммунитет. Часто хроническая боль сопутствует онкологической патологии (см. Leppert W., Zajaczkowska R., Wordliczek J. et al. Pathophysiology and clinical characteristics of pain in most common locations in cancer patients // J. Physiology and Pharmacology. 2016; 67(6): 787-799). При этом механизмы хронической боли, возникающей на фоне злокачественного процесса, могут быть разными.

Особый интерес представляет часто встречающаяся нейропатическая боль, которая возникает в результате сдавливания нервного ствола растущей опухолью (см. Malfliet A., Leysen L., Pas R., Kuppens K., Nijs J., Van Wilgen P., Huysmans E., Goodman L., Ikmans K. Modern pain neuroscience in clinical practice: used for post-cancer, pediatric and sports pain // Braz J Phys Ther. 2017; 21, (4): 225-232). Так, у нормальных безопухолевых мышей нейромедиаторы в спинном мозге высвобождались только в ответ на сильное болевое раздражение, в то время как у мышей с раком костей в ответ на обычную безболезненную пальпацию зоны, пораженной опухолью, возникали выраженные болевые ощущения, которые были вызваны активацией рецепторов нейрокининовой системы особой субпопуляции нейронов спинного мозга вследствие высвобождения вещества Р в центростремительных нервных волокнах, а также появления c-fos протеина в нейронах спинного мозга (см. Hunt S.P., Mantyh P.W. The molecular dynamics of pain control // Nat Rev Neurosci. 2001; 2(2): 83-91).

С другой стороны, хроническая боль может влиять на злокачественный процесс. Боль может вызывать прогрессирование рака через иннервацию опухоли (см. Magnon C., Hall S.J., Lin J., Xue X., Gerber L., Freedland S.J., Frenette P.S. Autonomic nerve development contributes to prostate cancer progression // Science. 2013; 341 (6142): 1236361. doi: 10.1126/science. 1236361) и высвобождение тахикининов, таких как вещество Р (см. Garcia-Recio S., Fuster G., Fernandez-Nogueira P. et al. Substance P autocrine signaling contributes to persistent HER2 activation that drives malignant progression and drug resistance in breast cancer // Cancer Res. 2013; 73(21): 6424-6434. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4573), эндогенные опиоидные пептиды, которые модулируют иммунную функцию (см. Boehncke S., Hardt K., Schadendorf D., Henschler R., Boehncke W.H., Duthey B. Endogenous μ -opioid peptides modulate immune response towards malignant melanoma // Exp Dermatol. 2011; 20(1): 24-28. doi: 10.1111/j.1600-0625.2010.01158.x) или простагландины (см. Mantyh P.W. Cancer pain and its impact on diagnosis, survival and quality of life // Nat Rev Neurosci. 2006; 7(10): 797-809). Т.е. хроническая боль является одним из промоуторов злокачественного процесса.

Наиболее распространенной онкопатологией в большинстве стран мира является рак легкого. В России за последние 20 лет заболеваемость злокачественными новообразованиями легкого выросла более чем в 2 раза (см. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2010 году

(заболеваемость и смертность). - М.: ФГУ МНИОИ им. П.А. Герцена Росздрава, 2012. - 255 с.). Кроме того злокачественное поражение легких часто является признаком прогрессирующего различных злокачественных процессов: рака молочной железы, желудочно-кишечного тракта, щитовидной железы, мочевого пузыря и почек, матки и яичников, меланомы кожи и сарком мягких тканей (см. Riggio M., Perrone M.C., Polo M.L. et al. AKT1 and AKT2 isoforms play distinct roles during breast cancer progression through the regulation of specific downstream proteins // *Sci Rep.* 2017; 7:44244. doi: 10.1038/srep44244; см. Hovgaard T.B., Nymark T., Skov O., Petersen M.M. Follow-up after initial surgical treatment of soft tissue sarcomas in the extremities and trunk wall // *Acta Oncol.* 2017; 1-9. doi: 10.1080/0284186X.2017.1299937).

Установлено, что одной из причин снижения продолжительности жизни при раке различных локализаций, в том числе и при раке легкого является хроническая боль (см. Efficace F., Bottomley A., Smit E.F. et al. Is a patient's self-reported health-related quality of life a prognostic factor for survival in non-small-cell lung cancer patients? A multivariate analysis of prognostic factors of EORTC study 08975 // *Ann Oncol.* 2006; 17(11): 1698-1704; см. Zylla D., Kuskowski M.A., Gupta K., Gupta P. Association of opioid requirement and cancer pain with survival in advanced non-small cell lung cancer // *Br J Anaesth.* 2014; 113(Suppl 1): i109 - i116. doi: 10.1093/bja/aeu351; Quinten C., Coens C., Mauer M. et al. Baseline quality of life as a prognostic indicator of survival: a meta-analysis of individual patient data from EORTC clinical trials // *Lancet Oncol.* 2009; 10(9): 865-871. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70200-1). Поэтому изучение роли хронической боли в патогенезе злокачественных новообразований легких в эксперименте представляется актуальным.

Одной из удобных моделей для экспериментальных исследований является саркома М1. Саркома М1 относится к числу быстрорастущих опухолей с достаточно коротким инкубационным периодом, отличается большой биомассой и высокой степенью перевиваемости: 98-100% (см. Коноплев В.П. Перевиваемые опухоли // в кн. «Модели и методы экспериментальной онкологии (практическое пособие)». Под ред. А.Д. Тимофеевского, М., 1960. - С. 144-162). Однако данный опухолевый штамм до настоящего времени перевивали только подкожно и не предпринимались попытки для воспроизведения саркомы М1 в ткани легкого.

Из патентных разработок известен «Способ воспроизведения злокачественного процесса в эксперименте», осуществляемый путем введения клеток саркомы 45 в подключичную вену крыс (см. Патент на изобретение RU 2388064 C1, опублик. 27.04.2010 г., Бюл. №12). Способ обеспечивает 100% воспроизводимость, приводя к перевиваемости опухолевых трансплантатов во всех случаях, при этом легкие являются единственным органом, пораженным опухолью. Однако в данном способе перевивали саркому С-45, а не М1, кроме того не исследовали влияние хронической боли на выход опухоли и степень перевиваемости.

Техническим результатом данного изобретения является разработка способа воспроизведения злокачественного процесса в легких крыс, путем стимуляции хронической болью.

Технический результат достигается тем, что крысам-самцам предварительно, за 2 недели до перевивки опухоли, создают модель хронической боли путем перевязки седалищных нервов с двух сторон, с последующей перевивкой путем введения в подключичную вену суспензии опухолевых клеток саркомы М1 в физиологическом растворе в объеме 0,5 мл и в разведении 1:10 и оценкой результатов эксперимента через 1,5-2 месяца после перевивки опухоли.

Изобретение «Способ стимуляции хронической болью злокачественного роста в

легких крыс» является новым, так как оно неизвестно в области экспериментальных исследований в онкологии о влиянии хронической боли на воспроизведение саркомы М1 в легких крыс.

Новизна изобретения заключается в предваряющем внутривенную перевивку саркомы М1 воссоздании модели хронической боли у крыс, что способствует образованию опухолей в легких.

Изобретение «Способ стимуляции хронической болью злокачественного роста в легких крыс» является промышленно применимым, так как может быть использовано в научно-исследовательских учреждениях онкологического профиля для воспроизведения экспериментальной модели злокачественного процесса в легких крыс, протекающем на фоне хронического болевого синдрома с целью изучения особенностей патогенеза этого процесса и дальнейшей разработки методов его экспериментальной коррекции.

«Способ стимуляции хронической болью злокачественного роста в легких крыс» выполняется следующим образом.

Все манипуляции с животными производятся в боксе. Инструменты, посуду, руки дезинфицируют общепринятым способом. Каждому животному вводят ксила-золетилловый наркоз: за 10 минут до основного наркоза с целью премедикации животному внутримышечно вводят ксилазин (препарат Ксила) в дозе 0,05 мл/кг массы тела (по инструкции), затем - Золетил-50 в дозе 10 мг/100 г массы тела. После наступления медикаментозного сна ассистент фиксирует крысу в положении на животе, удаляет шерсть сзади в районе проекции седалищных нервов и смазывает кожу 70% спиртом. Экспериментатор в стерильных условиях выделяет седалищный нерв, накладывает на него лигатуру, ушивает рану послойно и обрабатывает шов 5% спиртовым раствором йода.

Через 45 дней после заживления операционной раны в подключичную вену вводят 0,5 мл взвеси опухолевых клеток саркомы М1 в физиологическом растворе в разведении ($1 \cdot 10^6$ /л). Для этого, соблюдая все условия асептики, описанные выше, ассистент фиксирует крысу в положении на спине, предварительно сбрив шерсть и обработав кожу 5% спиртовым раствором йода в районе правой ключицы. Экспериментатор вводит иглу шприца с опухолевой взвесью в подключичную вену и натягивает поршень шприца на себя. После того, как в шприце появится кровь - все его содержимое вводят в вену, задерживаясь в ней на несколько секунд. Затем извлекает иглу, место введения плотно прижимает ватным тампоном, смоченным в 70% спирте с небольшим добавлением йода, на 1 минуту, чтобы исключить вытекание вводимой взвеси.

Контролем служили животные с перевивкой саркомы М1 в той же дозе и объеме, что и в основной группе, но без воспроизведения модели хронической боли.

Через 55 дней крысы основной группы (7 штук) началидохнуть. Средняя продолжительность жизни составила 87 дней, максимальная - 128 дней. В контрольной группе (6 штук) пала 1 крыса, продолжительность ее жизни составила 123 дня.

Таблица 1.

Влияние боли на воспроизведение злокачественного процесса в лёгких у
самцов крыс

	М1 в/в	Боль+М1 в/в
Павшие крысы от общего количества животных в группе, %	1 из 6 17 %	6 из 7 86 %
Наличие опухолевых очагов в лёгких, %	нет	6 из 7 86 %

Опухолевые очаги в легких на фоне хронической боли появлялись практически у всех крыс, развивались и приводили к гибели животных. В группе сравнения 1 крыса пала, однако, опухоли в легких обнаружены не были, продолжительность ее жизни оказалась на 36 дней больше, чем средняя продолжительность жизни в основной группе животных с хронической болью. Злокачественные очаги в легких у крыс основной группы были многофокусными, располагались как в правом, так и левом легком, с максимальным количеством новообразований в нижней доли правого легкого, диаметр опухолевых узлов варьировал от 1 до 8 мм. У павшей крысы из группы сравнения легкие были увеличенными, отечными, в плевральной полости - до 1 мл кровянистого экссудата, злокачественные очаги не визуализировались.

Технико-экономическая эффективность «Способ стимуляции хронической болью злокачественного роста в легких крыс» заключается в том, что боль провоцирует выход опухолей в легкие у 86% крыс, приводящее к гибели животных в среднем - через 87 дней. Разработанный способ может служить моделью изучения роли хронической боли в патогенезе злокачественного роста в легких, а также - для поиска путей медикаментозного лечения этой патологии. Способ экономичен, доступен.

(57) Формула изобретения

Способ стимуляции хронической болью злокачественного роста в легких крыс, включающий предварительное, за 2 недели до перевивки опухоли, создание модели хронической боли путем перевязки седалищных нервов с двух сторон, с последующей перевивкой саркомы М1 путем введения в подключичную вену суспензии опухолевых клеток в физиологическом растворе в объеме 0,5 мл и в разведении 1:10 и оценкой результатов эксперимента через 1,5-2 месяца после перевивки опухоли.