



УКРАЇНА

(19) UA (11) 15752 (13) U  
(51) МПК  
G09B 23/28 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С

1

2

(21) u200600461

(22) 18.01.2006

(24) 17.07.2006

(46) 17.07.2006, Бюл. № 7, 2006 р.

(72) Ніколенко Віктор Юрійович, Ніколенко Юрій  
Іванович, Ніколенко Ольга Юріївна(73) ДОНЕЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІ-  
ВЕРСИТЕТ ІМ. М.ГОРЬКОГО(57) Спосіб моделювання хронічного гепатиту С,  
що включає токсичне ушкодження гепатоцитів чо-

тирихлористим вуглецем і формування на них ау-  
тоімунної відповіді, який **відрізняється** тим, що  
після триразового введення чотирьохлористого  
вуглецю дозою 0,25 мл 50% розчину в рафінованій  
олії тваринам вводять триразово гомогенат гомо-  
логічної печінки з повним ад'ювантом Фрейнда  
дозою 0,5; 0,25; 0,25мл через 15 і 9 днів і дворазо-  
во у проміжках азатіоприн дозою 50мг/кг.

Корисна модель належить до медицини, а са-  
ме до способів моделювання хронічного гепатиту  
С.

Є спосіб моделювання токсичного захворю-  
вання печінки, який взято нами як прототип [1]. Він  
полягає в тому, що щурам вводять щодня трьох-  
разово 50% олійний розчин чотирьохлористого  
вуглецю (CCl<sub>4</sub>) із розрахунку 0,45мл на 100г маси  
тіла тварини і отримують моноорганне токсичне  
ураження печінки.

Але цей спосіб має певні недоліки. При цьому  
способі розвивається гостре захворювання, яке не  
носить полісистемного характеру. Захворювання  
розвивається гостро з біохімічними ознаками гепа-  
титу, але з часом біохімічні ознаки минають. Відт-  
ворити типове захворювання можна не у всіх тва-  
рин.

В основі корисної моделі поставлена задача  
створення способу моделювання хронічного гепа-  
титу С, в якому забезпечується розвиток хронічно-  
го активного гепатиту у всіх без винятку тварин,  
що узяті в експеримент.

Ця задача вирішується тим, що в способі мо-  
делювання хронічного гепатиту С шляхом токсич-  
ного ушкодження гепатоцитів чотирьохлористим  
вуглецем і формування на них аутоімунної відпо-  
віді, відповідно до корисної моделі, після чотирьо-  
хразового введення чотирьохлористого вуглецю у  
дозі 0,25мл 50% розчину в рафінованій олії, тва-  
ринам вводять трьохразово гомогенат гомологіч-  
ної печінки з повним ад'ювантом Фрейнда у дозі  
0,5, 0,25, 0,25мл через 15 і 9 днів і дворазово у  
проміжках азатіоприн у дозі 50мг/кг.

Спосіб виконується наступним чином: під шкі-  
ру задньої лапки щурів вводять чотирьохлористо-  
го вуглецю (CCl<sub>4</sub>) у дозі 0,25 мл 50% розчину в  
рафінованій олії чотирьохразово через кожні 5  
днів, а по закінченні в корінь хвоста щурів вводять  
повний ад'ювант Фрейнда 0,5мл, який містить  
0,5мг БЦЖ і 5мг білка гомогената печінки, через 8  
днів вводять азатіоприн у дозі 50мг/кг, а ще через  
7 днів - повний ад'ювант Фрейнда з гомогенатом  
печінки 0,25мл, ще через 5 днів - вводять азатіоп-  
рин у дозі 50мг/кг, через 4 дні - повний ад'ювант  
Фрейнда з гомогенатом печінки 0,25мл.

Досліди проведені на 30 білих безпородних  
щурах з середньою вагою 180,0г. Їх розподілено  
на 2 групи. 1 групу становили інтактні тварини (10  
щурів). 2 група (20 тварин) з моделюванням хроніч-  
ного гепатиту С по повній схемі (під шкіру задньої  
лапки щурів вводили чотирьохлористий вуглець  
(CCl<sub>4</sub>) у дозі 0,25 мл 50% розчину в олії чотирьох-  
разово через кожні 5 днів, а по закінченні в корінь  
хвоста щурів проводили трьохразове введення  
повного ад'юванта Фрейнда з гомогенатом печінки,  
в кількості 0,5, 0,25, 0,25мл, дворазове введення в  
проміжках азатіоприну у дозі 50мг/кг). Через 10  
днів після останнього введення повного ад'юванта  
Фрейнда з гомогенатом печінки тварин забивали  
під ефірним наркозом.

Головний принцип, що покладений в основу  
розробленої моделі хронічного гепатиту С, це по-  
переднє токсичне ураження частини гепатоцитів  
чотирьохлористим вуглецем (CCl<sub>4</sub>) у дозі 0,25мл  
50% розчину, який вводиться через 5 днів, що до-  
зволяє досягти ураження різних груп гепатоцитів,

UA (11) 15752 (13) U

близького до хронічного гепатиту, але не викликає значної токсичної дії на весь організм (в тому числі на лейкоцити), та розвиток після цього повільної вторинної імунної відповіді на використаний антиген (гомогенат аллогенної печінки) в суміші з повним ад'ювантом Фрейнда шляхом його дрібного введення через визначені проміжки часу і використання цитостатичної дії азатіоприну, в дозі 50мг/кг, яка дозволяє викликати загибель лімфоцитів, перед усім супресорної ланки Т-лімфоцитів, під час їх розподілу, але яка менша доз, що викликали б загибель інших клітин кісткового мозку, в визначені моменти максимальної імунної відповіді для пригнічення розвитку своїх імуносупресивних механізмів (Т-, В-супресорів і продукції антиідіотипічних антитіл і лімфоцитів). Таким чином, досягається

розгойдування аутоімунної реакції в бік прогресування і самопідтримування. В моделі використані ті фактори, які часто впливають на людей у житті: одночасний і послідовний вплив гепатонекротичних факторів (віруси, бактерії, токсини), імуностимулюючих (вакцини, ліки та ін.) та імуносупресивних факторів (хімічні чинники), які призводять до розвитку хронічних аутоімунних реакцій і захворювань.

Порівняння результатів біохімічних показників крові у здорових і піддослідних щурів з моделлю гепатиту С свідчить про розвиток у експериментальних тварин гепатиту з порушенням утворення білірубину та з високою активністю ферментів (табл.1).

Таблиця 1

Порівняння результатів біохімічних показників крові у здорових і піддослідних щурів з моделлю гепатиту С

Групи	I група інтактні	II група піддослідна	p
Показники	n=20	n=20	
	1	2	
Білірубін загальний, мкмоль/л	10,20±0,59	16,65±0,60*	p<0,001
АЛТ, мкмоль/чх мл	0,63±0,03	1,91±0,23*	p=0,030
АСТ, мкмоль/чх мл	0,55±0,03	1,12±0,05*	p<0,001

Визначення аутоімунних гуморальних і клітинних реакцій проведено в піддослідних і контрольних тварин шляхом використання реакції пасивної гемаглютинації (РПГА) з н-ДНК і тканинним антигеном печінки, а також пригнічення розповсюдження макрофагів (ПРМ) до цих же антигенів. Результати цих досліджень наведені в Табл.2.

Із наведених даних видно, що підвищення титрів антитіл до н-ДНК і печінки спостерігається у піддослідній групі у порівнянні з інтактними (I група). Це свідчить про системний розвиток аутоімунних реакцій в організмі тварин піддослідної групи, які пов'язані з поліклональною активацією В-

системи імунітету. Вивчення результатів ПРМ до н-ДНК і тканинних антигенів виявило розвиток у II групі вірогідного зниження показника до н-ДНК і антигену печінки в порівнянні з контролем. Це свідчить про розвиток системної реакції гіперчутливості сповільненого типу до н-ДНК і аутоантигенів печінки. Так як в розвитку аутоімунних захворювань суттєву роль грає розвиток ГУТ, то ці результати свідчать на користь розвитку у тварин генералізованого аутоімунного захворювання з залученням гуморальних та клітинних аутоімунних реакцій.

Таблиця 2

Титри аутоантитіл і ПРМ до аутоантигенів у щурів з моделлю хронічного гепатиту С і контрольних тварин (M±m)

	Групи тварин		p<
	I група інтактні	II група піддослідна	
Антитіла до (ln M±m):			
н-ДНК	0,80±0,05	2,80±0,20*	0,001
печінки	0,82±0,05	4,20±0,30*	0,001
ПРМ до антигенів (%):			
н-ДНК	98,2±1,2	36,5±2,8*	0,001
печінки	99,2±2,3	58,6±3,3*	0,001

Примітка: \* - різниця між показниками у експериментальних і інтактних тварин статистично вірогідні.

Розвиток токсичного ураження і аутоімунних реакцій могли привести до значних морфологічних змін структури печінки. Гістологічне дослідження

печінки у піддослідних і контрольних тварин підтверджує це припущення (табл.3).

Згідно розрахунку критерію  $\chi^2=25,71$  в порівнянні з критичною точкою  $\chi^2=10,82$  результати

гістологічного дослідження виявили достовірну схожість до гепатиту С уражень печінки в усіх екс-

периментальних тварин, відмінну від контрольної групи хворих ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 3

Гістологічний висновок у піддослідних і контрольних тварин про подібність до хронічного гепатиту С

Групи	Подібний до гепатиту С	Не подібний до гепатиту С	Усього
Піддослідна група	20	0	20
Контроль	1	9	10
Усього	21	9	30

Таким чином, створена модель хронічного гепатиту С на щурах, відображає гепатонекротичний та аутоімунний процеси, які характерні для хронічного активного гепатиту, викликаного вірусом гепатиту С, і може служити його моделлю.

Переваги запропонованого способу є у тому, що хронічне захворювання розвивається в короткий строк на протязі 6 тижнів. Це захворювання носить характер хронічного активного гепатиту і поступово уражає печінку, що більш подібно до

хронічного гепатиту С у людини. Модель на білих безпородних щурах найбільш дешева.

Джерела інформації:

Левицкий Е.Ф., Глушакова Е.С. Влияние сезон года на эффективность физиотерапевтической коррекции функционального состояния печени при токсическом гепатите в эксперименте // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. - 2005. - №2. - С.17-19.