



УКРАЇНА

(19) UA (11) 37040 (13) A

(51) 7 G09B23/28, A61K35/56

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ПОДАГРИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ

(21) 2000031444

(22) 14.03.2000

(24) 16.04.2001

(33) UA

(46) 16.04.2001, Бюл. № 3, 2001 р.

(72) Синяченко Олег Володимирович, Мухін Ігор Віталійович, Барінов Едуард Федорович, Ніколенко Юрій Іванович, Астахова Наталя Юріївна

(73) Донецький державний медичний університет ім. М. Горького

(57) Спосіб моделювання подагричної нефропатії, що складається із введення щурам повного ад'юванту Фрейнда з дезоксирибонуклеїновою кислотою і вигодовування тварин дріжджовим аутолізатом з молібдатом амонію та інозином, який **відрізняється** тим, що додатково вводять бичачий сироватковий альбумін, імплантують позитивний електрод у хвостову вену і негативний електрод під шкіру спини, проводять електростимуляцію серією прямокутних імпульсів постійного струму частотою 10000 Гц протягом двох годин.

Винахід належить до медицини, а саме - до патологічної фізіології, ревматології, нефрології, і може бути використаний для вивчення патогенезу і розробки нових методів лікування уражень нирок при подагрі.

Найбільш близьким за суттю до способу за даним патентом є спосіб моделювання подагричної нефропатії, котрий полягає у наступному [1]. У досліджах використовують білих безпородних щурів (самців). Тваринам у корінь хвоста вводять повний ад'ювант Фрейнда (ПАФ) з розчином селезінкової дезоксирибонуклеїнової кислоти крупної рогатої худоби (1 мг на 100 г маси). Загальний об'єм складає 0,3 мл на тварину і його вводять із дотриманням правил асептики й антисептики у корінь хвоста (в 2 точки). Тварин утримують на дієті, в котрій білок замінюють дріжджовим аутолізатом (отримують із дріжджів витриманням їх протягом 2 діб при 60°C, наступною стерилізацією при 1,0-1,3 атм. 120-130°C протягом 30 хвилин) з додатком 0,3 мг молібдату амонію і 100 мг інозину на одного щура за добу. Аутолізат дріжджів є джерелом пуринів, молібдат амонію - стимулятором ксантиноксидази, інозин - попередником сечовинної кислоти. На такій дієті тварин утримують протягом місяця. За цей термін розвивається нефропатія, що близька за морфологічними ознаками до такої у хворих на подагру.

Однак зміни з боку нирок розвиваються лише у 2/3-3/4 від числа експериментальних тварин. За основу винаходу поставлено задачу підвищення надійності моделювання подагричної нефропатії шляхом введення тваринам бичачого сироваткового альбуміну (БСА) з ПАФ, імплантації електродів у хвостову вену і під шкіру спини та проведен-

ня електростимуляції серією прямокутних імпульсів постійного струму протягом двох годин.

БСА створює на тлі імунного конфлікту, що викликається введенням ПАФ, позитивно заряджені циркулюючі в крові імунні комплекси (комплекси антиген-антитіло), котрі осідають на негативно заряджених тканинах нирок внаслідок електростатичної взаємодії і викликають запальні зміни, що дозволяє підвищити якість моделювання подагричної нефропатії.

В основу винаходу поставлено задачу створення способу моделювання подагричної нефропатії в якому забезпечується підвищення надійності моделювання і зменшення часу експерименту. Поставлена задача вирішується тим, що в способі моделювання подагричної нефропатії, що містить введення щурам ПАФ з дезоксирибонуклеїновою кислотою селезінки крупної рогатої худоби і вигодовування тварин дріжджовим аутолізатом з молібдатом амонію та інозином, згідно з винаходом, додатково вводять бичачий сироватковий альбумін, імплантують позитивний електрод у хвостову вену і негативний електрод під шкіру спини, проводять електростимуляцію серією прямокутних імпульсів постійного струму частотою 10000 Гц протягом двох годин.

Спосіб здійснюють наступним чином. Тваринам (самцям білих безпородних щурів) у корінь хвоста в 2 точки вводять ПАФ, змішаний з розчином селезінкової дезоксирибонуклеїнової кислоти крупної рогатої худоби (1 мг на 100 г маси) в об'ємі 0,3 мл із дотриманням правил антисептики й асептики. Потім тварин наркотизують внутрішньочеревним введенням тіопенталу (50 мг/кг) та фіксують на операційному столі. Шкіру хвоста у його

основи і в зоні спини тричі обробляють спиртовим розчином йоду. По середній лінії розсікають шкіру хвоста скальпелем та виділяють на лігатурі хвостову вену, в яку вводять стерильний електрод (№ 1). Електрод № 1 фіксують лігатурою, шкіру ушивають й обробляють спиртовим розчином йоду. Інший електрод (електрод № 2) вводять під шкіру спини і також фіксують. Електрод № 2 підключають до негативної клеми електростимулятора ЕС-50-01, а електрод № 1 - до позитивної. На електростимуляторі встановлюють наступні параметри подразнення: період імпульсу 0,1 мс (що відповідає частоті 10000 Гц) тривалість 50 мкс, амплітуда 0 мА. В подушку задньої лапи вводять 100 мкг БСА. Вмикають електростимулятор і поступово обертаючи ручку "Сила струму", встановлюють амплітуду стимуляції, що дорівнює підпороговому значенню, яке викликає посмикування лапи. По закінченню електростимуляції електроди витягують. У подальшому тварин дотримують на дієті, у котрій білок заміщують дріжджовим аутолізатом. Аутолізат отримують із дріжджів витриманням їх протягом 2 діб при 60°C, наступною стерилізацією при 1,0-1,3 атм. 120-130°C протягом 30 хвилин) з додатком 0,3 мг молібдату амонію і 100 мг інозину на одного щура за добу. Через 2 тижні під ефірним рауш-наркозом тварин декапітують, нирки фіксують у 96° спирті, зрізи забарвлюють гематоксиліном-еозіном і за ван Гізеном, ставлять PAS-реакцію і проводять морфологічне дослідження ниркових тканин. За наявності змін у клубочках стромі, каналцях та судинах міркують про відтворення способу.

Критерієм об'єктивності даного способу моделювання подагричної нефропатії були результати дослідження тканин нирок у 100 самців білих безпородних щурів (з масою 180-220 г), яких розподілили на дві групи. 1-у (основну) групу склали 50 тварин, у котрих проведено моделювання подагричної нефропатії за даним способом, а у 2-у (контрольну) - за способом прототипу. В 1-й групі зміни з боку нирок виявлено у 50 (100%) щурів, причому ураження клубочків - у 50 (100%), строми - у 50 (100%), каналців - у 49 (98%) та судин - у 44 (88%). У 2-й групі зміни з боку нирок виявлено у 35 (70%) тварин, причому ураження клубочків - у 35 (70%), строми - у 28 (56%), каналців - у 27 (54%), судин - у 19 (38%). Таким чином, подагрична нефропатія моделюється даним способом в 2 рази швидше, а клубочки, строма, каналні і судини втягаються у патологічний процес відповідно у 1,4, 1,8, 1,8 і 2,3 рази частіше, аніж при прототипі.

#### Приклад

Самцю білого безпородного щура з масою 200 г у корінь хвоста (в 2 точки) вводили ПАФ, змішаний з розчином селезінкової дезоксирибонуклеїнової кислоти крупної рогаї худоби (1 мг на 100 г маси) в об'ємі 0,3 мл із дотриманням правил антисептики й асептики. Потім тварину наркотизували внутрішньочеревним введенням тіопенталу (50 мг/кг) та фіксували на операційному столі. Шкіру хвоста у його основи і в зоні спини тричі обробляли спиртовим розчином йоду. По середній лінії розсікали шкіру хвоста скальпелем та виділяли на лігатурі хвостову вену, в яку вводили стерильний електрод (№ 1). Електрод № 1 фіксували лігатурою, шкіру ушивали й обробляли спиртовим розчином йоду. Інший електрод (електрод № 2) вводили під шкіру спини і також фіксували. Електрод № 2 підключали до негативної клеми електростимулятора ЕС-50-01, а електрод № 1 - до позитивної. На електростимуляторі встановлювали наступні параметри подразнення: період імпульсу 0,1 мс (що відповідає частоті 10000 Гц) тривалість 50 мкс, амплітуда 0 мА. В подушку задньої лапи вводили 100 мкг БСА, вмикали електростимулятор і поступово обертаючи ручку "Сила струму", встановлювали амплітуду стимуляції, що дорівнювала підпороговому значенню, яке викликає посмикування лапи. Після закінчення електростимуляції електроди витягували. У подальшому тварину дотримували на дієті, у котрій білок заміщували дріжджовим аутолізатом. Через 2 тижні під ефірним рауш-наркозом тварину декапітували, нирки фіксували у 96° спирті, зрізи забарвлювали гематоксиліном-еозіном і за ван Гізеном, ставили PAS-реакцію і проводили морфологічне дослідження ниркових тканин. Вміст сечової кислоти у крові був 214 мкмоль/л. Морфологічне дослідження нирки; вогнищеve потовщення базальної мембрани клубочків, проліферація мезангіальних й епітеліальних клітин, збільшення мезангіального матриксу, зрощування капілярів з капсулою Шумлянського-Боумана, її склероз, лімфогістіоцитарна інфільтрація строми, її склероз, дистрофія й атрофія каналців, склероз судин.

Перевагою даного винаходу є підвищення надійності моделювання ураження окремих ниркових структур при подагричній нефропатії у 1,4-2,3 рази, зменшення часу експерименту у 2 рази.

#### Джерело інформації

1. А.с. 1561089 СССР. Способ моделирования подагрической нефропатии / Ю.И. Николенко, О.В. Синяченко, А.И. Дядык и др. (СССР). Заявлено 12.04.88 (№ 4427273), зарегистр. 3.01.90. - 2 с.

---

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)  
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26  
(044) 295-81-42, 295-61-97

---

Підписано до друку \_\_\_\_\_ 2001 р. Формат 60х84 1/8.  
Обсяг \_\_\_\_\_ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. \_\_\_\_\_

---

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.  
(044) 268-25-22

---