



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40281 (13) A

(51) 7 A61B5/00

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

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ АСОЦІЙОВАНОЇ ФОРМИ ХЕЛІКОБАКТЕРНО-ГЕРПЕТИЧНИХ ХРОНІЧНИХ ГАСТРОДУОДЕНІТІВ

(21) 2000116445

(22) 14.11.2000

(24) 16.07.2001

(33) UA

(46) 16.07.2001, Бюл. № 6, 2001 р.

(72) Бекетова Галина Володимирівна, Чайковський
Юрій Богданович, Ніколаєнко Ігор Васильович(73) Київська медична академія післядипломної
освіти ім. П.Л. Шупика, UA(57) Спосіб моделювання асоційованої форми хелікобактерно-герпетичних хронічних гастродуоденітів, який включає індукування у лабораторних тварин гострого гастродуоденіту шляхом застосування ацетатної дієти протягом 10-14 днів, а через 3-5 днів після її закінчення-інфікування *Helicobacter pylori* шляхом введення через рот суспензії 5x10⁸ КУО/мл двічі на день протягом на-

ступних 7 днів, який відрізняється тим, що як експериментальних тварин використовують 21-24-денних нестатевозрілих щурів лінії Wistar обох статей, яким протягом першого дня інфікування одноразово здійснюють аплікацію на слизову оболонку ротової порожнини суспензією чистої культури вірусу простого герпесу першого типу після втирання трипсину протягом 3-9 днів очікують проявів гострого хелікобактерно-герпетичного гастродуоденіту, і через 30-35 днів після інфікування моделюють рецидив герпетичної інфекції шляхом одноразового підслизового введення простину Е2 в місце первинного інфікування вірусом простого герпесу першого типу з очікуванням через 3-9 днів клінічних ознак рецидиву герпетичної інфекції та проявів асоційованої форми хелікобактерно-герпетичного хронічного гастродуоденіту.

Винахід, що пропонується відноситься до галузі медицини, зокрема, до педіатрії і призначений для вивчення в умовах експерименту особливостей патогенезу і ефективності лікування хелікобактерно-герпетичних хронічних гастродуоденітів.

Хронічні гастродуоденіти відносять до найбільш розповсюдженої патології, яка, починаючись в дитячому віці, прогресує і призводить до інвалідації старших верств населення, обумовлюючи не лише медико-соціальні, але й економічні аспекти цієї проблеми. Хронічні гастродуоденіти є багатфакторіальними, поліетіологічними та екозалежними захворюваннями. На сьогоднішній день одним з провідних як патогенетичних так і етіологічних факторів їх розвитку і рецидивування вважається хелікобактерне та асоційоване хелікобактерно-герпетичне інфікування.

Ерадикація *Helicobacter pylori*, в ряді випадків, призводить до припинення рецидивування та усунення явищ запалення в слизовій оболонці шлунку і дванадцятипалої кишки. Однак, при хелікобактерно-герпетичному хронічному гастродуоденіті ерадикація *Helicobacter pylori* не супроводжується виліковуванням захворювання, що пов'язують з негативним впливом вірусів простого герпесу першого типу, тропних до слизової оболонки шлунку і дванадцятипалої кишки, які виділяються в 47% при ерозивно-виразкових ураженнях органів гастро-

оденальної зони. В умовах клініки вивчати особливості патогенезу хелікобактерно-герпетичних хронічних гастродуоденітів досить складно, оскільки, це потребує застосування дорогостоячих та інвазивних методів діагностики (фіброскопія шлунку і дванадцятипалої кишки, їх біопсії) не завжди безпечних для дітей. Крім цього, хронічні гастродуоденіти, як правило, супроводжуються раннім залученням до патологічного процесу суміжних органів травного каналу і інших систем, що не дозволяє виявити провідні патогенетичні механізми саме хронічних гастродуоденітів. Відомі способи моделювання хронічних гастродуоденітів недостатньо відтворюють особливості етіології та патогенезу захворювання і не дозволяють повноцінно вивчати особливості їх розвитку.

Відомий спосіб моделювання гастродуоденітів полягає у викликанні в щурів уражень слизової оболонки шлунку і дванадцятипалої кишки за допомогою розчину ацетату амонію [1]. Спосіб виконують наступним чином. Статевозрілим щурам при вільному доступі до води дають амонію ацетат у концентрації 20 г/л протягом 14 днів з очікуванням клінічних проявів гострого гастродуоденіту.

Такий спосіб забезпечує відтворення гострих гастродуоденітів неінфекційної природи, які рідко діагностуються, оскільки мають, як правило, безсимптомний перебіг.

(19) UA (11) 40281 (13) A

Однак, зазначені особливості не відображують патогенезу хронічних гастродуоденітів, тому вказана модель не може використовуватись для вивчення провідних механізмів патогенезу і ефективності їх терапії. Крім вищезгаданого, у вказаній моделі в якості експериментальних тварин використовують дорослих щурів. Тому отримані в експерименті результати не можуть екстраполюватись на молодих статеві недозрілих тварин і, таким чином, не відображують особливості перебігу захворювання в дитячому віці.

Найближчим аналогом (прототипом) запропонованої моделі асоційованої форми хелікобактерно-герпетичних хронічних гастродуоденітів є інфікування статевозрілих білих щурів (самок) лінії Wistar *Helicobacter pylori* шляхом введення через рот автоматичним дозатором 0,5 мл суспензії чистої культури *Helicobacter pylori* в концентрації 5×10^8 КУО/мл двічі на день протягом 7 днів після ацетатної дієти. Через 7 днів очікують виникнення клінічних ознак гострого гастродуоденіту [2].

Даний спосіб моделювання відтворює інфекційну модель хронічного гастродуоденіту з використанням у якості інфекційного агента *Helicobacter pylori*, який є найбільш вірогідним та поширеним інфекційним фактором формування та рецидивування хронічних гастродуоденітів у дітей.

Однак, у клінічній практиці найбільш актуальною є роль асоціативної флори, в першу чергу, вірусу простого герпесу першого типу, тропного до слизової оболонки шлунку і дванадцятипалої кишки в поєднанні з *Helicobacter pylori*, що не враховано в даному способі інфікування.

Ще одним аналогом (прототипом) запропонованої моделі асоційованої форми хелікобактерно-герпетичних хронічних гастродуоденітів є інфікування морських свинок суспензією чистої культури вірусу простого герпесу першого типу у концентрації Ig5-Ig6 КУЕ на 0,1 мл шляхом аплікації на слизову оболонку ротової порожнини після втирання тріпсіну з очікуванням проявів гострих герпетичних уражень слизової оболонки ротової порожнини [3].

Даний спосіб моделювання відтворює інфекційні ураження лише слизової оболонки ротової порожнини з використанням у якості інфекційного агента вірусу простого герпесу першого типу, який зустрічається в 47% при виразково-ерозивних ушкодженнях верхніх відділів травного каналу.

Однак, у клінічній практиці найбільш актуальною є роль асоціативної флори, в першу чергу, *Helicobacter pylori* у поєднанні з вірусом простого герпесу першого типу, що не враховано в даному способі інфікування. Крім цього, в даному способі інфікування використовують морських свинок, що значно збільшує вартість експериментів.

Задача винаходу полягає в створенні експериментальної моделі асоційованої форми хелікобактерно-герпетичного хронічного гастродуоденіту на білих щурах лінії Wistar, яка б адекватно відтворила особливості етіології і патогенезу захворювання. Технічний результат, який буде досягнутий, полягає в можливості вивчення особливостей патогенезу асоційованої форми хелікобактерно-герпетичних хронічних гастродуоденітів на всіх етапах розвитку захворювання з урахуванням

впливу асоціації збудників, можливості підвищення ефективності лікування та економічності.

Поставлена задача досягається тим, що в якості лабораторних тварин використовують 21-24-денних білих щурів лінії Wistar обох статей, яким протягом першого дня інфікування одноразово здійснюють аплікацію на слизову оболонку ротової порожнини чистої культури вірусу простого герпесу першого типу після втирання тріпсіну, протягом перших 3-9 днів очікують клінічних проявів гострого хелікобактерно-герпетичного гастродуоденіту, через 30-35 днів після інфікування моделюють рецидив герпетичної інфекції шляхом одноразового підслизового введення простіну E2 в місце первинного інфікування вірусом простого герпесу першого типу з очікуванням через 3-9 днів клінічних ознак рецидиву герпетичної інфекції та проявів асоційованої форми хелікобактерно-герпетичного хронічного гастродуоденіту.

Спосіб моделювання асоційованої форми хелікобактерно-герпетичного хронічного гастродуоденіту здійснювали наступним чином. В якості експериментальних тварин використовують 21-24-денних білих щурів лінії Wistar обох статей. В питну воду лабораторних тварин протягом 10-14 днів додавали 20 г/л амонію ацетату. Тварини мали вільний доступ до води. Через 3-5 днів після закінчення ацетатної дієти протягом першого дня інфікування вводили через рот автоматичним дозатором по 0,5 мл суспензії чистої культури *Helicobacter pylori* 5×10^8 КУО/мл та одноразово здійснювали аплікацію на слизову оболонку ротової порожнини суспензії чистої культури вірусу простого герпесу першого типу після втирання тріпсіну з подальшим продовженням введення суспензії чистої культури *Helicobacter pylori* у концентрації 5×10^8 КУО/мл двічі на день протягом наступних 6 днів. Через 3-9 днів від початку інфікування очікують виникнення клінічних ознак гострого хелікобактерно-герпетичного гастродуоденіту. Через 30-35 днів після початку інфікування моделюють рецидив герпетичної інфекції шляхом одноразового підслизового введення простіну E2 в місце первинного інфікування вірусом простого герпесу першого типу з очікуванням через 3-9 днів рецидиву герпетичної інфекції та проявів асоційованої форми хелікобактерно-герпетичного хронічного гастродуоденіту.

Вивчення особливостей патогенезу асоційованої форми хелікобактерно-герпетичного хронічного гастродуоденіту здійснюють з використанням морфологічних, мікробіологічних, імунологічних методів дослідження в динаміці захворювання.

Конкретний приклад здійснення моделювання асоційованої форми хелікобактерно-герпетичних хронічних гастродуоденітів у щурів.

31.12.1999р. В експерименті використовували 210 21-24-денних нестатевозрілих білих щурів лінії Wistar обох статей (35 кліток). З них в якості контролю використовували 46 щурят, які протягом всього експерименту не отримували ацетатну дієту і не були інфіковані *Helicobacter pylori* і вірусом простого герпесу першого типу. Піддослідну групу склали 164 щури обох статей у віці 21-24 днів, які протягом 10 днів (31.12.99-09.01.2000р.) отримували через рот ацетат амонію в концентрації 20 г/л з формуванням гострих неінфекційних уражень

слизової оболонки шлунку і дванадцятипалої кишки. Протягом наступних 3 днів (10.01-12.01) та в подальшому піддослідні тварини не отримували ацетат амонію.

13.01.2000р. На 14 день експерименту, протягом першого дня інфікування щури піддослідної групи через рот мікродозатором двічі на день отримували суспензію чистої культури *Helicobacter pylori* 5x10⁸ КУО/мл та одноразову аплікацію на слизову оболонку ротової порожнини суспензії культури вірусу простого герпесу першого типу після втирання тріпсіну.

14.01-19.01.2000р. Протягом наступних 6 днів тваринам двічі на день продовжували вводити лише суспензію чистої культури *Helicobacter pylori* в вищезазначеній дозі.

З 19.01 по 23.01 у щурів піддослідної групи виявляли клінічні прояви гострого хелікобактерно-герпетичного гастродуоденіту (по 5-тибальній шкалі, яка включає характеристику активності та харчової поведінки тварин, стан шерстяного покриву, диспептичні прояви, стан слизової оболонки ротової порожнини, шлунку і дванадцятипалої кишки).

16.02.2000р. На 35 день після початку інфікування моделювали рецидив герпетичної інфекції шляхом одноразового підслизового введення простіну E2 в місце первинного інфікування вірусом простого герпесу першого типу з очікуванням клінічних ознак рецидиву герпесу протягом 3-9 днів

та проявів асоційованої форми хелікобактерно-герпетичного хронічного гастродуоденіту.

23.02.2000р. Методом евтаназії проводили забори 12 тварин контрольної групи і 24 щурів піддослідної групи для визначення макроскопічних і морфологічних змін в органах травного каналу, тимусі, селезінці, печінці. Проводили забір крові для вивчення стану імунологічної системи. Підтвердження етіологічної ролі *Helicobacter pylori* здійснювали за допомогою гістологічного, бактеріологічного та уреазного методів в біоптатах шлунку і дванадцятипалої кишки. Герпетичне інфікування документували імунофлуоресцентним методом дослідження біоптатів слизової оболонки ротової порожнини, шлунку і дванадцятипалої кишки.

Макроскопічно у всіх тварин піддослідної групи виявлені ерозивно-виразкові пошкодження слизової оболонки ротової порожнини, шлунку і дванадцятипалої кишки.

Джерела інформації.

1. Dial E.J., Hall L.R., Romero J.J., Lichtenberger L.M. (1996). Rats with gastritis have increased sensitivity to the gastrin stimulatory effects of luminal ammonia. *Gastroenterology*.- 110 (3), 801-808.

2. Li H., Mellgard B, Helander H.F. (1997) // *Scandinav. J. Gastroenterol.* (4), 439-44.

3. Рашкова И., Дундарь Г., Вылев И., Дундарь С. (1991) Использование модели герпетического стоматита для исследования противогерпетических средства/Вопросы вирусологии, (3), 242-243.

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 60x84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

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