



УКРАЇНА

(19) UA (11) 63020 (13) U
(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЇ ДІЇ АНТИГЕНІВ

1

(21) u201102218

(22) 25.02.2011

(24) 26.09.2011

(46) 26.09.2011, Бюл.№ 18, 2011 р.

(72) ВОЛОШИН МИКОЛА АНАТОЛІЙОВИЧ, МАТ-
ВЕЙШИНА ТЕТЯНА МИКОЛАЇВНА, ГРІНІВЕЦЬКА
НАТАЛІЯ ВАЛЕРІЇВНА, БУРЕГА ЮРІЙ ОЛЕКСІ-
ЙОВИЧ, ТАЛАНОВА ОЛЬГА СЕРГІЇВНА(73) ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ, ВОЛОШИН МИКОЛА АНАТОЛІ-
ЙОВИЧ, МАТВЕЙШИНА ТЕТЯНА МИКОЛАЇВНА,
ГРІНІВЕЦЬКА НАТАЛІЯ ВАЛЕРІЇВНА, БУРЕГА

2

ЮРІЙ ОЛЕКСІЙОВИЧ, ТАЛАНОВА ОЛЬГА СЕРГІЇ-
ВНА(57) Спосіб моделювання внутрішньоутробної дії
антигенів шляхом введення плодам, які отримані
від лабораторних щурів-самок лінії Вістар, на 18-ту
добу після запліднення шляхом лапаротомії, чере-
зматково, черезоболонково, в навколоплідні води
0,05 мл розчину антигену, який **відрізняється**
тим, що як антиген використовують інактивовану
(вбіту) спліт-вакцину **Ваксігрип 2009/2010** у розве-
денні 1:1 фізіологічним розчином.

Корисна модель належить до експеримента-
льної медицини, а саме анатомії, гістології та іму-
нології, патологічної анатомії, і може бути викорис-
тана з метою вивчення закономірностей будови і
морфогенезу органів та асоційованих з ними лім-
фоїдних утворень після внутрішньоутробної дії
антигенів.

Для моделювання змін імунологічного статусу
плода з метою наступного вивчення закономірнос-
тей змін в будові органів використовується ціла
низка речовин і способів їх введення. Так, напри-
клад, введення гідрокортизону (Павлова
І.Г., 1989), правцевого анатоксину, прогестерону,
гаммаглобуліну (Волошин М.А. 1981), троекратне
підшкірне введення стафілококового анатоксину
вагітним лабораторним тваринам (Сілій В.А.,
1981), що поєднує в собі вплив на організм піддо-
слідної тварини антигену та операційного стресу.

Найбільш близьким за технічною суттю та ре-
зультатом, що досягається, є моделювання експе-
риментальної пролонгованої імунізації плодів, суть
якого полягає у введенні плодам, які отримані від
лабораторних щурів-самок лінії Вістар, на 18-ту
добу після запліднення шляхом лапаротомії, чере-
зматково, черезоболонково, в навколоплідні води
0,05 мл антигену, а саме суспензії сальмонел чер-
евного тифу (Карзов М.В. Закономерности строе-
ния и морфогенеза лимфоидных бляшек тонкой
кишки человека и лабораторных животных в анте-
натальном и постнатальном периодах онтогенеза,
при иммунизации и после введения биологически

активных веществ тимуса. Автореф. дис. на здоб.
наук. ступ, д.мед.н.- Київ, 1991.- 32 с).

Спільними суттєвими ознаками прототипу і ко-
рисної моделі, що заявляється, є такі:

введення відбувається плодам, які отримані
від самок лабораторних щурів лінії Вістар на 18-ту
добу після запліднення шляхом лапаротомії, чере-
зматково, черезоболонково, в навколоплідні води;
вводиться антиген;
вводиться 0,05 мл рідини.

Недоліками прототипу є те, що сальмонела
черевного тифу тропна до лімфоїдних бляшок
саме тонкої кишки та мезентеріальним лімфатич-
ним вузлам. При цьому спостерігається досить
слабка реакція з боку лімфоїдної тканини, асоці-
йованої з іншими відділами шлунково-кишкового
тракту та прилеглими органами. Суспензія саль-
монел черевного тифу не є стандартизованою,
тобто крім безпосередньо вбитих сальмонел міс-
тить домішки інших антигенів, тому при проведенні
експерименту є нагальна необхідність у перераху-
ванні білка, що вводиться експериментальним
тваринам, для кожної партії. Те, що суспензія саль-
монел черевного тифу містить домішки інших
антигенів, викликає певні труднощі в інтерпретації
отриманих даних, тому що неможливо точно вста-
новити, з яким конкретно антигеном пов'язані ті чи
інші отримані результати.

В основу корисної моделі поставлено задачу
удосконалення способу моделювання внутрішньо-
утробної дії антигенів шляхом застосування іншого

(13) U
(11) 63020
(19) UA

антигену, що забезпечить більш фізіологічне моделювання внутрішньоутробної антигенної дії з урахуванням краніокаудального напрямку формування лімфоїдної тканини, асоційованої зі шлунково-кишковим трактом та прилеглими органами, що дозволить уникнути стресу плода, а також отримати більш точні експериментальні дані і дозволить адекватніше аналізувати закономірності змін будови органів шлунково-кишкового тракту та асоційованої з ними лімфоїдної тканини у відповідь на антигенну дію.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі, який полягає у введенні плодам, які отримані від лабораторних щурів-самок лінії Вістар, на 18-ту добу після запліднення шляхом лапаротомії, черезматково, черезоболонково, в навколоплідні води 0,05 мл розчину антигену, новим є те, що вводять інактивовану (вбиту) спліт-вакцину Ваксігрип 2009/2010 у розведенні фізіологічним розчином 1:1.

До складу вакцини Ваксігрип 2009/2010 входять віруси грипу, культивовані на курячих ембріонах, розщеплені з використанням октоксинулу-9, інактивовані формальдегідом, очищені. Потім вірусні протеїни, а саме гемаглютинін та нейрамінідазу, вилучають для створення вакцини Ваксігрип 2009/2010. Самостійно ці протеїни неспроможні викликати захворювання, однак проявляють необхідну антигенну дію. Одна доза вакцини (0,5 мл) Ваксігрип 2009/2010 містить:

A/Brisbane/59/2007(H ₁ N ₁)	15 мкг
A/Brisbane/1 0/2007(H ₃ N ₂)	15 мкг
B/Brisbane/60/2008	15 мкг

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає у такому.

Введення речовин перорально є більш фізіологічним, ніж внутрішньоплідне введення та викликає менший інтраопераційний стрес у експериментальних тварин. Введення антигену в навколоплідні води призводить до потрапляння його до травного тракту. Отже таким чином досягається імунізація тварин. Доведено, що плід закоштує до 1/3 об'єму навколоплідних вод за добу (J.C. Browne, L. Dixon, 1982). Виходячи з цього, весь антиген повинен потрапити до шлунково-кишкового тракту плода, отже його дія буде пролонгованою та не трапиться дезінтеграції антигену. Доказом цього є потрапляння суспензії китайської туші через декілька годин після введення в навколоплідні води до просвіту тонкої кишки та

початкових відділів товстої (Карзов М.В., 1991). Процес становлення лімфоїдної тканини, асоційованої зі шлунково-кишковим трактом та прилеглими органами, відбувається в краніокаудальному напрямку. Тому за допомогою методу ентеральної пролонгованої імунізації плодів шляхом введення антигену до навколоплідних вод можна більш адекватно прослідкувати зміни, що відбуваються у формуванні місцевого імунітету.

Вакцина Ваксігрип 2009/2010 має виражений токсичний, ад'ювантний та пірогенний ефекти, що дає можливість змодельовати процес, близький до патологічного. З іншого боку, введення інактивованої вакцини Ваксігрип 2009/2010 виключає можливість виникнення інфекційного чи онкологічного процесу у піддослідної тварини та, як наслідок, спотворення та недостовірності результатів експериментального дослідження.

Зменшення інтенсивності інтраопераційного стресу у поєднанні з підвищенням ефективності простеження змін у формування місцевого імунітету, а також відсутність розвитку інфекційного чи онкологічного процесу у піддослідної тварини після введення інактивованої вакцини Ваксігрип 2009/2010 є актом гуманного поводження з експериментальними тваринами і повністю відповідає засадам «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 18.03.86). Вакцина Ваксігрип є стандартизованою, тобто однорідною, тому розрахована доза може використовуватися протягом всього експерименту.

Таким чином, сукупність вищезазначених позитивних чинників, забезпечить отримання більш точних експериментальних даних і дозволить більш точно й достовірно аналізувати закономірності змін будови органів та асоційованої з ними лімфоїдної тканини у відповідь на антигенну дію.

Спосіб здійснюють таким чином. Плодам, які отримані від лабораторних щурів-самок лінії Вістар, на 18-ту добу після запліднення шляхом лапаротомії, черезматково, черезоболонково, в навколоплідні води вводиться 0,05 мл розведеної у рівних об'ємах (1:1) фізіологічним розчином вакцини Ваксігрип 2009/2010. Антиген вводять в область рота, подразнюючи при цьому верхню губу плода голкою з метою викликання ковтального рефлексу.

При розведенні вакцини Ваксігрип 2009/2010 з фізіологічним розчином у рівних об'ємах, а саме по 0,025 мл відповідно, смертність серед потомства не перевищувала допустиму межю - 30 % і становила 23,35 % , при цьому всі самки в післяопераційному періоді вижили (див. табл.).

Таблиця

Порядковий номер посліду	Кількість плодів шт.	Кількість живонароджених, шт.	Кількість мертвонароджених, шт.	Смертність, %	Смертність самок
Послід № 1	7	7	-	відсутня	відсутня
Послід № 2	7	1	6	85,71 %	відсутня
Послід № 3	11	11	-	відсутня	відсутня
Послід № 4	9	9	-	відсутня	відсутня
Послід № 5	7	2	5	71,43 %	відсутня
Послід № 6	8	3	5	62,5 %	відсутня
Послід № 7	10	9	1	10 %	відсутня
Послід № 8	8	8	-	відсутня	відсутня
Послід № 9	8	7	1	10 %	відсутня
Послід № 10	9	5	4	44,44 %	відсутня
Послід № 11	7	5	2	28,57 %	відсутня
Послід № 12	5	5	-	відсутня	відсутня
Послід № 13	9	6	3	33,33 %	відсутня
Послід № 14	7	7	-	відсутня	відсутня
Послід № 15	9	6	3	33,33 %	відсутня
Послід № 16	10	8	2	20 %	відсутня
Послід № 17	6	6	-	відсутня	відсутня

Загальна смертність при введенні в навколоплідні води 0,05 мл вакцини Ваксігрип 2009/2010 у розведенні фізіологічним розчином 1:1- 23,35 %.

Виходячи з наведених даних, можна зробити висновок, що при введенні 0,05 мл розчину вакцини Ваксігрип 2009/2010 у розведенні з фізіологіч-

ним розчином 1:1 в навколоплідні води, смертність потомства не перевищує 23,35 % при повній відсутності смертності серед самок, а отже цей шлях введення антигену є оптимальним з метою експериментальних досліджень.