



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40117 (13) U

(51) МПК  
G09B 23/28 (2008.04)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ХРОНІЧНОГО ОТРУЄННЯ АЛКОГОЛЕМ

1

2

(21) u200812542

(22) 27.10.2008

(24) 25.03.2009

(46) 25.03.2009, Бюл. № 6, 2009 р.

(72) КОВАЛЬОВ ГЕННАДІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ,  
UA, ПЕТРЕНКО ОЛЕКСАНДР ЮРІЙОВИЧ, UA,  
САНДОМИРСЬКИЙ БОРИС ПЕТРОВИЧ, UA(73) ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІО-  
МЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК  
УКРАЇНИ, UA

(57) Спосіб моделювання хронічного отруєння алко-  
голем, що здійснюють шляхом непримусової  
алкоголізації тварин розчином етанолу, який **від-  
різняється** тим, що попередньо проводять відбір  
тварин, схильних до вживання етилового спирту, а  
алкоголізацію здійснюють в три етапи, при цьому  
на першому етапі алкоголізацію проводять 5%  
розчином етанолу, на другому – 15% розчином  
етанолу, на третьому – 15% і 96% розчинами ета-  
нолу.

Корисна модель належить до експеримента-  
льної медицини і може бути використана для роз-  
робки нових і удосконалення існуючих методів  
лікування алкоголь-індукованих уражень печінки і  
головного мозку.

Відомий спосіб моделювання алкогольних віс-  
церопатій, який полягає в тому, що протягом 60  
днів здійснюють хронічне отруєння щурів етиловим  
спиртом шляхом внутрішньошлункового введення  
через зонд 48% розчину етанолу в дозі 1мл на  
100г маси. При цьому додатково вводять тетурам  
1 раз на 4 дні, в дозі 0,25мг/кг у вигляді суспензії  
на 48% розчині етанолу [1].

Недоліком способу є те, що він передбачає  
внутрішньошлункове введення етанолу на фоні  
застосування тетураму, який істотно впливає на  
протікання біохімічних процесів в організмі, у тому  
числі в печінці і головному мозку. Крім того, при-  
мусове введення розчину етилового спирту супер-  
ечить принципам біомедичної етики.

Найбільш близьким до заявленого є спосіб  
моделювання хронічного отруєння алкоголем, від-  
повідно до якого самці лабораторних щурів протя-  
гом 2 тижнів непримусово одержують 10% розчин  
етанолу як єдине джерело рідини [2].

Недоліком вказаного способу є те, що він до-  
зволяє отримати алкогольне ураження головного  
мозку і печінки лише в легкій формі, при цьому  
інтенсивність базального і  $Fe^{2+}$ -індукованого пере-  
кісного окислення ліпідів (ПОЛ) підвищується і в  
головному мозку, і в печінці, а активність фермен-  
тативної ланки антиоксидантної системи порушу-  
ється лише в печінці. З клінічного досвіду відомо,  
що у пацієнтів, які звертаються по медичну допо-  
могу, алкоголь-індуковані порушення з боку голо-

вного мозку і печінки, як правило, виражені біль-  
шою мірою. Таким чином, для розробки нових і  
удосконалення існуючих методів лікування цієї  
патології необхідно моделювати більш важке ура-  
ження головного мозку і печінки, особливо, якщо  
досліди проводяться на лабораторних щурах,  
оскільки вони мають досить високу здібність до  
репарації пошкоджених органів після відміни алко-  
голю.

Задачею корисної моделі є удосконалення ві-  
домого способу моделювання хронічного отруєння  
алкоголем шляхом зміни умов алкоголізації тва-  
рин, забезпечуючи таким чином досягнення тяжко-  
го алкоголь-індукованого ураження головного моз-  
ку і печінки.

Ця задача вирішується тим, що у заявленому  
способі моделювання хронічного отруєння алкого-  
лем шляхом хронічної непримусової алкоголізації  
тварин розчином етанолу, згідно з корисною мо-  
деллю, попередньо проводять відбір тварин, схи-  
льних до вживання етилового спирту, а алкогольі-  
зацію здійснюють в три етапи, при цьому на  
першому етапі алкоголізацію проводять 5% розчи-  
ном етанолу, на другому - 15% розчином етанолу,  
на третьому - 15% і 96% розчинами етанолу.

Заявлений спосіб моделювання хронічного от-  
руєння алкоголем забезпечує важке алкоголь-  
індуковане ураження головного мозку і печінки, що  
виявляється значними порушеннями їх морфо-  
функціонального стану, а саме: а) більш вираже-  
ним посиленням базального і  $Fe^{2+}$ -індукованого  
ПОЛ, і, крім того, пригніченням ферментативної  
ланки системи антиоксидантного захисту і в печін-  
ці, і в головному мозку; б) підвищенням в плазмі  
крові маркерів цитолізу печінкових клітин (АЛТ,

(19) UA (11) 40117 (13) U

АСТ), зниженням функціональної активності печінки (зниження рівня альбуміну в плазмі крові, збільшення протромбінового часу, зменшення вмісту цитохрому Р 450 і зниження Амінопірін N - Деметілазної активності в печінці щурів); в) вираженими патоморфологічними змінами в цих органах на клітинному і тканинному рівнях.

Спосіб здійснюють таким чином.

Заздалегідь відбирають тварин, схильних до вживання етилового спирту. Потім проводять хронічне отруєння алкоголем в три етапи. На першому етапі тварини одержують 5% розчин етанолу як єдине джерело рідини, на другому - 15% розчин етанолу як єдине джерело рідини, на третьому - 15% розчин етанолу як єдине джерело рідини і 96% розчин на хлібі.

Приклад.

В експерименті використовували 3-місячних білих безпородних щурів-саміць, оскільки у них вище чутливість до алкоголю і швидше розвивається алкоголь-індуковане ураження головного мозку і печінки.

Відбір тварин, схильних до алкоголізації проводили таким чином. За 1 добу до проведення тесту тварин позбавляли їжі і доступу до води, потім їх поміщали в індивідуальні клітки і давали по 1мл 40% розчину етанолу на шматочках білого хліба. Критерієм відбору була кількість хліба, з'їденого, протягом години. Тварин, що з'їдали менше половини шматочка, вибраковували.

Відібраних тварин (n=20) розподіляли на дві рівні групи - контрольну і експериментальну. Щурів експериментальної групи піддавали алкоголізації.

На першому етапі (протягом одного тижня) щури знаходилися на звичайній дієті, але замість води отримували 5% розчин етанолу.

На другому етапі 5% розчин етанолу замінювався 15% розчином. Тривалість другого етапу складала один тиждень.

Третій етап - інтенсивна алкоголізація. Замість звичайної дієти тварини отримували 15% розчин етанолу як єдине джерело рідини і 96% розчин етанолу на шматочках білого хліба. Добова доза алкоголю складала 14-18г/кг маси тіла на добу.

Двічі на тиждень щури отримували паростки вівса. Тривалість третього етапу складала одинадцять тижнів. Після закінчення третього етапу вивчали морфо-функціональний стан головного мозку і печінки. Результати наведені в Таблицях 1-5.

Як видно з Таблиці 1, алкоголь-індуковане пошкодження гепатоцитів виявлялося підвищенням рівня амінотрансфераз в плазмі крові, порушенням синтезу і секреції експортних білків, посиленням пероксидації ліпідів в печінці, пригніченням глутатіонпероксидазної і каталазної активностей, зниженням вмісту цитохрому Р-450 і амінопірин-деметилазної активності. За даними світлової мікроскопії (Таблиця 2) мали місце різкі порушення структури печінки, як на клітинному, так і на тканинному рівні, що виявлялося дистрофічними, атрофічними і некротичними пошкодженнями паренхіматозних клітин, а у ряді випадків дискомплексцією балок і часток. У більшості тварин було відзначено підвищення внутрішньопечінкового і портального тиску.

Дані Таблиці 3 демонструють, що алкоголь-індуковане ураження головного мозку характеризувалося посиленням в ньому базального і індукованого ПОЛ, пригніченням активності глутатіонпероксидази і каталази.

Часто зустрічалися морфологічні ознаки пошкодження головного мозку на тканинному рівні (Таблиці 4, 5). Мікроскопія зрізів головного мозку виявила пошкодження тканини мозку, м'яких оболонок і судинних сплетень шлуночків мозку у 100% випадків. Патоморфологічні ознаки пошкодження м'яких оболонок мозку виявлялися у вигляді повнокров'я і плазматичного просочення судинної стінки, периваскулярного набряку. Збоку шлуночків мозку спостерігалось пошкодження епендими, набряк стінки, підвищення продукції ліквора.

Вивчення зовнішнього пірамідного шару сенсорної кори виявило масове пошкодження нейронів (Таблиця 5). Спостерігалися атрофія і лізис нейронів, зменшення клітин в об'ємі з посиленням поглинання фарби (що свідчить про глибоке їх пошкодження), зморщення, а також вакуолізація ядер і маргинація хроматину.

Таблиця 1

Біохімічні показники ураження печінки ( $M \pm m$ ; n=10)

Показники	Група	
	контрольна	експериментальна
АЛТ (Е/л)	12,4±0,9	36,3±2,4*
АСТ (Е/л)	20,4±1,2	59,6±2,9*
Альбумін (г/дл)	2,90±0,09	0,95±0,02*
Протромбінний час (сек.)	25,4±0,4	51,1±1,6*
Базальний рівень ТБК-активних продуктів в печінці щурів (пмоль МДА/мг білка)	272,6±12,7	823,3±38,8*
Інтенсивність індукованого ПОЛ в печінці щурів (пмоль МДА/мг білка/хвил)	19,2±1,3	50,0±3,0*
Активність глутатіонпероксидази в печінці щурів (мкмоль GSSG/мг білка/хвил)	0,203±0,015	0,118±0,008*
Активність каталази в печінці щурів (мкмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мг білка/хвил)	138,5±7,5	60,7±3,6*
Вміст цитохрому Р 450 в печінці щурів (пМоль/мг білка)	124,36±4,41	87,26±5,50*
Амінопірін N - деметілазна активність в печінці щурів (пМоль/хвил/мг білка)	164,3±7,35	79,8±4,97*

Примітка: тут і далі \* - P<0,05 по відношенню до контрольної групи.

Таблиця 2

Патоморфологічні ознаки ураження печінки ( $M \pm m$ ;  $n=10$ )

Ознаки	Група	
	контрольна	експериментальна
На клітинному рівні		
Лізовані гепатоцити (%)	1,9 $\pm$ 0,4	19,1 $\pm$ 1,8*
Гепатоцити в процесі лізису (%)	3,0 $\pm$ 0,4	35,3 $\pm$ 2,6*
Життєздатні гепатоцити (%)	95,1 $\pm$ 0,2	45,7 $\pm$ 2,8*
Ступінь пошкодження гепатоцитів (бали)	-	2,8 $\pm$ 0,1*
Зірчасті ретикулоендотеліоцити (%)	19,7 $\pm$ 2,6	31,7 $\pm$ 1,5*
Двоядерні гепатоцити (%)	3,5 $\pm$ 0,6	2,8 $\pm$ 0,2
На тканинному рівні		
Порушення балочної структури	0,0	20,0
Порушення часточкової структури	0,0	20,0
Лімфоїдна інфільтрація	0,0	100,0
Розширення центральних вен	0,0	80,0

Таблиця 3

Біохімічні показники ураження головного мозку ( $M \pm m$ ;  $n=10$ )

Показники	Група	
	контрольна	експериментальна
Базальний рівень ТБК-активних продуктів в головному мозку щурів (пмоль МДА/мг білка)	332,9 $\pm$ 16,3	547,8 $\pm$ 35,9*
Інтенсивність індукованого ПОЛ в головному мозку щурів (пмоль МДА/мг білка/хвил)	36,1 $\pm$ 2,2	117,6 $\pm$ 8,2*
Активність глутатіонпероксидази в головному мозку щурів (мкмоль GSSG/мг білка/хвил)	0,309 $\pm$ 0,014	0,188 $\pm$ 0,012*
Активність каталази в головному мозку щурів (мкмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мг білка/хвил)	16,3 $\pm$ 0,7	11,7 $\pm$ 0,5*

Таблиця 4

Морфологічні ознаки ураження оболонок і шлуночків головного мозку ( $M \pm m$ ;  $n=10$ )

Ознаки	Група	
	контрольна	експериментальна
Морфологічні ознаки пошкодження оболонок головного мозку (%)		
Повнокров'я судин	0,0	100
Плазматичне просочення судинної стінки	0,0	100
Періваскулярний набряк	0,0	100
Морфологічні ознаки пошкодження шлуночків головного мозку (%)		
Пошкодження епендими	0,0	60
Набряк стінки	0,0	40
Підвищення продукції ліквора	0,0	70

Таблиця 5

Морфологічні ознаки ураження пірамідного шару сенсомоторної зони кори головного мозку ( $M \pm m$ ;  $n=10$ )

Ознаки(%)	Група	
	контрольна	експериментальна
На клітинному рівні		
Лізовані нейрони	1,8 $\pm$ 0,1	14,1 $\pm$ 0,9*
Нейрони у процесі лізису	3,8 $\pm$ 0,3	17,8 $\pm$ 0,9*
Життєздатні нейрони	94,4 $\pm$ 0,3	68,1 $\pm$ 1,5*
На тканинному рівні		
Розрідження речовини мозку	0,0	70
Повнокров'я судин	0,0	80
Периваскулярний набряк	0,0	50
Плазматичне просочення судинної стінки	0,0	50
Періцелюлярний набряк	0,0	60
Лімфоїдна інфільтрація	0,0	10

Джерела інформації:

1. Способ моделирования алкогольных висцеропатий: А. с. 1628077, СССР. МКИ G09B23/28. Опубл. 15.02.91.

2. Tsvetanova E., Kessiova M., Alexandrova A. et al. In vivo effects of CB1 receptor ligands on lipid peroxidation and antioxidant defense systems in the brain of healthy and ethanol-treated rats // *harmacological Reports*. - 2006. - №58. - P.876-883.