



УКРАЇНА

(19) UA (11) 45192 (13) A

(51) 7 G09B23/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ СПЕЦИФІЧНОГО ДЕСТРУКТИВНОГО ПРОЦЕСУ В ЛЕГЕНЯХ

1

2

(21) 2001064092

(22) 14 06 2001

(24) 15 03 2002

(46) 15 03 2002, Бюл. № 3, 2002 р.

(72) Дем'яненко Світлана Михайлівна, Дем'яненко
Василь Васильович(73) ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА
АКАДЕМІЯ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО(57) Спосіб моделювання специфічного деструкти-
вного процесу в легенях, який включає введення в

організм лабораторної тварини інфекційного збуд-
ника туберкульозу у вигляді препарату живої осла-
бленої вакцини БЦЖ на фоні попереднього зни-
ження резистентності їх організму, який відрізня-
ється тим, що вакцину вводять з розрахунку

$0,1 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ безпосередньо після внутрішньовенної
одноразової інфузії нативної сироватки або крові
великої рогатої худоби у сублетальній дозі

Винахід належить до медицини, а саме до експериментальної патології, і може бути використаний при дослідженні особливостей формування і перебігу туберкульозного деструктивного процесу, ефективності засобів його терапевтичної корекції.

Відомий спосіб моделювання специфічного деструктивного процесу в легенях, який включає введення в організм лабораторної тварини інфекційного збудника туберкульозу у вигляді препарату живої вакцини БЦЖ на фоні попереднього зниження імунної резистентності їх організму [1].

Конкретно відомий спосіб полягає у внутрішньовенному введенні білим щурам стандартної живої ослабленої вакцини БЦЖ з розрахунку $0,1 \text{ мл} \cdot \text{кг}^{-1}$ на фоні попередньої інфузії антилімфоцитарної сироватки, що приводить до розвитку специфічного деструктивного процесу в легеневої тканині.

Недоліком відомого способу є недостатній рівень технологічності і відтворюваності специфічного патологічного процесу в легенях, оскільки вимагає проведення досить складного етапу отримання антилімфоцитарної сироватки, пов'язаного з необхідністю імунізації інших тварин, стандартизації сироватки за вмістом антилімфоцитарних антитіл та ін., що знижує інформативність експериментальної моделі в цілому.

В основу винаходу поставлене завдання вдосконалити відомий спосіб моделювання специфічного деструктивного процесу в легенях, в якому шляхом інфузії ксеногенної нативної сироватки крові з природними антилімфоцитарними властивостями по відношенню до білих щурів досягають

відтворюваного зниження функції системи імунної захисту організму тварин до інфекційного збудника туберкульозу, а отже підвищення рівня технологічності та інформативності моделі.

При розгляді технічного завдання було взято до уваги те, що кров великої рогатої худоби або нативна сироватка при внутрішньовенному введенні білим щурам у сублетальній дозі ініціює формування імунопатологічного деструктивного процесу в легенях, який характеризується вираженням лімфоцитотоксичним ефектом у вигляді лімфоцитолізу з масивним вивільненням числених медіаторних субстанцій. На це вказує розвиток надгострого набряку легень в результаті інфузії такої сироватки у летальній дозі [2]. Цілком логічним є очікування різкого зниження резистентності легеневої тканини до інфекційного збудника, яким є туберкульозна паличка у складі препарату живої ослабленої вакцини БЦЖ, якщо останню ввести на фоні попередньої інфузії ксеногенної сироватки у сублетальній дозі.

Поставлене завдання вирішують тим, що у відомому способі моделювання специфічного деструктивного процесу в легенях, який включає введення в організм лабораторної тварини інфекційного збудника туберкульозу у вигляді препарату живої ослабленої вакцини БЦЖ на фоні попереднього зниження резистентності їх організму, відповідно до винаходу вакцину вводять з розрахунку $0,1 \text{ мл} \cdot \text{кг}^{-1}$ безпосередньо після внутрішньовенної одноразової інфузії нативної сироватки або крові

(19) UA (11) 45192 (13) A

великої рогатої худоби у сублетальній дозі. Перелік фігур

Фіг 1 (мікрофото) Легенева тканина білого щура. Гематоксилін-еозин. Об'єм 8 х ок 7. Пристінкові лейкоаглютинати після внутрішньовенної інфузії ксеногенної сироватки в сублетальній дозі в комбінації з вакциною БЦЖ. Фіг. 2 (мікрофото) Люмінесцентна мікроскопія свіжозамороженого зрізу легеневої тканини білого щура через 30 хвилин після внутрішньовенної інфузії ксеногенної сироватки в сублетальній дозі в комбінації з вакциною БЦЖ. Внутрішньосудинна лейкоаглютинація. МЛ-4. Акридин оранжевий, 1:20000. Об'єм 9 х ок 7К.

Фіг. 3 (мікрофото) Легенева тканина білого щура. Порожнина в легеневій тканині. Утворена через 5 місяців після моделювання специфічного запального процесу всередині скупчення макрофагів і лімфоцитів. Гематоксилін-еозин. Об'єм 8 х ок 7.

Фіг. 4 (мікрофото) Легенева тканина білого щура. Стінка щойно сформованої кавернозної порожнини. Пристінкове скупчення сенсibilізованих імуннокомпетентних клітин (переважно макрофагів) в зоні деструкції. 5-й місяць після введення ксеногенної сироватки з вакциною БЦЖ. Гематоксилін-еозин. Об'єм 8 х ок 7.

Фіг. 5 (мікрофото) Люмінесцентна мікроскопія вгальне флюорохромованих ізолюваних лейкоцитів периферійної крові інтактного білого щура - контроль. МЛ-4. Акридин оранжевий 1:20000. Об'єм 9 х ок 7К.

Фіг. 6 (мікрофото) Люмінесцентна мікроскопія вгальне флюорохромованих ізолюваних лейкоцитів периферійної крові піддослідного білого щура після інкубації клітин із специфічним алергеном — туберкуліном РРД. МЛ-4. Акридин оранжевий 1:20000. Об'єм 9 х ок 7К.

Спосіб здійснюють таким чином. Білому щуру у стегнову вену шприцом вводять цільну стабілізовану кров або сироватку великої рогатої худоби, у подальшому — бичачу кров (БК) або сироватку (БС) у сублетальній дозі. Для цього попередньо визначають летальну дозу шляхом введення 3-4 білим щурам зазначений субстрат — кров або сироватку з розрахунку 5 мл кг⁻¹ першій тварині, 7 мл кг⁻¹ і 10 мл кг⁻¹ — другій і третій, відповідно. Летальною дозою вважають ту кількість сироватки, при введенні якої тварина гине від набряку легень у проміжок часу між 10 — 20 хвилинами після інфузії. Сублетальну дозу визначають як 0,75 летальної дози. Відразу після введення крові або сироватки у сублетальній дозі у стегнову вену щура вводять вакцину БЦЖ з розрахунку 0,1 мл кг⁻¹. При цьому в судинах легень піддослідної тварини відразу відбувається утворення пристінкових лейкоаглютинатів (Фіг. 1). Внутрішньосудинна лейкоаглютинація чітко виявляється при люмінесцентній мікроскопії свіжозамороженого зрізу легеневої тканини білого щура через 30 хвилин після внутрішньовенної інфузії ксеногенної сироватки в сублетальній дозі в комбінації з вакциною БЦЖ (Фіг. 2).

Про сформований протягом 4-6 місяців деструктивний туберкульозний процес у піддослідних тварин свідчать виявлені при патологічному дослідженні каверни в легенях (Фіг. 3-4). На специфічну природу ураження легень у прижиттєвий період формування моделі, починаючи з перших 2х

тижнів після інфузій, вказує виражена реакція специфічної альтерації ізолюваних лейкоцитів (Фіг. 5-6) при інкубації їх з туберкуліном, виявлена методом люмінесцентної мікроскопії [2] та іншими методами в залежності від завдання конкретного дослідження [3].

Приклад 1. Фіксованому на дощечці білому щуру, самцю масою 215 г, скальпелем провели розріз шкіри вздовж внутрішньої поверхні стегна. Вену обережно вивільнили з-під тонкої фасції, після чого внутрішньовенно шприцем ввели спочатку 1,6 мл БС, виходячи з раніше визначеної летальної дози 7,5 мл кг⁻¹. Потім, користуючись туберкуліновим шприцем, внутрішньовенно ввели 0,22 мл живої вакцини БЦЖ. Рану обережно зашили. Піддослідну тварину утримували протягом 5 місяців у традиційних умовах віварію. Через кожних два тижня з вен хвоста піддослідного і контрольного (інтактного) щура набирали 0,20 мл крові для лабораторного дослідження за методикою реакції специфічного пошкодження лейкоцитів при інкубації їх з туберкуліном методом люмінесцентної мікроскопії та кондуктометричного аналізу. Через 5 місяців піддослідного щура декаптували, легень досиджували патологічним способом з фарбуванням препарату гематоксилін-еозином. Свіжозаморожені зрізи тканини легень досліджували у полі зору люмінесцентного мікроскопу з застосуванням флюорохрому акридину оранжевого у розведенні 1:20000. Контролем були відповідні показники (препарати) інтактних тварин.

Приклад 2. За допомогою запропонованого методу провели моделювання специфічного деструктивного процесу в легенях у 14 білих щурів. Про наявність змодельованого патологічного деструктивного процесу в легенях у піддослідних тварин свідчили виражені імуногематологічні реакції, зокрема, у вигляді вираженої специфічної лейкоаглютинації (Фіг. 6) методом люмінесцентної мікроскопії, а після декаптації тварин в кінці експерименту — за даними традиційного патоморфологічного дослідження, серед яких найбільш ілюстративними були сформовані кавернозні порожнини із скупченням значної кількості альвеолярних макрофагів, як це було представлено на Фіг. 3 і 4. Слід також зазначити, що усі тварини в результаті моделювання залишалися живими, придатними для подальших досліджень динаміки специфічного деструктивного процесу в легенях, ефективності засобів експериментальної терапії.

Таким чином, запропонований спосіб забезпечує більш високий, у порівнянні із способом-прототипом, рівень відтворення експериментальної моделі специфічного деструктивного процесу в легенях, її інформативності.

Джерела інформації, які слід взяти до уваги

1. Авербах М.М., Гергерт В.Я. и Литвинов В.И. Повышенная чувствительность замедленного типа и инфекционный процесс. М. Медицина, 1974.

2. Белов Е.И., Демьяненко В.В., Лазарев А.М. Определение ангилейкоцитарных свойств сыворотки при помощи люминесцентной микроскопии. Пат. физиол. и эксперим. терапия, 1972, т. 3, № 1, с. 85-88.

3. Демьяненко С.М. Количественная оценка

клеточно-гуморальной реакции крови больных туберкулезом на специфический аллерген — Пробл Туб , 1979 №8, с 60-62

Спосіб моделювання специфічного деструктивного процесу в легенях



Фіг.1 (мікрофото)



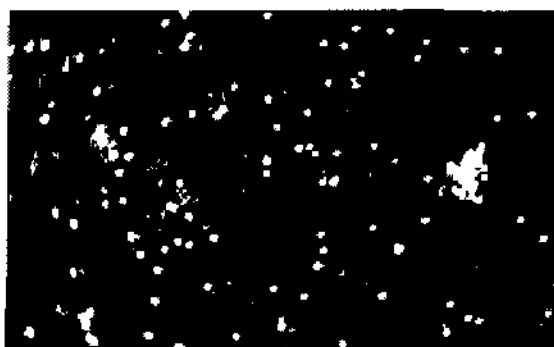
Фіг.2 (мікрофото)



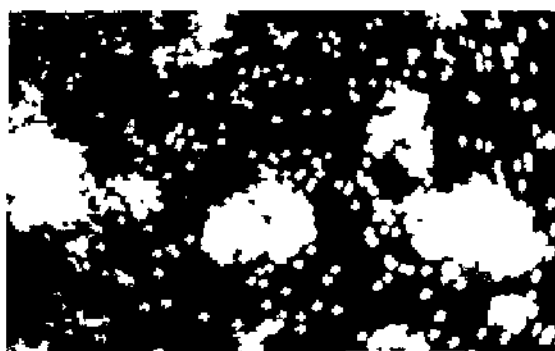
Фіг 3 (мікрофото)



Фіг.4 (мікрофото)



Фіг.5 (мікрофото)



Фіг.6 (мікрофото)