



УКРАЇНА

(19) UA (11) 47595 (13) U  
(51) МПК  
G09B 23/28 (2009.01)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОСІБ ІМУНОКОРЕКЦІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХРОНІЧНОМУ ГЕПАТИТІ ТИПУ С

1

2

(21) u200909541

(22) 17.09.2009

(24) 10.02.2010

(46) 10.02.2010, Бюл.№ 3, 2010 р.

(72) НІКОЛЕНКО ВІКТОР ЮРІЙОВИЧ, МИХАЙЛИЧЕНКО В'ЯЧЕСЛАВ ЮРІЙОВИЧ, НІКОЛЕНКО ОЛЬГА ЮРІЇВНА

(73) ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М. ГОРЬКОГО

(57) Спосіб імунотерапії при експериментальному хронічному гепатиті типу С шляхом трансплантації печінки, який відрізняється тим, що первинно трипсинізовану культуру клітин печінки щурят вводять тваринам внутрішньочеревно в кількості 0,5 млн. клітин.

Спосіб відноситься до медицини, а саме до імунології і може бути використаний в інфекційних та хірургічних відділеннях.

Відомий спосіб корекції хронічного гепатиту обрано нами як прототип [1].

Він полягає у тому, що тваринам проводять ортотопічну трансплантацію печінки.

Печінку пересаджують від донора реципієнту шляхом формування судинних анастомозів.

Пересаджена печінка чинить стимулюючий вплив на імунну систему реципієнта.

Наведений спосіб корекції хронічного гепатиту має такі недоліки:

1. Використовується загальне знеболювання, що негативно впливає на організм реципієнта.

2. В післяопераційний період тварини отримують "подвійну" імуносупресивну (азатіоприн і дексаметазон) терапію для корекції реакції трансплантату проти хазяїна.

3. Після проведеної операції може виникнути відторгнення органу.

В основі корисної моделі стоїть завдання удосконалення способу корекції окремих імунних показників, в якому підвищення ефективності забезпечується за рахунок нормалізації показників лейкоцитів і лейкоцитарної формули, підвищення фагоцитарної активності нейтрофілів в НСТ-тесті і зі стафілококом 209, зменшення титрів аутоантител до антигенів печінки, селезінки, нирки, тимуса,

дННК, дДНК, а також покращення РГММ до усіх антигенів.

Поставлена задача розв'язується завдяки тому, що в способі корекції окремих імунних показників при експериментальному хронічному гепатиті, який включає введення внутрішньочеревно гомологічних клітин печінки щурям, згідно з корисною моделлю, де використовують гомологічні клітини печінки щурят.

Спосіб здійснюють таким чином: тваринам вводять гомологічні клітини печінки у дозі 0,5мл (близько 0,5млн. клітин гомологічної печінки, отриманої від щурят) у дві точки черевної стінки внутрішньом'язово, з проведенням за місяць від початку лікування аналізів. Досліджували загальний аналіз крові, імунні і біохімічні показники, які порівнювали з результатами 20 модельних тварин без лікування.

В експерименті використано дві групи білих щурів - білих безпородних щурів з середньою вагою 180,0г: 1-а група - тварин із відтвореною моделлю хронічного гепатиту типу С (20 щурів), яку отримують шляхом введення чотирьохлористого вуглецю, цитостатика та імуностимулятора тваринам, 2-а група тварини з моделлю хронічного гепатиту типу С, яким вводили гомологічні клітини печінки (20 щурів).

У тварин після лікування гомологічними клітинами печінки кількість лейкоцитів збільшувалась у порівнянні з моделлю хронічного гепатиту по типу С (p<0,001) (Табл.1).

(13) U

(11) 47595

(19) UA

Таблиця 1

Порівняння результатів аналізу лейкоцитарної формули у модельних тварин з хронічним гепатитом типу С та після лікування гомологічними клітинами печінки

Показники	Модельні Тварини	Модельні тварини, ліковані гомологічними клітинами печінки	KMW	P	MK	P
Лейкоцити Г/л	6,00±0,13	6,93±0,07	4,04	<0,001	10,100	0,00015
Паличкоядерні нейтрофіли Г/л	0,125±0,03	0,121±0,037	0,23	0,814	2,5	0,113
Паличкоядерні нейтрофіли, %	2,2	1,75	1,08	0,27	2,56	0,113
Сегментоядерні нейтрофіли Г/л	1,479±0,039	1,485±0,062	0,109	0,913	3,63	0,056
Сегментоядерні нейтрофіли, %	24,8	21,65	2,48	0,013	3,63	0,056
Еозинофіли Г/л	0,626±0,061	0,748±0,078	0,546	0,585	2,5	0,113
Еозинофіли, %	10,8	10,6	0,16	0,868	2,5	0,113
Лімфоцити Г/л	3,409±0,203	4,075±0,016	3,27	<0,001	10,100	0,0015
Лімфоцити, %	56,0	58,9	2,14	0,031	0,533	0,465
Моноцити Г/л	0,361±0,046	0,499±0,051	2,62	0,0087	0,106	0,744
Моноцити, %	6,2	7,1	1,09	0,279	0,001	1,00

Збільшення лейкоцитів відбувалось при лікуванні тварин за рахунок збільшення відносної ( $p=0,031$ ) і абсолютної ( $p<0,001$ ) кількості лімфоцитів, а також збільшення абсолютної кількості моноцитів при лікуванні ( $p=0,0087$ ). Суттєво зменшилась після лікування відносна кількість сегментоядерних нейтрофілів ( $p=0,013$ ), а також лікування впливало на їх відносну кількість ( $p=0,013$ ) (Табл. 1)

Лікування не впливало на відносний і абсолютний вміст еозинофілів та паличкоядерних ней-

трофілів. Без змін залишалася й абсолютна кількість сегментоядерних нейтрофілів.

Як видно з табл.2, при лікуванні гомологічними клітинами печінки відмічається статистично значуще більша кількість нейтрофілів, які виявляють фагоцитарну активність в спонтанному НСТ- тесті у порівнянні з модельними тваринами. Індекс активації нейтрофілів (ІАН) без стимуляції після лікування статистично значуще відрізнявся від результату у модельних тварин.

Таблиця 2

Результати фагоцитарної функції нейтрофілів крові зі стафілококом 209 і за НСТ- тестом у щурів з хронічним гепатитом типу С і під час лікування гомологічними клітинами печінки  $\bar{x} \pm S\bar{x}$

Показники	Групи		Результати річних критеріїв	
	Модель типу хр. гепатиту С n=20	Лікування клітинами гомологічної печінки N=20	Медіанний критерій (Mk) і p	Критерій Манна-Уїтні (MW) і p
НСТ- тест, %	2,80±0,25	6,50±0,44	Mk=23,01 p<0,001	KMW=4,71 p<0,001
Спонтанний ІАН	0,042±0,003	0,098±0,005	Mk=32,72 p<0,001	KMW=5,19 p<0,001
ФАН <sub>30</sub> хв., %	11,60±0,59	19,00±1,12	Mk=14,54 p=0,0022	KMW=4,34 p<0,001
ФЧ <sub>30</sub> хв.	2,60±0,22	5,10±0,28	Mk=21,53 p=0,0001	KMW=4,61 p<0,001
ФАН <sub>90</sub> хв., %	16,20±0,84	31,00±1,25	Mk=36,19 p<0,001	KMW=5,38 p<0,001
ФЧ <sub>90</sub> хв.	3,20±0,33	6,60±0,33	Mk=20,41 p<0,0001	KMW=4,77 p<0,001

Фагоцитарна активність нейтрофілів через 30 хвилин статистично значуще вища після лікування гомологічними клітинами печінки на відміну від модельних тварин. Фагоцитарне число через 30 хвилин статистично значуще відрізнялось внаслідок лікування гомологічними клітинами печінки від модельних тварин (табл. 2).

Фагоцитарна активність нейтрофілів через 90 хвилин статистично значуще вища після лікування гомологічними клітинами печінки на відміну від модельних тварин. Фагоцитарне число через 90 хвилин статистично значуще відрізнялось після лікування гомологічними клітинами печінки на відміну від модельних тварин (табл. 2).

Лікування гомологічними клітинами печінки сприяло статистично значущому зменшенню тит-

рів аутоантитіл до антигенів печінки, селезінки, нирки, тимуса, нДНК і дДНК (табл. 3).

Таблиця 3

Показники гуморального імунітету в модельних тварин із хронічним гепатитом типу С і під час лікування гомологічними клітинами печінки  $\bar{x} \pm S\bar{x}$

Показники	Групи		Результати різних критеріїв	
	Модель типу хр. гепатиту С n=20	Лікування гомологічними клітинами печінки n=20	Медіанний критерій (Mk) і p	Критерій Манна-Уїтні (MW) і p
Антитіла до (In M±m): Антигену печінки	4,20±0,30	2,40±0,22	Mk=6,46 P=0,091	KMW=3,90 p<0,001
Антитіла до антигену селезінки	3,20±0,22	1,80±0,15	Mk=18,02 P=0,0004	KMW=3,94 p<0,001
Антитіла до антигену нирки	3,40±0,22	1,60±0,16	Mk=23,01 P<0,001	KMW=4,54 p<0,001
Антитіла до антигену тимуса	2,20±0,18	1,20±0,22	Mk=11,61 P=0,0088	KMW=2,81 p=0,0049
Антитіла до нДНК	2,80±0,20	1,40±0,15	Mk=17,14 P=0,0007	KMW=4,08 p<0,001
Антитіла до дДНК	3,60±0,25	1,80±0,24	Mk=16,94 P=0,0007	KMW=3,82 p<0,001

У реакції гальмування міграції макрофагів лікування гомологічними клітинами печінки забезпе-

чувало покращання РГММ до усіх антигенів: печінки, селезінки, нирки, тимуса, нДНК (табл. 4).

Таблиця 4

Показники клітинного імунітету в модельних тварин із хронічним гепатитом типу С і під час лікування гомологічними клітинами печінки  $\bar{x} \pm S\bar{x}$

Показники	Групи		Результати різних критеріїв	
	Модель типу гепатиту С n=20	Лікування гомологічними клітинами печінки n=20	Медіанний критерій (Mk) і p	Критерій Манна-Уїтні (MW) і p
РГММ до антигенів (%): печінки	58,60±3,22	89,80±1,76	Mk=25,60 p<0,001	KMW=5,15 p<0,001
Селезінки	52,20±3,15	78,20±2,06	Mk=19,79 p=0,0002	KMW=4,63 p<0,001
Нирки	42,40±2,74	66,80±1,54	Mk=25,60 p<0,001	KMW=5,09 p<0,001
Тимуса	48,60±2,85	58,60±1,55	Mk=0,102 p<0,991	KMW=2,55 P=0,010
нДНК	36,50±2,76	54,40±2,12	Mk=8,12 p<0,043	KMW=3,92 p<0,001

Таким чином, спосіб корекції окремих імунних показників за допомогою трансплантації гомологічних клітин печінки на білих безпорідних щурах, сприяє нормалізації кількості лейкоцитів, котре відбувалось за рахунок збільшення відносної і абсолютної кількості лімфоцитів, а також збільшення абсолютної кількості моноцитів. Суттєво зменшилась після лікування відносна кількість сегментоядерних нейтрофілів, а також лікування впливало на їх відносну кількість.

Збільшення ІАН у модельних тварин при спонтанному фагоцитозі після лікування гомологічними клітинами печінки може свідчити про те, що у фагоцитів підвищується резервна активність внутрішньоклітинних ферментів.

Лікування гомологічними клітинами печінки чинило гальмівний вплив на системні аутоімунні реакції в організмі тварин, які пов'язані з поліклональною активацією В-системи імунітету.

У реакції гальмування міграції макрофагів лікування гомологічними клітинами печінки забезпечувало до покращання РГММ до усіх антигенів: печінки, селезінки, нирки, тимуса, нДНК. Таким чином, лікування гомологічними клітинами печінки впливало як на гуморальні, так і на клітинні імунні реакції.

Спосіб лікування гомологічними клітинами може бути використаний при хронічному гепатиті С як корегуюче лікування хворих на хронічний вірусний гепатит С.

Джерела інформації:

1. В.Ю. Михайличенко. Экспериментальная  
модель трансплантации печени // Вестник неотл. и

восстановит. медицины. - 2004. - Т.5, №3. С.564-  
566.