



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **80527** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
A61D 7/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2012 07369**
(22) Дата подання заявки: **18.06.2012**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.06.2013**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.06.2013, Бюл.№ 11**

(72) Винахідник(и):
Білаш Сергій Михайлович (UA),
Шепітько Володимир Іванович (UA),
Єрошенко Галина Анатоліївна (UA),
Лисаченко Ольга Дмитрівна (UA),
Стецук Євген Валерійович (UA)
(73) Власник(и):
Білаш Сергій Михайлович,
вул. Р. Люксембург, 56-в, кв. 3, м. Полтава,
36008 (UA),
Шепітько Володимир Іванович,
вул. Міщенка, 5, кв. 2, м. Полтава, 36011
(UA),
Єрошенко Галина Анатоліївна,
вул. Зигіна, 6, кв. 2, м. Полтава, 36014 (UA),
Лисаченко Ольга Дмитрівна,
бул. Б. Хмельницького, 9, кв. 117, м.
Полтава, 36022 (UA),
Стецук Євген Валерійович,
вул. Колективна, 8, кв. 132, м. Полтава,
36023 (UA)

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ГОСТРОГО ГАСТРИТУ

(57) Реферат:

Спосіб моделювання гострого гастриту включає в себе методику відтворення запалень оболонок шлунка, причому запалення викликають введенням сульфатизованого полісахариду, виділеного з ірландського моху Chondrus - λ-карагіненом.

UA 80527 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до експериментальної медицини, і може бути застосований для створення моделі гострого гастриту у піддослідних тварин для подальшого корегування цього патологічного процесу різними фармакологічними препаратами, а також для безпосереднього вивчення морфологічних змін в оболонках шлунка при гострому гастриті.

Відомий спосіб моделювання гострого гастриту полягає у введенні тваринам перорально водно-сольового розчину антигену, який містив гомогенаталлогоної слизової оболонки шлунка на фізіологічному розчині та повного ад'юванта Фрейнда у співвідношенні 1:4. Цей спосіб забезпечує отримання моделі на щурах, зменшує собівартість дослідницьких робіт. [Пат. №: 2442227. Российская Федерация, МІЖ G09B23/28. Способ моделирования химического гастрита / Кульневская М.Н., Косарева П.В., Неклюдова В.В., Самоделкин Е.И., Черешнев В.А., Черанева М.В.; Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Пермская государственная медицинская академия имени академика Е.А. Вагнера Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию" - № 2009120845/14 ; заявл. 01.06.2009 ; опубл. 10.02.2012]. Недоліком цього методу є надто довгий за часом період введення антигену, утворення ерозій на слизовій оболонці шлунка у 60% тварин. Введення антигенів шлунка, які отримані з усіх шарів його стінки в деяких випадках призводить до перфорації стінки шлунка з розвитком перитонітів та загибелі тварин.

Найбільш близьким до способу, що з'являється, є спосіб моделювання гастриту шляхом одночасного введення тваринам нестероїдних протизапальних препаратів і медичної жовчі [Кнышова В.В. Влияние борсодержащей минеральной воды на состояние процессов перекисного окисления липидов и факторов антиоксидантной защиты при экспериментальном гастродуодените / В.В.Кнышова // Вопросы курортологии, физиотерапии и ЛФК. - 2002, № 2. - С.34-36].

Однак суттєвим недоліком даного способу є відсутність гістологічних ознак гострого гастриту, та деякі зміни, які не характерні для гострого гастриту [Sobala, G.M. Reflux gastritis in the intact stomach / G.M.Sobala, R.F. King, A.T. Axon [et al.] // J. Clin. Pathol. - 1990. - Vol.43, № 34. - P. 303-306].

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб моделювання гострого гастриту у щурів, який буде оптимальним, наближений до реальних умов і дозволить оцінити валідність та відтворюваність застосованої моделі. В останній час в харчовій промисловості дуже широко використовують, для продовження тривалості зберігання харчових продуктів, λ -карагінен - сульфатизований полісахарид, виділений з ірландського моху Chondrus. Ця речовина викликає запалення внутрішніх органів. Виходячи з розповсюдженості використання λ -карагінену проведення моделювання запалення оболонок шлунка за допомогою λ -карагінену є актуальною проблемою експериментальної медицини.

Поставлена задача вирішується застосуванням у способі λ -карагінену, який згідно корисної моделі, відрізняється доступністю у використанні, розповсюдженості застосування у харчовій промисловості, а після його використання відбуваються патоморфологічні зміни в оболонках шлунка, які відповідають гострому гастриту, а саме: ступінь активності запалення, ступінь атрофії шлункових залоз, активності процесів метаболізму на мікроскопічному та ультрамікроскопічному рівнях.

Запропонований спосіб здійснюється наступним чином: загальна тривалість експерименту складала - 60 діб. Моделювання запалення проводилось на щурах самців лінії Вістар масою 220-250 г. Для виключення сезонних і добових коливань досліджуваних показників, всі дослідження проведені в осінній період в ранковий час. Моделлю запалення послужило гостре асептичне запалення, внаслідок введення внутрішньо-очеременно 5 мг λ -карагінену ("Sigma", США) в 1 мл. ізотонічного розчину хлориду натрію. Збір матеріалу для дослідження проводився на 1,2,7,10,14,21,30,60 добу експерименту шляхом декапітації тварин після передозування тіопенталового наркозу. Для дослідження та встановлення патоморфологічних змін в оболонках шлунка щурів його відокремлювали від стравоходу та дванадцятипалої кишки відмивали у фізіологічному розчині. Потім фрагменти шлунка занурювали у фіксатор. Для світлової мікроскопії, гістохімічного, лектинохімічного методів дослідження біоптати фіксували у 4% розчині нейтрального формаліну. Для отримання напівтонких зрізів та електронно-мікроскопічного дослідження матеріал фіксували у розчині 2,5% глютарового альдегіду. Після зневоднення матеріал відповідно заливали у парафін та епоксидну смолу за загальноприйнятими методиками. Парафінові зрізи фарбувались гематоксиліном Карацці і Ерліха, еозином, за методом ван Гизона, альциановим синім з еозином, реактивом Шифа. При використанні імуногістохімічного методу препарати додатково фарбували гематоксиліном Майера. Для проведення лектинохімічного методу використовували лектин арахісу (PNA) та

лектин сої (SBA). Напівтонкі зрізи забарвлювали толуїдиновим синім та поліхромним барвником.

На 1-2 добу після проведення експерименту встановлено, що візуально слизова оболонка (в порівнянні з контрольною групою тварин) була потовщена, набрякла, гіперимована. Поверхня її вкрита слизовими масами, які розташовувались своєрідними конгломератами, а сам слизовий шар значно стоншувався, а в деяких частинах шлунка був відсутній повністю. У власній пластинці слизової оболонки спостерігались множинні крововиливи. Епітеліальний шар слизової оболонки шлунка був представлений одношаровим циліндричним, залозистим епітелієм, який при мікроскопічному дослідженні виявлявся злущеним, а на цих місцях утворювались множинні ерозії. На електронікроскопічному рівні встановлено, що в мукоцитах слизової оболонки шлунка, в базальному їх відділі, спостерігався поліморфізм ядер, на 2 добу - атрофія, а на 7-му - редукція гранулярної ендоплазматичної сітки, агранулярна ендоплазматична сітка зреагувала зменшенням розмірів каналців, кількості і розмірів рибосом та власного об'єму. Зниження функціональної активності комплексу Гольджі проявлялось в його морфологічних змінах, а саме: зменшенням розмірів, з редукцією компонентів, втратою секреторних гранул та вакуолей. Кількість секреторних гранул, які містились в апікальній частині мукоциту, порівняно з контрольною групою тварин суттєво зменшувалась. Кількість плазмоцитів, які переважно розташовувались у власній пластинці, суттєво знижувалась, що свідчить про зниження імунної відповіді у зв'язку із зменшенням синтезу IgA, лізоциму та інших антибактеріальних факторів.

Сама власна пластинка була побудова з пухкої волокнистої сполучної тканини. В ній спостерігалось розшарування волокнистого компоненту. У клітинному складі переважали тучні клітини. Для елементів гемомікроциркуляторного русла був характерний спазм резистивної ланки. Середнє значення діаметрів просвітів зменшились на 20%. Вени відреагували явищем делятації, просвіти мали нерівні контури. Середні значення діаметру просвітів капілярів перевищували показники в інтактній групі на 15%, що на наш погляд пов'язано з місцевим регуляторним впливом біологічно активних речовин (гістамін, гепарин), які вивільнялись внаслідок дегрануляції тучних клітин.

Лімфатичні судини власної пластинки слизової оболонки шлунка знаходились у стані делятації, їх просвіти були заповнені лімфоцитами та макрофагами. У лімфатичних вузликах збільшувалась кількість реактивних центрів. По їх периферії відмічалась поява плазмоцитів, що свідчить про активацію системи імунного захисту.

Основними компонентами власної пластинки слизової оболонки шлунка щурів були залози, які відкривались у шлункові ямки. В кількісному співвідношенні переважали головні залози. Структурні компоненти цих залоз, на введення λ -карагінену, реагували по різному у різні терміни спостереження. Так на 2-гу добу експерименту головні клітини мали призматичну форму, цитопlasма їх була слабкобазофільною. В базальній частині знаходились частково атрофовані гранулярна ендоплазматична сітка та комплекс Гольджі, спостерігалась конденсація та набряк мітохондрій, що свідчило про функціональну напругу головних клітин. В апікальній частині знаходились зимогенні гранули. Кількість їх, в порівнянні з контрольною групою тварин, зменшилась втричі. Це пов'язано з зменшенням синтезу пепсиногену, якій потім перетворюється у пепсин при наявності кислого середовища. До 14-ї доби експерименту конденсація та набряк мітохондрій зникала, кількість зимогенних гранул збільшувалась, але до показників норми не досягала. В наслідок чого можливо говорити про оборотність змін, які відбувались із мітохондріальними структурами.

У паріетальних клітинах головних екзокриноцитів, навпаки спостерігалось збільшення по периферії внутрішньоклітинних каналців трубчато-везикулярних комплексів, що свідчить про гіперфункцію цих клітин. Ці зміни спостерігались з 7-ї по 14-ту добу експерименту. В клітинах практично були редуковані комплекс Гольджі та ендоплазматична сітка. Кількість мітохондрій збільшилась вдвічі. Це зв'язано з активним синтезом соляної кислоти. В базальній частині паріетальних клітин за рахунок сильної редукції комплексу Гольджі та ендоплазматичної сітки зменшувався синтез бікарбонатів, які надходили у кров судин власної пластинки, а потім до базальної поверхні епітеліоцитів та через них до складу слизу. В наслідок цього зменшувалась товщина слизового шару, і як результат нейтралізація агресивної дії соляної кислоти теж зменшувалась.

В додаткових мукоцитах на 2-гу - 14-ту доби експерименту зменшувалась кількість секреторних гранул втричі, тобто суттєво знижувався синтез секреторних гранул муцинів, і як наслідок зменшувалась продукція слизу, що негативно впливало на захист слизової оболонки від дії соляної кислоти та її імунологічної властивості. До показників норми кількість секреторних гранул муцинів доходила тільки до 21-ї доби експерименту. Кількість та структура шийкових

мукоцитів теж зазнавала негативних змін, що потім відображалось на швидкості регенерації епітеліоцитів і залози в цілому та на продукуванні слизу. Відновлення кількості та структури цих клітин відбулося тільки до 30-ї доби експерименту.

5 Морфологічні зміни, які відбувались у м'язовій оболонці стосувались, в основному, гемомікроциркуляторних судин, які знаходились у прошарках пухкої волокнистої сполучної
тканини розташованій між шарами гладком'язової тканини. Реакція цих судин була подібна до
реакції судин ГМЦР власної пластинки слизової оболонки з однією різницею у термінах
відновлення елементів ГМЦР до контрольної групи тварин. У серозній оболонці з 7-ї по 21-шу
10 доби експерименту переважали мало диференційовані мезотеліоцити. Це свідчить про активні
регенераційні процеси, що відбувались у ці терміни спостереження. Пропорція між
диференційованими та малодиференційованими мезотеліоцитами відновлювалась лише до 30-
ї доби експерименту.

Проаналізувавши морфофункціональні зміни, які відбувались в оболонках шлунка, протягом
експерименту, нами встановлено, що до показників норми вони досягали лише до 30-ї доби
15 експерименту.

Таким чином, запропонований спосіб дозволяє підвищити ступінь ефективності та
відтворюваності гострого гастриту при його експериментальному моделюванні на щурах.
Комплекс методологічних підходів до вивчення патоморфологічних змін в оболонках шлунка
дозволяє стверджувати, що λ -карагінен викликає запалення, яке в свою чергу відповідає
20 ознакам гострого гастриту.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб моделювання гострого гастриту включає в себе методику відтворення запалень
25 оболонок шлунка, який **відрізняється** тим, що запалення викликають введенням
сульфатизованого полісахариду
, виділеного з ірландського моху Chondrus - λ -карагіненом.

Комп'ютерна верстка С. Чулій

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601