



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **77270** (13) **U**
(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

| | |
|---|--|
| <p>(21) Номер заявки: u 2012 08154</p> <p>(22) Дата подання заявки: 03.07.2012</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 11.02.2013</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.02.2013, Бюл.№ 3</p> | <p>(72) Винахідник(и): Рикало Надія Анатоліївна (UA), Гумінська Ольга Юріївна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018 (UA)</p> |
|---|--|

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ТОКСИЧНОГО МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ГЕПАТИТУ У СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ

(57) Реферат:

Спосіб моделювання токсичного медикаментозного гепатиту у статевонезрілих щурів шляхом введення рифампіцину та ізоніазиду. Медикаментозний гепатит моделюють на статевонезрілих щурах шляхом інтрагастрального введення металевим зондом з оливою на стандартизованому розчиннику ТВШ-65 ізоніазиду в розрахунку 50 мг/кг та рифампіцину у розрахунку 86 мг/кг тричі на тиждень, протягом 29 днів.

UA 77270 U

Корисна модель належить до експериментальної медицини, а саме до патофізіології.

Відома модель токсичного гепатиту для статевонезрілих щурів, суть якої зводиться до інтрагастрального введення олійного розчину CCl_4 у поєднанні з етанолом [Пат. № 43704, Україна, Рикало Н.А., Незгода І.І. п/в ВНМУ № 16 від 25.08.09. Спосіб моделювання хронічного токсичного гепатиту та цирозу печінки у нестатевозрілих щурів]. Дана модель спрямована на моделювання токсичного тетрахлорметанового гепатиту статевонезрілих щурів, але не є адекватною для моделювання токсичного медикаментозного гепатиту у статевонезрілих щурів.

Відома модель токсичного медикаментозного гепатиту, який моделюється введенням ізоніазиду у дозі 50 мг/кг та рифампіцину у дозі 86 мг/кг маси тіла щурам - внутрішньошлунково, щоденно, виходячи з дозових рівнів при їх застосуванні в клініці [Бережна Л.Г., Коваленко В.М., Вороніна А.К., Шаяхметова Г.М., Волошина О.С. Гепатопротекторний ефект експериментальної полівітаміної композиції за умов індукції цитохрому Р-450 2Е1 ізоніазидом і рифампіцином // Совр. пробл. токсикології - 2005. - № 3. - С. 54-58]. Препарати вводили щоденно внутрішньошлунково за допомогою металевго зонда, тривалість експерименту становила 28 днів.

Проте дана модель розроблена для статевозрілих щурів з початковою масою 160-200 г, а метою роботи є вивчити особливості патогенезу, дослідити зміни репаративної регенерації внутрішніх органів (печінки, тимуса, селезінки) статевонезрілих щурів (вік 1 місяць, початкова маса 50-55 г). При використанні описаної моделі на 30 статевонезрілих щурах на 5 день експерименту у дослідній групі загинуло 8 тварин, а на 10 день експерименту у 2 групі залишилось 12 тварин, на 28 день експерименту в дослідній групі залишилось 2 тварини, кількість щурів у контрольній групі не змінилась.

При розтині загиблих тварин були виявлені наступні зміни: венозне повнокрів'я внутрішніх органів, рідина в черевній та плевральній порожнинах, патоморфологічне дослідження виявило в усіх загиблих щурів поширений некроз гепатоцитів, виражене повнокрів'я та лімфоїдну інфільтрацію тканини печінки, крововиливи, ознаки печінкової недостатності. Отже, можна зробити висновок, що ця модель не є адекватною для дослідження хронічного токсичного медикаментозного гепатиту у статевонезрілих щурів. Інші патенти для моделювання хронічного медикаментозного гепатиту у статевонезрілих щурів нам не відомі.

В основу корисної моделі "Спосіб моделювання токсичного медикаментозного гепатиту у статевонезрілих щурів" поставлено задачу: шляхом інтрагастрального введення антибіотиків рифампіцину та ізоніазиду статевонезрілим щурам відтворити патологію, максимально наближену до хронічного медикаментозного гепатиту у дітей.

Поставлена задача досягається шляхом інтрагастрального введення рифампіцину (ЗАТ НВЦ "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод") в дозі 86 мг/кг, ізоніазиду в дозі 50 мг/кг (виробництва ЗАТ Фармацевтична фірма "Дарниця" (Україна)), дози розраховані, виходячи з рекомендацій застосування для дитячого віку з урахуванням константи біологічної активності за Риболовцевим Ю.Р. (1979).

Спосіб здійснюється таким чином.

Експериментальне дослідження проведено на 2-х групах піддослідних тварин (білі безпородні статевонезрілі щури-самиці віком 1 місяці та вагою 50-55 г) по 30 тварин у кожній. Усі експерименти проводились з дотриманням "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених першим національним конгресом з біоетики (м. Київ, 2001) та узгоджених із положенням "Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей".

Тваринам дослідної групи вводили інтрагастрально металевим зондом з оливою на стандартизованому розчиннику ТВІН-65 ізоніазид у розрахунку 50 мг/кг та рифампіцин у розрахунку 86 мг/кг тричі на тиждень, протягом 29 днів.

Тваринам контрольної групи з частотою 3 рази на тиждень вводили інтрагастрально металевим зондом з оливою стандартизований розчинник ТВІН-65. Тривалість експерименту складала 29 днів.

Тварини дослідної групи відмовляються від корму, приріст маси тіла в 1,3 рази нижче, ніж в контрольній групі.

На 30 день тварин піддавали евтаназії шляхом цервікальної дислокації під тіопенталовим наркозом та здійснювали забір сироватки крові та шматочків печінки.

Як тестові параметри було вибрано наступні показники функціонального стану печінки: активність аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ) та лужна фосфатаза в плазмі крові.

При проведенні експерименту за власною моделлю була відмічена зміна поведінки тварин дослідної групи - вони, в порівнянні з контролем, були кволими, споживали менше корму, їх

вага, порівняно з контролем, була на 12,5 % нижча. Печінка тварин 2-ї групи була збільшена та неоднорідної, щільної структури. При зважуванні та порівнянні маси печінки тварин 1 та 2 груп отримана статистично достовірна різниця (Табл. 1, креслення).

5 Після закінчення експерименту показники активності АЛТ (аланінамінотрансферази), АСТ (аспартатамінотрансферази) та ЛФ (лужної фосфатази) в плазмі крові тварин експериментальної та контрольної груп значно різнились (Табл. 2).

10 Після закінчення експерименту показники активності АЛТ, АСТ, ЛФ в плазмі крові тварин експериментальної та контрольної груп склали: ЛФ (ммоль/мл/хв) - 1 група - 361,8, 2 група - 540,4; АСТ (ммоль/мл/хв) 1 група - 46,8, 2 група - 54,6; АЛТ (ммоль/мл/хв) - 1 група - 33, 4 група - 45,2, що вказує на розвиток синдрому цитолізу.

У ході експерименту відмічено зростання активності ЛФ: в 2 групі - у 1,5 разу більше в порівнянні з контрольною групою, зростання АСТ - у 1,16 разу, зростання АЛТ - у 1,3 разу, що доводить розвиток хронічного запалення печінки.

15 Після забою для проведення морфологічного дослідження вилучена печінка (шматочок матеріалу розміром 1×1 см) та фіксована у 10 % нейтральному формаліні, виготовлені парафінові блоки, з них - зрізи по 3 нм, пофарбовані гематоксилін-еозином та за ван Гізон.

20 При вивченні гістологічних зрізів печінки у тварин 2 групи спостерігаються порушення балкової структури, поліморфізм гепатоцитів, повнокрів'я центральних вен, зони запальної інфільтрації, мостоподібні некрози, що відповідає морфологічним змінам, характерним для хронічного медикаментозного гепатиту.

Приклад. Білий щур вагою 50 г отримує інтрагастрально металевим зондом з оливою на стандартизованому розчиннику ТВІН-65 ізоніазид у розрахунку 50 мг/кг та рифампіцин у розрахунку 86 мг/кг тричі на тиждень, протягом 29 днів.

25 Виведення з експерименту здійснюється на 30 день. При дослідженні виявлено збільшення маси печінки, підвищення АЛТ, АСТ та ЛФ, що достовірно перевищує показники, отримані у контрольній групі.

При вивченні гістологічних зрізів було виявлено порушення балкової структури, поліморфізм гепатоцитів, повнокрів'я центральних вен, зони запальної інфільтрації, мостоподібні некрози - ознаки хронічного медикаментозного гепатиту.

30 Використання даного способу дозволяє максимально наблизити перебіг токсичного медикаментозного гепатиту до відповідної патології у дитячому організмі.

Таблиця 1

Вага печінки 2 місячних щурів (самок) контрольної та дослідних груп

| № тварини | 1 група | 2 група |
|-----------|---------|---------|
| 1 | 4,9 | 5,2 |
| 2 | 4,72 | 5,4 |
| 3 | 5,52 | 5,2 |
| 4 | 5,0 | 5,4 |
| 5 | 4,98 | 5,2 |
| 6 | 4,86 | 5,48 |
| 7 | 4,92 | 5,5 |
| 8 | 4,98 | 5,0 |
| 9 | 4,78 | 5,2 |
| 10 | 4,98 | 5,2 |
| 11 | 4,86 | 5,4 |
| 12 | 4,81 | 5,52 |
| 13 | 3,89 | 4,88 |
| 14 | 4,02 | 5,67 |
| 15 | 4,22 | 5,2 |

Таблиця 2

Активність АЛТ, АСТ та ЛФ у сироватці крові статевонезрілих щурів самиць контрольної та дослідної груп

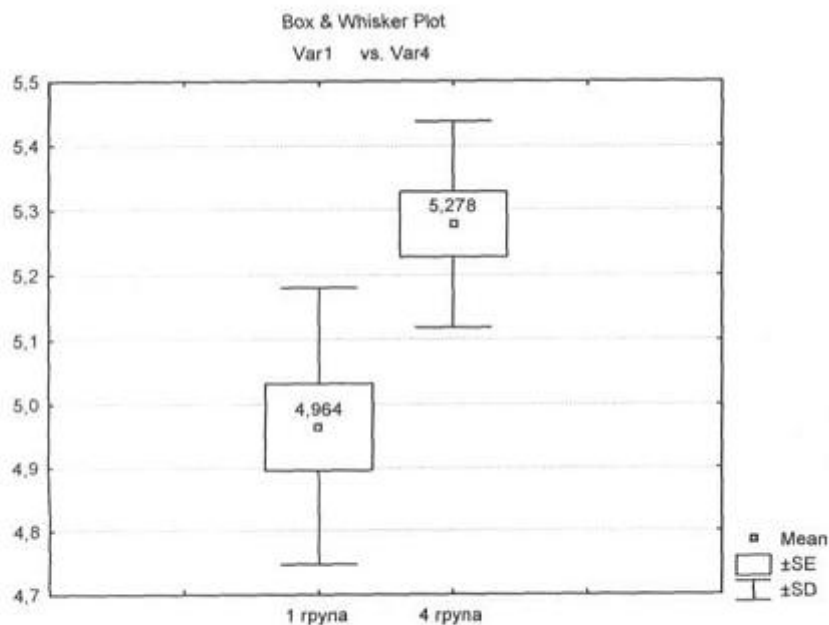
| Біохімічний показник | 1 група інтактні тварини | 2 група дослідні тварини |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Лужна фосфатаза (нмоль/мл/хв) | 361,8 | 540,4 |
| АСТ (нмоль/мл/хв) | 46,8 | 54,6 |
| АЛТ (нмоль/мл/хв) | 33 | 45,2 |

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

Спосіб моделювання токсичного медикаментозного гепатиту у статевонезрілих щурів шляхом введення рифампіцину та ізоніазиду, який **відрізняється** тим, що медикаментозний гепатит моделюють на статевонезрілих щурах шляхом інтрагастрального введення металевим зондом з оливою на стандартизованому розчиннику ТВШ-65 ізоніазиду в розрахунку 50 мг/кг та рифампіцину у розрахунку 86 мг/кг тричі на тиждень, протягом 29 днів.

10



Достовірність різниці маси печінки в 1 та 2 групах

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

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