

**ОПИСАНИЕ
ИЗОБРЕТЕНИЯ
К ПАТЕНТУ**

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **22392**

(13) **С1**

(46) **2019.02.28**

(51) МПК

G 09B 23/28 (2006.01)

(54) **СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ У КРЫСЫ**

(21) Номер заявки: а 20160406

(22) 2016.11.11

(43) 2018.06.30

(71) Заявитель: Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет" (ВУ)

(72) Авторы: Осипов Борис Борисович; Лызиков Анатолий Николаевич; Скуратов Александр Геннадьевич (ВУ)

(73) Патентообладатель: Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет" (ВУ)

(56) ЛОПУХИН Ю.М. Экспериментальная хирургия. - М.: Медицина, 1971. - С. 111-112.

UA 43704 U, 2009.

LESSA A.S. et al. BMC Veterinary Research. - 2010. - V. 6, [http://www.biomedcentral.com/1746-6148/6/6].

WALLACE M.C. et al. Laboratory Animals. - 2015. -V. 49. - SUPPL. 1. - P. 21-29.

ОСИПОВ Б.Б. Проблемы и перспективы развития современной медицины: Сб. науч. статей IV Республиканской научно-практической конференции. - Гомель, 2012. - Вып. 4. - Т. 3. - С. 108-110.

ЛЕБЕДЕВА Е.И. и др. Актуальные проблемы медицины. Материалы научно-практической конференции. - Гродно, 2013. - Ч. 1. - С. 398-400.

(57)

Способ моделирования цирроза печени у крысы, **отличающийся** тем, что животному на протяжении восьми недель внутрибрюшинно вводят 50 %-ный раствор тетрахлорметана в оливковом масле в дозе 0,5 мл на 1 кг массы тела два раза в неделю и раствор тиоацетамида в физиологическом растворе в дозе 100 мг сухого вещества на 1 кг массы тела один раз в неделю, при этом на протяжении эксперимента ежедневно добавляют в корм животного 5 г топленого свиного сала и к питьевой воде 5 %-ный раствор этилового спирта.

Изобретение относится к экспериментальной медицине и хирургии и может быть использовано для изучения механизмов токсического поражения печени, а также в разработке новых способов лечения цирроза печени и осложнений портальной гипертензии, что остается актуальной проблемой хирургии и гастроэнтерологии.

Цирроз печени занимает одно из лидирующих мест среди причин ранней нетрудоспособности и смертности населения. Ежегодно в мире заболевает более 1 миллиона человек. По данным статистики только в США более 5 миллионов людей страдают терминальными стадиями заболеваний печени [1]. Цирроз печени находится на 9 месте по причинам смерти в США. В республике Беларусь 1,5 тыс. человек ежегодно заболевают циррозом печени, смертность от цирроза печени составляет около 35 случаев на 100 тыс. населения и не имеет тенденции к снижению.

Высокая медицинская и социальная значимость хронических заболеваний печени требует новых усилий в исследовании вопросов этиологии, патогенеза, иммунологии, диагностики, лечения и профилактики этих заболеваний. Поэтому воспроизведение в эксперименте на животных моделей гепатита и цирроза печени, близких к клиническим условиям, все еще необходимо. Экспериментальные модели позволяют дать комплексную оценку и разработать методы адекватной коррекции печеночной недостаточности, что не всегда возможно в клинических исследованиях.

Существующие модели острой печеночной недостаточности и цирроза печени можно разделить на следующие группы: хирургические (гепатэктомия и перевязка сосудов), фармакологические (токсические), трансгенные, вирусные, иммунологические [2]. В большинстве случаев сокращения сроков моделирования (8 недель, в отличие от 3-6 месяцев при существующих методиках), достижения меньшей обратимости развившихся патологических изменений в печени.

Задача решается за счет того, что предложен способ моделирования цирроза печени у крысы, заключающийся в том, что животному на протяжении восьми недель внутрибрюшинно вводят 50 %-ный раствор тетрахлорметана в оливковом масле в дозе 0,5 мл на 1 кг массы тела два раза в неделю и раствор тиацетамида в физиологическом растворе в дозе 100 мг сухого вещества на 1 кг массы тела один раз в неделю, при этом на протяжении эксперимента ежедневно добавляют в корм животного 5 г топленого свиного сала, и к питьевой воде 5 %-ный раствор этилового спирта.

Изобретение иллюстрируется следующими фигурами:

фиг. 1 - печень крысы через 8 недель эксперимента;

фиг. 2 - ткань печени крысы при постнекротическом циррозе. $\times 100$. Окраска по Ван-Гизону;

фиг. 3 - ткань печени крысы при постнекротическом циррозе. $\times 100$. Окраска гематоксилин-эозин.

При моделировании способа цирроза печени у крысы сочетают воздействие повреждающих факторов на печень крысы. В данной модели используют два гепатотоксина (тетрахлорметан и тиацетамид), которые имеют разные механизмы действия и точки приложения в печеночной дольке. В то время как тиацетамид не является гепатотоксичным, его активные метаболиты ковалентно связываются с белками и липидами, вызывая оксидативный стресс и центрлобулярные некрозы в печени. В сравнении с тетрахлорметаном введение тиацетамида ведет к большей перипортальной инфильтрации и более выраженной протоковой пролиферации.

Кроме того, используют специальную диету, а именно ежедневно добавляют в корм лабораторного животного 5 г топленого свиного сала, и исследователи отдают предпочтение токсическим моделям поражения печени.

Наиболее близким по совокупности существенных признаков к заявляемому изобретению является способ моделирования гепатита и цирроза печени по методике Samegon (1939). При этом моделирование проводилось путем введения 0,1 мл препарата (тетрахлорметана) подкожно 2 раза в неделю, при этом цирроз печени развивался в течение 36 месяцев. По методике В.А. Алымова (1967) тетрахлорметан вводили в течение 7 месяцев подкожно 4 раза в неделю из расчета 0,1 мл препарата на 100 г веса - прототип [3].

Однако у существующих моделей имеется ряд недостатков: во-первых, при одинаковых условиях эксперимента у различных крыс развиваются различные морфологические изменения в печени, что свидетельствует о неодинаковой чувствительности крыс к тетрахлорметану.

Во-вторых, было отмечено, что фиброзные цирротические изменения в печени носят обратимый характер и после отмены препарата регрессируют.

В-третьих, для развития картины выраженного цирроза печени требуется длительное введение токсина (от 3 до 6 месяцев в зависимости от способа введения).

Задача, на решение которой направлен предлагаемый способ, заключается в повышении воспроизводимости цирроза печени, сокращении времени моделирования, достижении более стойкого результата с меньшей обратимостью развившихся патологических изменений в печени.

Технический результат при использовании нового способа моделирования цирроза печени у крысы позволяет добиться повышения воспроизводимости (у всех лабораторных животных по истечении 8 недель наблюдалась картина цирроза печени разной степени выраженности), к питьевой воде 5 %-ный раствор этилового спирта, что по этиологическим факторам приближает данную модель к клиническим условиям.

Пример.

Крысе-самцу линии Вистар весом 250 г вводился 50 %-ный раствор ССЦ (тетрахлорметана) в оливковом масле из расчета 0,5 мл на 1 кг массы тела два раза в неделю и раствор тиоацетамида в физиологическом растворе натрия хлорида из расчета 100 мг сухого вещества на 1 кг массы тела лабораторного животного - один раз в неделю в течение 8 недель. Введение токсинов осуществлялось внутрибрюшинно. Также на протяжении эксперимента к питьевой воде животному добавляли 5 %-ный раствор этилового спирта, и в стандартный корм ежедневно добавляли 5 г топленого свиного сала.

В течение всего опыта не отмечено каких-либо изменений внешнего вида и поведения животного. По истечении 8 недель животное было выведено из эксперимента для изучения общей морфологической и морфометрической картины органов. Кусочки органов фиксировали в 10 %-ном нейтральном формалине и заливали в парафиновые блоки по стандартной методике. Депарафинированные срезы печени окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону, после чего изучали общую морфологическую картину органа.

Макроскопически печень уменьшена в размерах на 15 % по сравнению с печенью интактной крысы, светло-коричневого цвета, плотная, бугристая, на разрезе мелкозернистой структуры, вне- и внутрипеченочные желчные протоки слегка расширены (фиг. 1).

При микроскопическом исследовании отмечено: печеночные клетки главным образом на периферии долек формируют фокусы узловой гиперплазии, не имеющие правильно сконструированной кровеносной и желчевыводящей систем, беспорядочно располагаются среди соединительной ткани и формируют цирротическую печень. При этом паренхима представлена ложными дольками равномерной величины, разделенные прослойками соединительной ткани - септами. В септах инфильтрация из полиморфно-ядерных лейкоцитов с примесью гистиоцитов и отдельных лимфоцитов и пролиферация желчных протоков. В ложных дольках отсутствует балочное строение, характерна жировая дистрофия гепатоцитов (фиг. 2, 3).

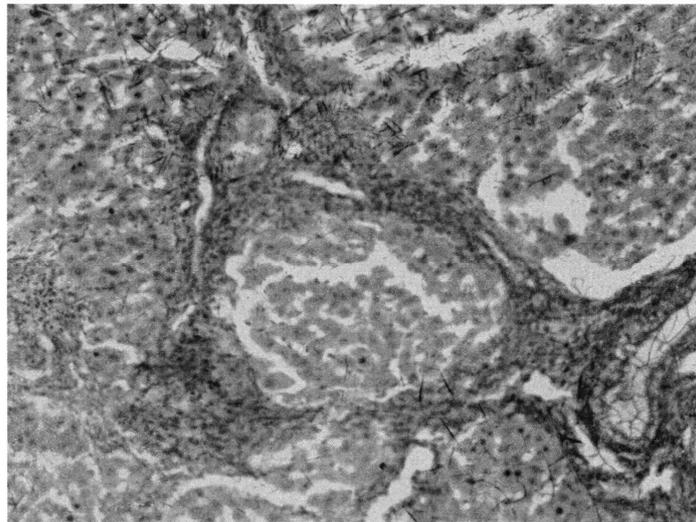
Цирроз является постнекротическим и преимущественно мультилобулярным, при этом определяется полное нарушение пластинчатого строения долек и формируются очень мелкие узелки, лежащие среди фиброзной ткани. Некроз, приведший к циррозу, чаще начинается централобулярно и распространяется от центра дольки к ее периферии, встречаются также мостовидные некрозы.

Источники информации:

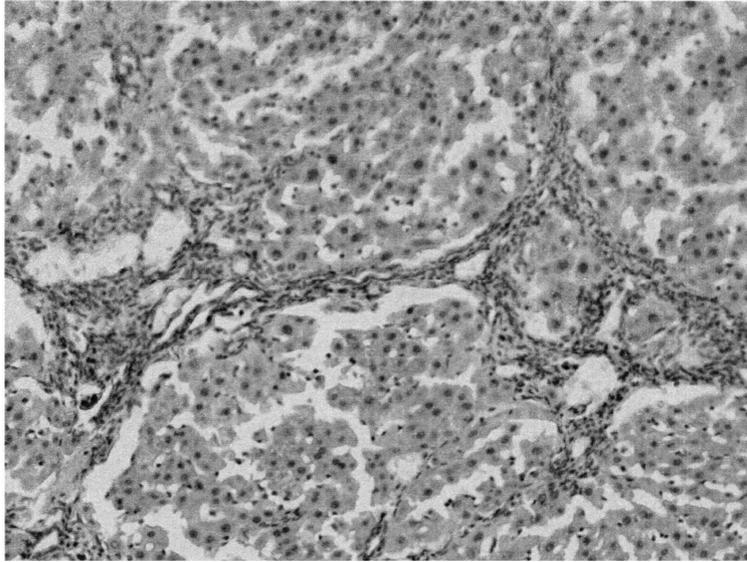
1. Scaglione S. et al. The Epidemiology of Cirrhosis in the United States: A Population-based Study // J Clin. - L.Gastroenterol. - 2015. - No. 49(8). - P. 690-696.
2. Constandinou C., Henderson N., Iredale J.P. Modeling liver fibrosis in rodents // Methods Mol Med. - 2005. - No. 117. - P. 237-250.
3. Лопухин Ю.М. Экспериментальная хирургия. - М.: Медицина, 1971. - С. 111-112.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3