



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 112036

(13) C2

(51) МПК

G09B 23/28 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2015 07332**
(22) Дата подання заявки: **21.07.2015**
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **11.07.2016**
(41) Публікація відомостей про заявку: **25.12.2015, Бюл.№ 24**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **11.07.2016, Бюл.№ 13**
(72) Винахідник(и):
Костєв Федір Іванович (UA),
Руденко Олександр Вікторович (UA),
Лавренюк Павло Ігоревич (UA)
(73) Власник(и):
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,
пров. Валіховський, 2, м. Одеса, 65082 (UA)

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
Раскалей Д. В. Морфологічні особливості регенерації пошкодженого нерва, яка відбувається під впливом магнітолазерного опромінення / Д. В. Раскалей, О. М. Грабовий // Вісник досліджень. – 2007. - №1. – С. 111-113.
Charles N. Experimental autoimmune prostatitis induces chronic pelvic pain / N. Rudick Charles et al. // AJP-Regul Integr Comp Physiol. – April. – 2008. – Vol. 294. – P. R1268-R1275.
Cengiz Z. A novel murine model of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome (CP/CPPS) induced by immunization with a spermine binding protein (p25) peptide / Z. Altuntas Cengiz et al. // AJP-Regul Integr Comp Physiol. – 2013. - Vol. 304. - P. R 415-R422.
Аполихина И.А. Тазовые дисфункции и болевые синдромы в практике уролога / И. А. Аполихина, Я. Б. Миркин [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2012. - №2. – С. 84-90.
Горпинченко И. И. Синдром хронической тазовой боли. Старая проблема, новое решение / И. И. Горпинченко, О. М. Бойко, М. С. Шейко // Урология. – 2013. – Т. 17, №2. - С. 54-55.
RU 2457547 C1, 27.07.2012.
US 20130202534 A1, 08.08.2013.
Извозчиков С.Б. Невоспалительный синдром хронической тазовой боли у мужчин: неврологические аспекты урологической проблемы: автореф. Дис....канд. мед. наук: 14.00.13, 14.00.40 / С. Б. Извозчиков. – Москва, 2007. – 22 с.

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ СИНДРОМУ ХРОНІЧНОГО ТАЗОВОГО БОЛЮ

(57) Реферат:

Винахід стосується способу моделювання синдрому хронічного тазового болю (СХТБ) шляхом пошкодження крижового сплетіння, в якому після підготовки операційного поля у верхній третині стегна тварини виконують розріз, краї рани пошарово розширюють до оголення сідничного нерва, який перев'язують у проксимальній його частині ниткою із синтетичного співполімеру, закінчують операцію пошаровим ушиванням рани і виводять тварину із експерименту на 25-30 добу, забирають кров, тканини м'язів тазового дна і сечовий міхур, виконують морфологічні, біохімічні та імунологічні дослідження забраного матеріалу і при

UA 112036 C2

наявності в м'язових волокнах, судинах та нервових утвореннях патологічних змін судять про пошкодження крижового сплетіння, що є предиктором пудендопатії, а саме - синдрому хронічного тазового болю.

Винахід належить до області медицини, а саме урології, і може бути використаним для подальших досліджень окремих ланок патогенезу синдрому хронічного тазового болю.

Останнім часом лікарі багатьох спеціальностей досить часто зустрічають у своїй практиці больові синдроми таза, а саме синдром хронічного тазового болю (СХТБ). За даними різних авторів, у популяції частота зустрічності даного захворювання становить від 5 % до 16 %. Від 30 % до 58 % чоловіків, частіше у віці від 20 до 40 років, страждають на СХТБ [1, 2]. При даному стані відбувається істотне зниження якості життя хворого, порівняне з такими захворюваннями, як стенокардія або хвороба Крона. Молодий та середній вік хворих, зниження в частини з них не тільки копулятивної, але й репродуктивної функції, тривалий перебіг, торпідність до лікування й часті рецидиви надають цьому захворюванню не лише медичне, але й велике соціальне значення [3]. Багаторазові й найчастіше малоефективні курси лікування, які проходять дані пацієнти, є причиною зниження їх працездатності, що веде також до економічних втрат.

Основною проблемою в діагностиці й лікуванні СХТБ є відсутність глибокого розуміння патофізіологічних механізмів виникнення тазового болю, значна перевага СХТБ у структурі простатичних синдромів. Часто ці хворі довго й неефективно одержують терапію з приводу хронічного простатиту й хронічного циститу. Підтвердженням цього є той факт, що більш 90 % усіх випадків простатиту відноситься до абактеріального простатиту або СХТБ. Ефективність будь-якого лікування, в першу чергу, залежить від того, наскільки патогенетично обумовленим воно є. Як і будь-який стан, СХТБ має безліч причин. У наш час запропоновано кілька теорій етіології абактеріального простатиту. Деякі з них описують роль нанобактерій, інші - імунологічний ґенез цього захворювання.

На сьогоднішній час не існує діагностичних критеріїв СХТБ.

Останнім часом усе частіше як причину СХТБ розглядають невротичні розлади й порушення гемодинаміки органів малого таза.

Існують групи вчених, що дотримуються нейром'язової теорії виникнення СХТБ. Відповідно останньої, у пацієнтів із СХТБ відзначається порушення уродинаміки нижніх сечових шляхів. Відбувається підвищення внутрішньоуретрального тиску в простатичному відділі уретри внаслідок порушення адекватного розслаблення попереково-смугового сфінктера уретри, через що виникає інтрапростатичний рефлюкс сечі при сечовипусканні.

Також причинами цього больового синдрому можуть бути судинна патологія, травматичні ушкодження в ділянці малого таза, вертеброгенні причини. Однак існує група пацієнтів з болями в ано-куприковій зоні, промежині, статевих органах, у яких не вдається виявити інфекційно-запальної або вісцеральної чи іншої причини болю. Згідно сучасним уявленням, хронічний тазовий біль пов'язаний із змінами з боку головного мозку, які здатні підтримувати відчуття болю за відсутності ураження органів репродуктивної системи.

Відомо, що найчастіше хронічний міофасціальний больовий синдром спостерігається у віці від 20 до 40 років. Невралгія статевого нерва в результаті його компресії/натягу також найбільш часто зустрічається в працездатному віці - середній вік 45 років.

Наслідком неясної ситуації в патофізіології даного процесу є відсутність чітких діагностичних критеріїв. У практиці цей діагноз ставлять шляхом виключення інших захворювань тазових органів, судинної й нервової систем, здатних викликати наявні симптоми. Зі зміною поглядів на етіологію змінились і принципи діагностики. У зв'язку з цим, існує необхідність у вивченні патогенезу і розробці нових підходів лікування СХТБ на основі створення експериментальної моделі патології.

Найбільш близьким до заявленого технічного рішення є розробка, в якій досліджується больовий поріг у щурів шляхом введення хімічного реагенту під шкіру спини і наступним натисканням (больовим) на лапку і визначався поріг вокалізації (4).

Однак заявлена методика застосовувалася для оцінки зниження порогу больової чутливості при хронічному больовому синдромі в експерименті, не враховуючи локалізацію больового синдрому, а саме - синдрому хронічного тазового болю, який має свої патогенетичні та клінічні особливості.

В основу винаходу поставлено задачу розробки способу моделювання синдрому хронічного тазового болю шляхом пошкодження крижового сплетіння, а саме - перев'язування сідничного нерва у проксимальній його частині, що дозволить створити достовірну модель синдрому хронічного тазового болю.

Поставлена задача вирішується тим, що, згідно з винаходом, після підготовки операційного поля у верхній третині стегна тварини виконують розріз, краї рани пошарово розширюють до оголення сідничного нерву, який перев'язують у проксимальній його частині ниткою із синтетичного співполімеру, закінчують операцію пошаровим ушиванням рани і виводять тварину із експерименту на 25-30 добу, забирають кров, тканини м'язів тазового дна і сечовий

міхур, виконують морфологічні, біохімічні та імунологічні дослідження забраного матеріалу і при наявності в м'язових волокнах, судинах та нервових утвореннях патологічних змін судять про пошкодження крижового сплетіння, що є предиктором пудендопатії, а саме - синдрому хронічного тазового болю.

5 Спосіб виконується наступним чином.

Експериментальні методи дослідження проведені на 51 білому безпородному щурі-самці чотиримісячного віку, вагою 190 ± 30 г, які утримувалися в стандартних умовах в лабораторії біологічної клініки Одеського національного медичного університету.

10 Підготовка тварин, усі інвазивні втручання, знеболювання та виведення з досліду здійснювалось у повній відповідності до вимог правил GLP, що передбачені Європейською комісією з нагляду за проведенням лабораторних та інших досліджень. Моделювання СХТБ виконували шляхом пошкодження крижового сплетіння, перев'язуючи самий крупний нерв даного сплетіння - сідничний нерв.

15 Втручання виконувалися під внутрішньоочеревинним тіопенталовим наркозом (40 мг/кг). Після підготовки операційного поля у верхній третині стегна проводився подовжній розтин, після чого краї рани розширювали гачками та оголювали сідничний нерв. Нерв перев'язували вище місця біфуркації його ниткою із синтетичного співполімеру. Після закінчення операції рана ушивалася пошарово.

Прооперовані тварини виводилися з експерименту в строки 1 міс. та 3,5 місяці.

20 Усі тварини були розподілені на три групи:

перша - інтактні тварини;

друга - прооперовані тварини, виведенні з експерименту у строк 1 міс.;

третья - прооперовані тварини, виведенні з експерименту у строк 3,5 міс.

25 Після виведення з експерименту в усіх тварин проводили забір крові та біологічних тканин, а саме сечового міхура та м'язів тазового дна.

В крові досліджували $\alpha 2$ -макроглобулін, креатинфосфокіназу (КФК) як маркери пошкодження, лактатдегідрогеназу (ЛДГ) як маркер гіпоксії та циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) за допомогою загальноприйнятих методик.

30 У гомогенаті сечового міхура та м'язів тазового дна досліджували КФК, ЛДГ та аутоантитіла за допомогою загальноприйнятих методик.

Морфологічні дослідження сечового міхура та м'язів тазового дна виконувалися за допомогою фарбування гематоксилін-еозином та Більшовського-Грос у модифікації Б.І. Лаврентєва. В м'язах тазового дна оцінювали стан м'язових волокон, судин та нервових утворень, а саме пері- та інтрамускулярних нервових сплетінь. У сечовому міхурі досліджувались детрузор та ділянка *trigonum vesicae*, де оцінювали перицелюлярні нервові утворення.

40 Для досягнення поставленої задачі щодо створення експериментальної моделі СХТБ виконувалося пошкодження крижового сплетіння шляхом перев'язування самого крупного нерва даного сплетіння - сідничного нерва, що можна вважати предиктором пудендопатії, тобто СХТБ в еквівалентному співвідношенні до хворих. Цей спосіб є зручним, оскільки оперативне втручання нескладне і виконується швидко.

Результати морфологічних досліджень.

45 М'язи тазового дна інтактних тварин розташовані у вигляді невеликих пучків, що переплітаються між собою, цитоплазма їх однорідна, напівпрозора, ядра клітин чітко помітні, розташовані в центральній частині м'язового волокна, інтенсивно пофарбовані. Судини розташовані між м'язовими волокнами, просвіт їх дещо розширений, стінки судин тонкі, просвіт поодиноких судин заповнений кров'ю. Тонкі сполучнотканинні волокна у вигляді невеликих пучків розташовані між м'язовими волокнами. Перицелюлярні тонкі нервові волокна розташовані між пучками м'язових волокон, обплітаючи їх.

50 У м'язах тазового дна й стінки сечового міхура через 1 місяць після моделювання патології розвиваються дистрофічні зміни - локальний або дифузійний набряк м'язової тканини (фіг. 1), периваскулярний і перицелюлярний набряк. Перимускулярні й інтрамускулярні нервові волокна в окремих ділянках нерівномірно потовщені, відмічається поодинока фрагментація пері- та інтрамускулярних нервових волокон (фіг. 2).

55 Через 3,5 місяця після моделювання патології зберігається локальний набряк м'язових волокон (фіг. 3), периваскулярний та перицелюлярний набряк. Дегенеративно-дистрофічні зміни перимускулярних нервових волокон також зберігаються (фрагментація й нерівномірне їхне стовщення) (фіг. 4).

Розвиток експериментально створеного СХТБ супроводжувався дезінтеграцією біохімічного, метаболічного та імунологічного стану на ЦІК у органному (м'язи тазового дна та сечовий міхур) та організменому рівнях в цілому.

Так, білок гострої фази α 2-макроглобулін достовірно підвищується у другій та третій групах на 51,5 %, та 30,5 % відповідно, порівняно з контрольною групою, що вказує на протеоліз, а саме альтерацію у тканинах. Навіть через 3,5 міс. показник α 2-макроглобуліну залишається підвищеним і характеризує тривалий перебіг процесу (табл. 1).

Показники активності ЛДГ відрізняються залежно від біологічної тканини. ЛДГ крові у тварин 3 експериментальної групи достовірно не змінюється порівняно з контрольною групою. А у 2 групі відмічається зниження ЛДГ на 74,1 %, що свідчить про активне розщеплення організмом глюкози з метою одержання енергії, головним чином, м'язовими клітками. Аналогічно крові ЛДГ веде себе і у гомогенаті м'язів тазового дна.

В гомогенаті сечового міхура 2 та 3 груп показники ЛДГ достовірно підвищується порівняно з контрольною групою на 819 % та 287 % - відповідно. Дані результати вказують на утворення значної кількості молочної кислоти в тканині сечового міхура, яка утворюється за умов гіпоксії.

Таким чином, при моделюванні СХТБ в експерименті підтверджено наявність значних гіпоксичних змін в тканині сечового міхура, які можуть супроводжуватися больовим синдромом (табл. 2).

Для оцінки пошкодження м'язової тканини проводили дослідження КФК в крові і гомогенатах сечового міхура та м'язів тазового дна. Так, в крові 2 та 3 груп відмічається підвищення КФК на 199 % та 150,5 % - відповідно, порівняно з контрольною групою. Значне та тривале підвищення КФК свідчить про виражені дистрофічні зміни в м'язовій тканині. А зниження показників КФК у гомогенатах скоріше пов'язано з тим, що відбувається включення лактатної фази енергозабезпечення м'язової роботи, або вираженою гіподинамією (табл. 3).

Стан імунної системи оцінювали за допомогою ЦІК і виявлення автоантитіл у гомогенатах сечового міхура та м'язів тазового дна. Активність крові 2 та 3 груп підвищена на 35,77 % та 26,01 % - відповідно, порівняно з контрольною групою. У гомогенаті сечового міхура відмічалось підвищення титру автоантитіл на 24,9 % в 2 та 3 групах, а титр автоантитіл у гомогенаті м'язів тазового дна також підвищувався на 56,49 % та на 13 % - відповідно (табл. 4).

Таблиця 1

Показники активності α 2-макроглобуліну в сироватці крові експериментальних тварин

Білок гострої фази	1 група (контрольна) (n=6)	2 група (n=6)	3 група (n=6)
α 2-макроглобулін, mg/ml	200,206 \pm 44,36	303,407 \pm 42,13*	261,220 \pm 68,52*

Примітки: *p<0,05

Таблиця 2

Показники активності лактатдегідрогенази у експериментальних тварин

Групи	Кров (U/1)	Гомогенат сечового міхура (U/1)	Гомогенат м'язів тазового дна (U/1)
Перша (n=6) (контрольна)	1173,93 \pm 45,44	17,70 \pm 1,01	16,50 \pm 3,21
Друга (n=6)	304,07 \pm 7,87	162,00 \pm 0,35*	6,76 \pm 13Д
Третя (n=6)	1234,54 \pm 29,27**	68,50 \pm 4,85*	18,80 \pm 10,21**

Примітки: *p<0,05 **p<0,001

Таблиця 3

Показники активності креатинфосфокінази у експериментальних тварин

Групи	Кров (U/1)	Гомогенат сечового міхура (U/1)	Гомогенат м'язів тазового дна (U/1)
Перша (n=6) (контрольна)	50,70±4,92	44,52±2,43	1117,92±24,98
Друга (n=6)	151,00±5,04*	26,71±1,71	658,12±22,01
Третя (n=6)	127,00±9,88*	20,64±1,42	519,70±22,99

Примітки: *p<0,05

Таблиця 4

Показники стану загального та місцевого імунітету експериментальних тварин

Групи	ЦІК (Ed)	Аутоантитіла сечового міхура (Ed/ml)	Аутоантитіла м'язів тазового дна (Ed/ml)
Перша (n=6) (контрольна)	6,15±0,26	2,77±0,15	1,77±0,57
Друга (n=6)	8,35±0,11*	3,46±0,15*	2,77±0,15*
Третя (n=6)	7,75±0,14*	3,46±0,15*	2,00±0,63*

Примітки: *p<0,05

Таким чином, можна зробити наступні висновки:

- 5 При експериментальному моделюванні синдрому хронічного тазового болю у тварин 2 та 3 груп морфологічно підтверджено наявність дегенеративно-дистрофічних змін у м'язах та нервових утвореннях і венозне повнокров'я в досліджуваних тканинах. Більш виражені зміни спостерігаються у 2 групі.

- 10 Біохімічні дослідження в крові, гомогенатах м'язів тазового дна та сечового міхура вказують на наявність пошкодження та гіпоксії як в крові, так і в окремих тканинах.

Підвищення активності циркулюючих імунних комплексів у крові та титру аутоантитіл в досліджуваних тканинах доводять наявність аутоімунного запалення.

- 15 Морфологічні, біохімічні та імунологічні зміни можуть бути субстратом для виникнення болю, а запропонована експериментальна модель синдрому хронічного тазового болю - використовуватися для подальших досліджень.

У порівнянні з прототипом, заявлене технічне рішення, за рахунок оригінального моделювання синдрому хронічного тазового болю, дозволяє створити достовірну модель синдрому хронічного тазового болю та обґрунтувати окремі ланки патогенезу цієї патології, що може бути використаним у подальшому в урологічних дослідженнях.

- 20 Джерела інформації:

1. Горпинченко И.И., Мигов В.Г. и др. Синдром хронической тазовой боли. Новая проблема - новое решение? // Здоровье мужчины. - 2013. - № 4 (47). - С. 35-42.

2. Лоран О.Б. Хронический простатит одна болезнь? / О.Б. Лоран, Е.И. Велиев, А.В. Живов // Урология. - 2009. - № 1. - С. 70-75.

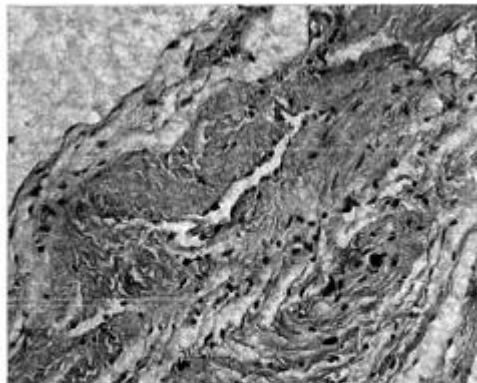
- 25 3. Ухаль Е.М., Ухаль М.И. Хроническая тазовая боль и астенический синдром у больных с хроническим простатитом и их медикаментозная коррекция // Здоровье мужчины. - 2008. - № 2. - С. 118-119.

- 30 4. И.А. Аполихина, Я.Б. Миркин, И.А. Эйзенах, О.Ю. Малинина, Д.А. Бедретдинова. Тазовые дисфункции и болевые синдромы в практике уролога // Экспериментальная и клиническая урология. - 2012. - № 2. - С. 84-90, с. 85.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 35 Спосіб моделювання синдрому хронічного тазового болю шляхом пошкодження крижового сплетіння, який **відрізняється** тим, що після підготовки операційного поля у верхній третині стегна тварини виконують розріз, краї рани пошарово розширюють до оголення сідничного

- 5 нерва, який перев'язують у проксимальній його частині ниткою із синтетичного співполімеру, закінчують операцію пошаровим ушиванням рани і виводять тварину із експерименту на 25-30 добу, забирають кров, тканини м'язів тазового дна і сечовий міхур, виконують морфологічні, біохімічні та імунологічні дослідження забраного матеріалу і при наявності в м'язових волокнах, судинах та нервових утвореннях патологічних змін судять про пошкодження крижового сплетіння, що є предиктором пудендопатії, а саме - синдрому хронічного тазового болю.



М'яз тазового дна. 30-й день моделювання патології. набряк м'язових волокон. Забарв.: гематоксилін-еозин. Збільш, x 200

Фіг. 1



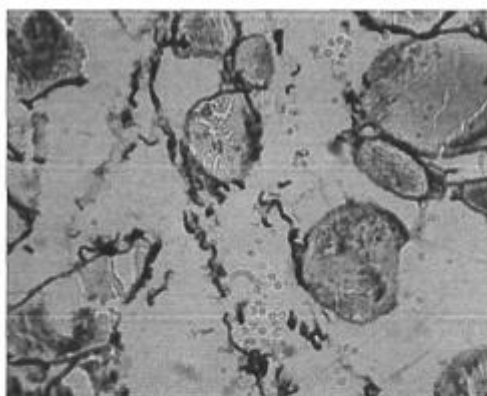
Сечовий міхур, ділянка trigonum vesicae. 30-й день моделювання патології. Нерівномірне потовщення фрагментів перимускулярних нервових волокон. Забарв.: Більшовського-Грос в модифікації Б.І.Лаврентєва. Збільш, x 200.

Фіг. 2



М'яз тазового дна. 3,5 міс. моделювання патології. набряк м'язової тканини, перичелюлярний набряк. Забарв.: гематоксилін-еозин. Збільш, x 200.

Фіг. 3



Сечовий міхур, ділянка trigonum vesice. 3,5 міс. моделювання патології. Фрагментація та нерівномірне потовщення перимускулярних нервових волокон. Забарв.: Більшовського-Грос в модифікації Б.І.Лаврентєва. Збільш, x 200.

Фіг. 4