

Изобретение относится к области биологии и медицины.

При скрининге новых лекарственных противовоспалительных средств в настоящее время широко используется модель воспалительного отека лапки у мелких лабораторных животных. Для оценки выраженности воспаления количественно определяют степень проявления различных его признаков, к числу которых относят воспалительный отек и местную температуру.

В качестве прототипа нами был взят способ оценки выраженности воспаления по толщине лапки лабораторного животного, позволяющий одному исследователю, при использовании специального измерителя толщины [1], осуществлять приблизительно 100-120 замеров толщины лапок за час. Для осуществления данного прототипа способа оценки выраженности воспаления лапку исследуемого животного фиксируют под подвижным рабочим органом измерителя толщины или подвижной частью микрометра, которые в дальнейшем приводятся в движение - опускают на ткани лапки, осуществляя определенное сдавление последних. Степень сдавления, а следовательно, и получаемый результат будет определяться упругостью пружины микрометра. При этом достигается какая-то конкретная степень сдавления тканей, перемещение подвижных частей измерительных приборов прекращается, и производят замер исходной толщины лапки животного. Затем животному субплантарно вводят раствор флоггена и через какой-то определенный промежуток времени, например, через 4 часа после инъекции раздражающего агента, вновь, по уже описанной схеме, осуществляют повторный замер толщины лапки. Разность между толщиной конечности после индукции воспаления и ее исходным размером отражает выраженность воспаления у данного животного. Учитывая индивидуальные упругие свойства тканей животных, такой критерий оценки не лишен субъективизма, так как игнорируются физиологические особенности тканей каждого отдельного организма, что снижает точность метода и в ряде случаев может способствовать избыточному или недостаточному сдавлению тканей при проведении замеров. Кроме того, полученные абсолютные значения толщины тканей животного будут в значительной степени зависеть от конструктивных особенностей используемого оборудования. Поэтому для повышения точности способа определения выраженности воспаления необходимо было выработать такой критерий сдавления тканей животного при проведении замеров их толщины, который бы учитывал физиологические особенности последних и не зависел от конструктивных особенностей применяемых измерительных приборов. В качестве такого критерия нами предлагается использовать местную температуру, определяемую термоэлектрическим способом, по величине которой можно судить об активной гиперемии и функциональном состоянии вазомоторного аппарата, что и будет критерием степени сдавления тканей живого объекта.

В основу изобретения поставлена задача создания способа определения выраженности воспаления у лабораторных животных, в котором путем введения дополнительного показателя воспаления тканей возможно повысить точность их измерения с учетом физиологических особенностей тканей каждого отдельного организма.

Указанная задача достигается тем, что у лабораторных животных измеряют толщину воспаленных тканей путем сдавления тканей рабочим концом измерительного прибора, при этом согласно изобретению одновременно с измерением толщины воспаленных тканей регистрируют их локальную температуру по максимальному значению термотока, а учет измерения толщины осуществляют в тот момент, когда отмечают начало снижения величины термотока относительно его максимального значения.

Были проведены лабораторные исследования на 8 лабораторных крысах обоего пола. Асептическое воспаление лапки у животных индуцировали субплантарным введением 0,1 мл 2 % раствора формалина. Толщину лапок с использованием заявляемого способа измеряли до начала исследования, а также с интервалом в 1 час на протяжении 6 часов. До проведения исследования животных выдерживали в течение двух часов в помещении где проводился эксперимент. При снятии показаний лапку животного жестко фиксировали на плоскости, после чего с помощью индикатора часового типа, также жестко зафиксированного над этой же плоскостью, с установленным на его рабочем конце "горячим" спаем медно-константановой термопары, осуществляли замер толщины конечности крысы. "Холодный" спай термопары помещали в термос с тающим льдом. В ходе осуществления замера рабочий конец индикатора медленно с равномерной скоростью приближали и помещали на лапку, проводя постепенное ее сдавление под контролем показаний цифрового вольтметра, регистрирующего величину термотока. Сдавление конечности прекращали и определяли ее толщину по показаниям индикатора часового типа в тот момент, когда на вольтметре регистрировалось начало снижения максимального термотока. Показателями способа являлись:

а) толщина лапки на момент остановки движения рабочего конца индикатора часового типа, выраженная в мм;

б) величина максимального термотока, соответствующая локальной температуре воспалительного очага, определяемой по калибровочной кривой. Прирост толщины и температуры определяли относительно тех же показателей, полученных на тех же животных до инъекции им флоггена. Результаты обработаны статистически методом прямых разностей с использованием критерия Стьюдента и представлены в таблице.

Представленные данные свидетельствуют о целесообразности одновременного измерения толщины и местной температуры при осуществлении способа определения выраженности воспаления у лабораторных животных. Кроме того, приведенная динамика изменений этих показателей имеет определенные отличия, что может отражать различные процессы, происходящие в очаге воспаления, и использоваться для более полной их оценки.

Способ определения выраженности воспаления у лабораторных животных применим в работе фармакологических и патофизиологических лабораторий, занимающихся скринингом противовоспалительных средств и изучением процесса воспаления.

Пример осуществления способа:

Взяли одну белую мышь, самца, массой 25 г, выдержав до проведения исследования в течение двух часов при температуре помещения лаборатории - 16,5°С. Затем правую лапку мыши зафиксировали на плоскости под жестко закрепленным над нею индикатором часового типа (микрометром), предварительно

подняв рабочий орган прибора с зафиксированным на нем "горячим" спаем медно-константановой термопары в максимальное верхнее положение. "Холодный" спай при этом был погружен в термос с тающим льдом. После этого начали медленно и постепенно производить опускание рабочего органа измерительного прибора на лапку (стопу) животного. При этом регистрировалась величина термотока, возникающего между концами термопары. Для этого в качестве регистрирующего прибора использовался цифровой вольтметр В7-21. Исходное значение термотока, составляло 0,499 mV. По мере приближения рабочего органа прибора к лапке и сдавливания последней происходило увеличение величины термотока вплоть до 0,622 mV, а затем последующий замер начал уменьшаться по отношению к предыдущему в третьем знаке после запятой. Толщина лапки на момент достижения максимального значения термотока по показаниям индикатора часового типа составила 2,57 мм. При этом снятие препятствия, позволяющего регулировать скорость опускания рабочего органа прибора и ограничивающего степень сдавливания им тканей под действием силы упругости пружины индикатора часового типа не изменило величины показаний толщины конечности мыши на шкале микрометра.

Подняв рабочий конец прибора в максимальное верхнее положение, лапку животного освободили, после чего с соблюдением правил асептики субплантарно в нее ввели 0,05 мл раствора флогогена (1 % -ный раствор каррагинана).

Через 4 часа после инъекции раздражающего агента по той же схеме было проведено повторное измерение толщины и температуры исследуемой лапки животного. При этом исходное показание величины термотока стало 0,564 mV, так как за это время несколько повысилась температура воздуха в лаборатории - приблизительно до 17,5°C. Измерение толщины лапки с учетом максимального значения термотока показало, что толщина лапки увеличилась до 4,21 мм, а максимальное значение термотока составило 0,686 mV. После этого замер толщины лапки повторили без учета максимального термотока. Для этого к зафиксированной на плоскости лапке животного опустили рабочий конец измерительного прибора, чтобы не было удара на ткани, и убрали использовавшееся при предыдущем способе осуществления замера препятствие для его перемещения. В результате этого рабочий конец индикатора часового типа стал сдавливать ткани конечности животного под действием силы упругости встроенной в него пружины. Движение рабочего органа прибора прекратилось при значении толщины лапки 2,85 мм. Затем для выяснения величины разброса результатов, при таком способе замера, а также влияния последнего на состояние вазомоторного аппарата лапки, измерение размера конечности мыши было повторено (без изменения положения лапки под измерительным прибором) с регистрацией значения термотока на момент остановки движения рабочего органа индикатора часового типа. Была зарегистрирована толщина лапки - 2,68 мм. При этом значение термотока, регистрируемое по вольтметру, было 0,629 mV. Из приведенных данных следует, что предлагаемый нами способ определения выраженности воспаления позволяет избежать избыточного сдавливания воспаленных тканей, приводящего к нарушению гемодинамики в измеряемом органе и за счет этого повысить точность проводимых измерений.

#### Прирост толщины и локальной температуры лапок крыс после субплантарной инъекции флогогена

Показатель	Время после инъекции флогогена, ч					
	1	2	3	4	5	6
Толщина, мм (M±m)	1,31±0,07	1,63±0,08	1,49±0,12	1,69±0,13	1,74±0,13	1,62±0,13
p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Температура, (°C) (M±m)	4,01±0,40	2,74±0,40	2,15±0,39	1,69±0,59	2,11±0,16	2,01±0,47
p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,05	< 0,001	< 0,01