



УКРАЇНА

(19) UA (11) 17287 (13) U
(51) МПК
G09B 23/02 (2006.01)
G09B 23/04 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ВТОРИННОГО ГІПОГОНАДИЗМУ

1

(21) u200603542
(22) 03.04.2006
(24) 15.09.2006
(46) 15.09.2006, Бюл. № 9, 2006 р.
(72) Запорожан Валерій Миколайович, Холодкова
Олена Леонідівна, Пихтєєв Дмитро Михайлович,
Перепелюк Микола Миколайович
(73) ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

2

(57) Спосіб моделювання вторинного гіпогонадізму, що включає введення в організм тварини антибіотика антрациклінового ряду, який відрізняється тим, що статевозрілим самцям мишей лінії ICR віком 5-6 міс. вводять ін'єкційно внутрішньочеревинно адриабластин у дозі 2-5 мг/кг двократно по половині сумарної дози з інтервалом 7 днів.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до репродуктивної медицини і може бути використана для моделювання гіпотрофії яєчок та пригнічення сперматогенезу.

У вирішенні проблеми безпліддя важливе місце посідає оцінка репродуктивної здатності чоловіка, оскільки до 30% випадків неможливості жінки завагітніти залежить від малої кількості чи зниженої життєздатності сперматозоїдів у сім'яній рідині статевого партнера.

Причинами гіпогонадізму у чоловіків є, насамперед, хронічні інтоксикації та хронічні (чи перенесені гострі) сечостатеві інфекції, котрі пошкоджують сперматогенний епітелій. Елімінація причинного фактора не завжди призводить до відновлення гермінативної функції чоловіка і потребує проведення медикаментозного лікування.

Запровадження методів відновлення порушеної репродуктивної функції у чоловіків потребує адекватної моделі на тварині з метою апробації нових медикаментозних та немедикаментозних методів.

Існуючі моделі гіпогонадізму у щурів дозволяють отримати знижену рухливість та життєздатність зростанні показників перед- і, особливо, післяімплантаційної смертності ембріонів.

Відома модель гіпогонадізму, для отримання якої в якості патогенного фактора використовувалась низька температура, що її вплив проводили у різних режимах (помірна

гіпотермія +28°C, глибока гіпотермія +20°C) під наркозом та без його використання [1].

Відома також методика експериментальне створеної лівобічної веногіпертензії органів калитки методом однокічної перев'язки лівої яєчкової вени [1].

Однак, вказані методи викликають необоротні зміни у статевих залозах, насамперед у сперматогенному епітелії, що практично зводить нанівець відпрацювання способів відновлення пригніченої гермінативної функції.

Найбільш близьким до корисної моделі є модель токсичного ураження яєчок та епідіміса після 4-тижневого застосування адриабластину, піридоксину та альфа-хлорогідрину [2].

Однак, вказаний метод вимагає застосування 3-х препаратів протягом тривалого часу, що збільшує вираженість системних уражень та собівартість експерименту.

В основу корисної моделі поставлено задачу вдосконалення способу моделювання вторинного гіпогонадізму за рахунок застосування антрациклінового антибіотика адриабластину - сполуки, здатної пригнічувати матричні властивості ДНК та інгібувати ключові ферменти білкового синтезу, що дозволить зменшити кількість патогенних чинників (препаратів) та скоротити термін формування моделі патології.

Поставлена задача вирішується тим, що, згідно корисної моделі, статевозрілим самцям мишей лінії ICR віком 5-6 міс. внутрішньочеревинно вводять адриабластин в

(13) U
17287
(11) UA
(19) UA

дозі 2'5мг/кг, двократно по половині сумарної дози з інтервалом 7 днів.

Спосіб виконується наступним чином. Миша фіксується за шкіру потилиці першим та другим пальцями руки експериментатора, а також за хвіст - п'ятим пальцем руки експериментатора. Розчин адриабластину, об'ємом 0,2мл, що містить 0,025-0,0625мг діючої речовини (з розрахунку на масу миші \approx 25г) вводять інсуліновим шприцем з інсуліновою голкою, відступивши на 1-2мм від складки шкіри між серединою стегна (задньої лапки) та черевцем під кутом 30-45 градусів до поверхні черевця, орієнтуючи голку в напрямку шиї тварини, вводючи до появи відчуття провалу (зазвичай на 3-4мм). Після ін'єкції миша утримується в клітці по 4-5 тварин на загальному харчовому раціоні з вільним доступом до їжі та води. Повторна ін'єкція адриабластину виконується через 7 днів після першої, доза лишається тією ж, що і перший раз; сумарна доза складає 0,05-0,125мг, тобто 2-5мг/кг.

Морфологічні зміни в яєчках мишей реєструються з 10-го дня від 1-ої ін'єкції адриабластину - з цього часу миша може бути використана як модель вторинного гіпогонадізму.

Виведення тварин з експерименту проводять шляхом дислокації шийних хребців чи іншим способом евтаназії. Виділені тестикули фіксують в 10% розчині нейтрального формаліну. Парафінові зрізи завтовшки 3-5мкм, забарвлюють гематоксиліном та еозином і досліджують з використанням світлового мікроскопа.

Проведені дослідження показали, що відносна маса яєчок мишей від моменту введення адриабластину прогресивно зменшувалася і на 30-й день експерименту зменшилася в два рази.

Морфологічна картина яєчок мишей представляла собою гетерогенну структуру, в якій, поруч з одиничними інтактними канальцями, зустрічається велика кількість канальців з практично повною відсутністю сперматогоній (5% від нормальної кількості), інколи навіть при збереженості інших клітин сперматогенного епітелію. При морфометричному дослідженні виявлено зменшення щільності клітин Лейдига у 3 рази в порівнянні з контролем.

Дослідження рівня гормонів сироватки крові показали, що на 10-й день після введення адриабластину у мишей різко знизився рівень тестостерону, у подальшому - рівень тестостерону дещо підвищився, але не досягав рівня контрольної групи.

В порівнянні з прототипом, запропонований спосіб дозволяє спричинити прямий токсичний вплив як на клітини Лейдига, порушуючи гормональний фон організму мишей, так і на сперматогенний епітелій, приводячи до атрофії яєчок на протязі відносно короткого часу, за рахунок застосування антибіотика антрациклінового ряду - адриабластину, в оптимізованій дозі, що не призводить до розвитку важкого токсичного ураження організму тварини.

Література:

1. Патогенетические аспекты мужской субфертильности как причины репродуктивных потерь. Журнал «Проблемы репродукции». - 1999. - №6. - С.22-28.

2. Plassmann S, Urwyler H. Improved risk assessment by screening sperm parameters. Toxicol. Lett. 2001; 119 (2): P.157-171.