



УКРАЇНА

(19) UA (11) 38446 (13) U
(51) МПК (2006)
A61F 9/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ХРОНІЧНОГО ПІДВИЩЕНОГО ВНУТРІШНЬООЧНОГО ТИСКУ У ЩУРІВ

1

2

(21) u200810508

(22) 19.08.2008

(24) 12.01.2009

(46) 12.01.2009, Бюл.№ 1, 2009 р.

(72) МИХЕЙЦЕВА ІРИНА МИКОЛАЇВНА, UA

(73) МИХЕЙЦЕВА ІРИНА МИКОЛАЇВНА, UA

(57) Спосіб моделювання хронічного підвищеного внутрішньоочного тиску у щурів, що включає введення 0,1% розчину адреналіну один раз на 2 до-

би, який відрізняється тим, що препарат вводять протягом 1,5 місяця у черевну порожнину, введення 20 ін'єкцій адреналіну здійснюють по схемі: 5 ін'єкцій препарату вводять по 0,01мл на 100г ваги тварини, після чого дозу наступних 5 ін'єкцій підвищують до 0,012мл на 100г ваги, потім ще 5 ін'єкцій - до 0,014мл на 100г ваги і останні 5 ін'єкцій - до 0,015мл на 100г ваги тварини.

Корисна модель належить до медицини, а саме до офтальмології.

Створення адекватної моделі захворювання є однією з ведучих складових успіху при вивченні патогенезу захворювання, а також розширює можливості вивчення нових фармакологічних засобів. Глаукома є складним, мультифакторним хронічним захворюванням очей, точний патогенез якого дотепер не ясний. Підвищений внутрішньоочний тиск (ВОТ) більшістю авторів визнається одним з найбільш важливих факторів глаукоми. Наявність в арсеналі дослідників адекватної, хронічно викликаної моделі, тривалий час зберігаючої підвищенням ВОТ, є надзвичайно важливим і актуальним завданням. За роки вивчення проблеми глаукоми вживали спроби створити різні моделі, серед них переважали різні способи закриття кута передньої камери (Weber A. 1877, Schmidt-Rimpler H. 1908, Вороній З.Г. 1951) або утрудненням відтоку шляхом перев'язки, наприклад, вортикозних вен (Левкоєва Е.Ф. і соавт. 1956). У сучасних дослідженнях найчастіше використовують метод лазерної коагуляції шляхів відтоку (Grozdanic S.D. Betts D.M., Sakaguchi D.S. et al, 2003), застосований уперше до трабекулярної мережі (Gaasterland D., Kupfer C., 1974). Очевидно, що ці прийоми створюють гіпертензію ока, близьку до вторинної глаукоми. Тоді як найбільш складною проблемою є патогенез первинної глаукоми. Головним недоліком всіх цих моделей є їх нефізіологічність і відсутність у більшості тривалих ефектів підвищення ВОТ. Найбільш близьким до цього запропонованого нами є метод експериментальної глаукоми шляхом введення 0,1мл 0,1% розчину адреналіну в крайову вену вуха кролям [Липовецька Е.М. Розвиток ек-

периментальної глаукоми при тривалому внутрішньовенному введенні адреналіну //Офтальмол. журн.,-1966- №3 -с.221-224]. Протягом 3 місяців у тварин викликали стійке підвищення ВОТ, що зберігалось й після припинення ін'єкцій адреналіну. Цей метод, що ми взяли за прототип, має ряд недоліків:

1. відсутність розробленої дози препарату, що вводять, залежно від ваги тварини;
2. тривалість процесу моделювання (3 місяці);
3. морфологічні структури ока кролів (сітківка) істотно відрізняються від людської;
4. більша чутливість кролів до адреналіну, що вводять внутрішньовенно, і, як наслідок, великий падіж тварин при моделюванні;
5. фінансове утримання кролів до 2 літнього й більше віку, які необхідні для моделювання, є дорогим.

Нами розроблений спосіб моделювання підвищеного ВОТ у щурів шляхом удосконалення способу, запропонованого Е.М. Липовецькою. Це вдосконалення забезпечується зміною схеми введення препарату, його дози, способу введення й об'єкта моделювання. Що дозволяє одержати стійке хронічне підвищення ВОТ в більш короткий термін, з меншим падіжем тварин і менших фінансових витратах.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що в способі моделювання хронічно підвищеного внутрішньоочного тиску у щурів, що полягає в системному введенні 0,1% розчину адреналіну один раз у дві доби, і щодо корисної моделі відрізняється тим, що препарат вводять протягом 1,5 місяців у черевну порожнину; введення 20 ін'єкцій адреналіну відбувається по схемі: 5 ін'єкцій препарат вводять по 0,1мл на 100г ваги

(13) U
(11) 38446
(19) UA

тварини, після чого дозу наступних 5 ін'єкцій підвищують до 0,012мл на 100г, потім ще 5 - до 0,014мл на 100г і останні 5 ін'єкцій адреналіну вводять по 0,015мл на 100г ваги.

Причинно-наслідкові зв'язки

1) використовується інший об'єкт для моделювання, а саме білі лабораторні щури. Це дає ряд переваг:

а) будова оптико-сенсорного апарата (сітківки) щурів ближче по своїй морфологічній структурі до людського, ніж у кролів. Це робить пропоновану модель на пацюках більш адекватною очній гіпертензії у людей;

б) тривалість життя у щурів менше, ніж у кролів. Це дозволяє скоротити всі етапи експерименту: по-перше - отримання дорослих особин, необхідних для моделювання; по-друге - процес індукції моделі; по-третє - «дозрівання» моделі;

в) щури менш чутливі до токсичної дії адреналіну, спостерігається менший падіж експериментальних особин у період моделювання безпосередньо від введення адреналіну;

г) розведення, утримання щурів як об'єкта моделювання з економічного боку більш доступне.

2) використовується інший спосіб введення препарату, а саме інтроперитонеальний (внутрішньочеревний). Введення препарату в черевну порожнину дозволяє, при збереженні повної біодоступності адреналіну, запобігти його ударний вплив на серцево-судинну систему тварини.

3) введення препарату в пропонованій дозі за схемою, з поступовим збільшенням адреналіну дозволяє:

а) стандартизувати кількість препарату, що вводиться, з розрахунку до ваги тварини;

б) адаптувати експериментальних тварин до поступового збільшення дози, що зменшує імовірність раптової смерті від чергової дози адреналіну;

в) скоротити терміни моделювання в 2 рази зі збереженням стійкості отриманого при моделюванні ефекту (підвищеного ВОТ).

Опис способу

20 дорослих щурів, вагою 200-350г, що утримуються на звичайному режимі віварію, були відібрані й містилися в клітках по 4-5 особин, окремо самці й самки. Протягом 2-3 тижнів тварини привчалися до рук експериментаторів, їм вимірювся фоновий внутрішньоочний тиск. Для цього щура загортали в серветку (без застосування насильницьких, що приносять біль або лякаючих засобів). В

обидва ока як місцеву анестезію закапували по 1 краплі 0,4% розчину іннокаїну. Аппланатічним тонометром Маклакова вагою 2г вимірювали ВОТ поперемінно в обох очах. Вимірювання відбитків у лінійних одиницях проводили за допомогою окуляра-лінзи з убудованою лінійкою (МПБ-2). Перерахунок на одиниці ртутного стовпа проводили по формулі Головіна [Шевалев В.Е. Гіперболічна лінійка для виміру тонограм] Офт.ж. 1947, №3, с.140-144]. Введення 0,1% розчину адреналіну в дозі, починаючи з 10мкг, доводячи до 15мкг на 100г ваги, здійснювали внутрішньочеревно. Було проведено 20 ін'єкцій за 6 тижнів, по 3 ін'єкції на тиждень. Через кожні 5 ін'єкцій доза адреналіну збільшувалася. Починали з 0,01мл 0,1% розчину на 100г ваги й через 15 ін'єкцій досягали 0,015мл на 100г ваги. ВОТ у період індукції адреналіном вимірювали обов'язково до ін'єкцій. Всі виміри здійснювали в ранкові часи.

Підвищення ВОТ відзначали у всіх експериментальних тварин. Рівень його в період введення адреналіну коливався флуктуаційно (від 20,8 до 35,9мм рт.ст при контрольних значеннях від 16,2 до 18,3мм рт.ст.), що пояснюється механізмом впливу препарату, що викликає вазоспазм. У середньому по групі ВОТ у період моделювання підвищилося на 48% (від $17,1 \pm 0,19$ до $25,9 \pm 0,87$ мм рт.ст.).

Після закінчення введення препарату спостереження тривали протягом 7 місяців. Рівень ВОТ лишався підвищеним у порівнянні з фоновим. Так, через 10 тижнів після закінчення введення адреналіну ВОТ було підвищено в порівнянні з фоновим на 75% ($29,8 \pm 1,23$ мм рт.ст). Воно залишалося практично на тому ж високому рівні ще через 2 місяці спостережень, тобто через 18 тижнів після закінчення введення адреналіну ВОТ склало значення $29, \pm 0,99$ мм рт.ст. Подальші спостереження показали, що внутрішньоочний тиск в експериментальних щурів через 28 тижнів залишався істотно вище фонового - на 52% ($26,0 \pm 1,05$ мм рт.ст). Всі отримані результати були високо статистично достовірні, $p < 0,001$.

Отримані дані дозволили зробити висновок про те, що нами була отримана модель підвищеного внутрішньоочного тиску із хронічним механізмом розвитку й тривалим стійким ефектом. Це дозволяє вважати дану модель підвищеного ВОТ у щурів адекватною первинному глаукомному підвищенню офтальмотонуса у людей.