

Заявлений спосіб моделювання остеоартрозу з синовітом відноситься до галузі експериментальної медицини і біології, а також, ревматології, травматології та ортопедії, і може бути використаний для моделювання захворювань, які супроводжуються запально-деструктивними змінами в суглобі та параатрикулярних тканинах, а також для диференційованих досліджень різних стадій розвитку остеоартрозу з метою вивчення специфіки дії на них фармакологічних препаратів.

Відомий спосіб моделювання деструктивно-дистрофічного процесу в суглобі [А.с. СССР №951368, кл. G09B23/28, Бюл. №30, 1982] шляхом пошкодження суглобового хряща однократним прямим впливом струменя парорідинного азоту під тиском 0,2-0,6атм протягом 4-8с.

Реалізують спосіб таким чином.

Під наркозом у тварини поширено розтинають кульшовий суглоб; розрізають капсулу суглоба і оголяють передню поверхню головки стегна, при цьому анатомічне співвідношення в суглобі та форма суглобової поверхні не порушується; подають парорідинний струмень азоту на суглобовий хрящ апаратом "Х-34" з відстані 2см під тиском 0,4атм, час експозиції - 8с, при цьому кріовплив розповсюджується на всю глибину суглобового хряща з захопленням замикальної пластинки.

При мікроскопічному дослідженні на 28 - у добу і через 2 місяці після моделювання патологічного процесу морфологічні зміни в суглобі відповідали тим, що спостерігаються при деформуючому артрозі.

Недоліком відомого способу є те, що відома модель остеоартрозу у тварини патогенетичне не відповідає аналогічному захворюванню, яке розгортається у людини в процесі інтенсивної професійної діяльності, наприклад, у шахтарів, оскільки відтворюється тільки місцевий патологічний процес - пошкодження клітин хряща, тоді як у людини розвиток остеоартрозу є наслідком зниження адаптаційних процесів в тканинах суглоба, які виникають при первинному порушенні регулюючих систем (насамперед ЦНС, а також імунної та ендокринної). Описане моделювання в експерименті остеоартрозу, за суттю, є відтворенням наслідків захворювання, яке розвивається у людини, і не дозволяє коректно переносити отримані результати в клініку для розробки відповідних методів діагностики, профілактики чи лікування.

Відомий спосіб моделювання остеоартрозу [див. патент №24689 МПК А61В17/56, дата публікації 30.10.1998, бюлетень №5], який передбачає моделювання остеоартрозу шляхом ушкодження суглобового хряща впливом УВЧ на скронево-тім'яну область по 12-15 хвилин щодобово протягом 10-15 діб, після чого підвищують одночасно фізичне навантаження на локомоторний апарат, наприклад, біг у тредбані, і температуру навколишнього середовища, наприклад, до +38-39°C протягом 2-3 годин.

Спосіб-прототип не відтворює картину патогенезу захворювання, аналогічну тій, що є у людини, хворої на остеоартроз, а дозволяє проаналізувати механізми відновлення хряща (репаративної регенерації) у інтактних тварин.

Крім цього, недоліками наведених способів є те, що вони трудомісткі, не дають можливості отримувати відтворювальні результати, диференціювати різні стадії розвитку остеоартрозу та досліджувати специфіку протизапальної дії фармакологічних препаратів.

Завданням винаходу є створення способу моделювання остеоартрозу з синовітом, у якому шляхом застосування нових операцій способу, нових емпіричним чином визначених речовин і режимів їх введення забезпечується можливість диференційованого дослідження розвитку остеоартрозу з метою вивчення специфіки і ефективності дії фармакологічних препаратів на різних стадіях остеоартрозу.

Поставлене завдання досягається тим, що спосіб моделювання остеоартрозу з синовітом передбачає вплив на область суглоба, що порушує процеси синтезу/резорбції тканин суглобу та індукує в суглобах тварин зміни, що схожі за проявом з остеоартрозом, ускладненим синовітом, у людини.

Новим у способі є те, що вплив здійснюють шляхом одноразового введення на добу в суглоб лабораторних щурів вітаміну А, протягом 2 діб, із розрахунку 13,5 - 13,9мг вітаміну А на 1кг ваги лабораторної тварини.

Внаслідок застосування нових ознак способу з'являється можливість отримувати відтворювальні результати та стає доступним як диференційовано досліджувати різні стадії розвитку остеоартрозу, так і вивчати ефективність впливу на них фармакологічних препаратів. Крім того, на відміну від аналогу, запропонований спосіб є простим та доступним при експериментальному моделюванні.

Спосіб, що заявляється ілюструється прикладами.

В таблиці 1 представлені результати досліджень моделювання остеоартрозу з синовітом в наведених прикладах з різною концентрацією вітаміну А, на Фіг.1 представлено збільшений розтин фрагменту суглобового хрящу на третю добу, на Фіг.2 представлено розтин фрагменту суглобового хрящу на сьому добу, на Фіг.3 представлено розтин фрагменту суглобового хрящу на 28 добу.

Моделювання остеоартрозу з синовітом здійснювали шляхом одноразового введення на добу в суглоб протягом двох діб наступних концентрацій вітаміну А:

I група тварин (лабораторних щурів) (n=7) - концентрація вітаміну А дорівнювала 13,5мг на 1кг ваги тварини;

II група тварин (лабораторних щурів) (n=6) - концентрація вітаміну А дорівнювала 13,6мг на 1кг ваги тварини;

III група тварин (лабораторних щурів) (n=7) - концентрація вітаміну А дорівнювала 13,7мг на 1кг ваги тварини;

IV група тварин (лабораторних щурів) (n=9) - концентрація вітаміну А дорівнювала 13,9мг на 1кг ваги тварини;

Роботу з тваринами проводили у відповідності з вимогами європейської конвенції про гуманне відношення до лабораторних тварин [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, 1986].

Тварин виводили із експерименту на 3, 7 та 28 добу. Для підтвердження способу проводили морфологічний контроль. Суглоби тварин досліджували гістологічними методами. Матеріал фіксували в 10% нейтральному формаліні, декальцинували в 5% розчині азотної кислоти, знежирювали в серії спиртів висхідної концентрації та вміщували в целоїдин. Гістологічні зрізи товщиною 5-7 мк забарвлювали гематоксиліном і еозином, а також за Ван Гизоном. Мікроскопічний аналіз матеріалу та фотозйомку проводили під мікроскопом Carl Zeiss за допомогою цифрової камери Canon.

Моделюючи запропонованим способом остеоартроз з синовітом, проводили клінічний нагляд, макроскопічні та мікроскопічні дослідження на 3, 7 та 28 добу від початку моделювання.

Клінічно, після введення вітаміну А в порожнину колінного суглоба щурів у тварин в усі строки дослідження (1-28 доба) суглоб був збільшений в об'ємі, мала місце виражена гіперемія, припухлість за рахунок набряку м'яких тканин.

Макроскопічні дослідження

При розтині суглобів щурів, в які було введено вітамін А, на третю добу в порожнині були виявлені бурі маси та кров'яниста рідина. Суглобовий хрящ мищелків мав ерозії з вогнищами геморагій. Капсула гіперемірована, збільшена в об'ємі та припухла. М'язи з ознаками набряку, потовщені та нерівномірно забарвлені (Фіг.1). Зазначене відповідає першій стадії остеоартрозу.

На сьому добу у тварин з'являлись фрагменти суглобового хрящу в порожнині суглоба, суглобове покриття мищелків розволончене, на ділянках витончене. Практично на всьому протязі суглобовий хрящ мав буре забарвлення. В заворотах суглоба виявлені скупчення набрякової рідини, капсула суглоба потовщена та має набряк, синовіальна мембрана з вогнищами геморагій. М'язи з ознаками флюктуацій (Фіг.2). Зазначене відповідає другій стадії остеоартрозу.

На 28-му добу у тварин зберігалися виражені деструктивні зміни суглобового покриття. Фрагменти суглобового хряща розміщувалися в порожнині суглоба, суглобовий хрящ витончений на опуклій області мищелків. На окремих ділянках суглобовий хрящ спаяний з суглобовою капсулою. Капсула потовщена, має ділянки бурого кольору. М'язова тканина з осередками проліферації фібробластів (Фіг.3). Наведене відповідає третій стадії остеоартрозу.

На підставі застосування розробленого способу моделювання остеоартрозу з синовітом дана морфологічна диференційована характеристика різних стадій остеоартрозу.

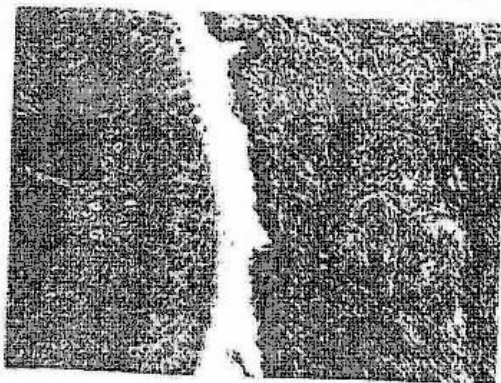
Як показують приклади, внаслідок застосування нових ознак способу просто і доступно з'являється можливість здійснювати диференційоване дослідження різних стадій остеоартрозу з метою розробки ефективної фармакотерапії.

Крім того, вітамін А індукує в суглобах тварин зміни, що схожі за проявом з остеоартрозом, ускладненим синовітом, у людини.

Таблиця 1

	Результати досліджень	Концентрація вітаміну А, мг			
		13,5	13,6	13,7	13,9
3 доба	Розволокнення матриксу, лізис клітин	+	+	+	+
	Наявність запальних інфільтратів	-	-	-	-
	Хронізація запального процесу	-	-	-	-
7 доба	Розволокнення матриксу, лізис клітин	+	+	+	+
	Наявність запальних інфільтратів	+	+	+	+
	Хронізація запального процесу	-	-	-	-
28 доба	Розволокнення матриксу, лізис клітин	+	+	+	+
	Наявність запальних інфільтратів	+	+	+	+
	Хронізація запального процесу	+	+	+	+

Примітка: + - наявність показника; - - відсутність показника.



Фіг. 1



Fig. 2

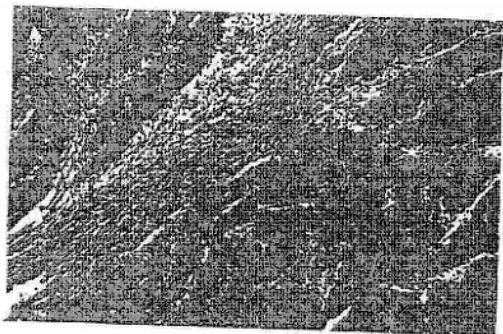


Fig. 3