



УКРАЇНА

(19) UA (11) 62115 (13) U
(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)
A61K 33/38 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ АСЕПТИЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПІХВИ

1

(21) u201101356
(22) 07.02.2011
(24) 10.08.2011
(46) 10.08.2011, Бюл.№ 15, 2011 р.
(72) СТЕПАНОВА КАТЕРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА,
ДОЛЖИКОВА ОЛЕНА ВІКТОРІВНА, МАЛОШТАН
ЛЮДМИЛА МИКОЛАЇВНА, МАЛОШТАН АНАСТАСІЯ
ВОЛОДИМИРІВНА
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-
ВЕРСИТЕТ
(57) Спосіб моделювання асептичного запалення
слизової оболонки піхви шляхом обробки піхви
дослідних тварин розчином азотнокислого срібла,

2

який відрізняється тим, що обробку здійснюють
при введенні тампона з 10 % розчином азотнокис-
лого срібла та його експозицією 5 хвилин, а оцінку
впливу досліджуваних засобів на перебіг патологі-
чного процесу здійснюють за загальною площею
ураження та сумою балів за ознаками стану сли-
зової оболонки піхви: набряк, гіперемія, кровови-
ливи - у відповідності до схеми:
0 балів - ознака відсутня;
1 бал - ознака виражена незначно;
2 бали - ознака виражена помірно;
3 бали - ознака різко виражена.

Корисна модель відноситься до медицини та
фармації, а саме до способів моделювання гінеко-
логічних патологій у дослідних тварин для докліні-
чного вивчення лікувальної активності вагінальних
лікарських засобів.

Запалення слизової оболонки піхви, у тому чи-
слі вульвовагініти, є однією з найпоширеніших
патологій у гінекологічній практиці. Для здійснення
ефективної терапії при індивідуальному підході до
лікування хворих необхідно розширювати арсенал
лікарських засобів. Нові біологічно активні речови-
ни та лікарські засоби повинні пройти стадію до-
клінічних досліджень на тваринах, перш ніж підда-
ватися клінічним випробуванням. Оцінку
ефективності нових лікарських засобів при докліні-
чних дослідженнях здійснюють за їх впливом на
відповідні модельні патології, що викликані у дос-
лідних тварин. Результати досліджень тим досто-
вірніші, чим більше модельна патологія наближена
до реальних патологічних процесів та чим вираз-
ніше ідентифікується вплив досліджуваних засобів
на патологічний процес.

Відомий спосіб моделювання фенолового ву-
львовагініту у самок щурів та мурчаків [1]. Моде-
льну патологію отримують шляхом введення у
піхву тварин, попередньо наркотизованим твари-
нам (1 % розчин барбамілу в дозі 1 мл/100 г), 5 %
розчину фенолу із розрахунку 0,1 мл/100 г маси
тіла. Подразнюючу дію фенолу необхідно повто-
рювати протягом 5 діб 4 рази: перші два введення

проводять з інтервалом 24 години, між другим та
третьім введенням - 48 годин, між третім та четве-
рим - 24 години. Оцінку ступеню вираженості пато-
логічного процесу після моделювання патології
проводять після евтаназії та розтину тварин.

Візуально проводять макроскопічну оцінку сту-
пеню ураження піхви за наступними показниками:
площа некрозу слизової оболонки, стан слизової
оболонки (наявність та ступінь вираженості набря-
ку, гіперемії, наявність та площа ерозій, кількість
крапкових крововиливів). Площу некрозу та ран
обчислюють на основі даних, що розраховані за
допомогою штангенциркуля.

Стан слизової оболонки піхви оцінюють у ба-
лах. Бали присвоюють у залежності від ступеню
вираженості ознак, для чого використовують наве-
дену нижче шкалу:

«-» - ознака відсутня;
«+» - ознака виражена слабо;
«++» - ознака виражена помірно;
«+++» - ознака виражена сильно.

До недоліків відомого способу слід віднести
великий відсоток не відтворюваності патології че-
рез високу леткість фенолу, низьку точність та
обмеженість отриманих результатів внаслідок су-
б'єктивності оцінки через використання штанген-
циркуля, що не дає змогу точно оцінити розмір та
площу ураження, якщо воно не має чіткої форми, а
також використання попередньої наркотизації тва-
рин барбамілом, що призводить до інтоксикації

(19) UA (11) 62115 (13) U

тварин та значно впливає на біохімічні показники крові.

Відоме моделювання асептичного запалення (виразки) слизової оболонки піхви щурів, що передбачає обробку піхви тварин протягом 3 хвилин 7 % розчином азотнокислого срібла [2]. Оцінювання ефективності проводять за показниками візуальних та гістологічних досліджень. Для цього тканину піхви фіксують у 10 % формаліні з наступною заливкою у парафін. Зрізи забарвлюють гематоксилін-еозином. Результати оцінюють за такою системою:

«+++» - тотальний опік (запалення) усієї поверхні, чи значна площа глибоких уражень з некрозом та інфільтратом, що займає більш ніж 80 % поверхні;

«++» - ураження середньої тяжкості без інфільтратів та некрозів, що займає близько 50 % поверхні слизової оболонки піхви;

«+» - легка ступінь запальної реакції на площі, що займає менш 50 % поверхні слизової оболонки піхви;

"0" - нормальна слизова оболонка піхви інтактних тварин.

Недоліком найближчого аналога можна вважати недостатню вираженість патологічного процесу при моделюванні внаслідок замалої концентрації азотнокислого срібла та часу його експозиції, які є недостатніми для розвитку патології. Крім того, з метою проведення оцінки впливу досліджуваних засобів на стан слизової оболонки піхви необхідно проводити гістологічні дослідження з фіксацією зразків та їх наступному забарвленню.

Завданням корисної моделі є створення способу моделювання асептичного запалення слизової оболонки піхви, який внаслідок оптимального вибору подразника та часу експозиції дозволяє одержати виразну модель патологічного процесу, а вплив досліджуваних засобів на патологію оцінювати кількісно без використання гістологічних досліджень, що обумовлює точність та простоту отримання результатів.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що згідно з корисною моделлю асептичне запалення слизової оболонки піхви здійснюють при введенні тампону з 10 % розчином азотнокислого срібла та його експозицією 5 хвилин, а оцінку впливу досліджуваних засобів на перебіг патологічного процесу здійснюють за загальною площею ураження та сумою балів за ознаками стану слизової оболонки піхви: набряк, гіперемія, крововиливи - у відповідності до схеми:

0 балів - ознака відсутня;

1 бал - ознака виражена незначно;

2 бали - ознака виражена помірно;

3 бали - ознака різко виражена.

Всі параметри заявленого способу визначені експериментальним шляхом, їх сукупність є новою, не відомою з джерел інформації.

Заявлений спосіб здійснюється наступним чином.

Патологію відтворюють шляхом введення у піхву дослідних тварин тампону із 10 % розчином азотнокислого срібла та його експозицією 5 хвилин. Для оцінки стану слизової оболонки піхви після завершення експеримента тварин виводять з досліду відповідно до етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених І Національним конгресом з біоетики (Київ, 2000), що узгоджується з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей.

Визначення площі ураженої поверхні слизової оболонки піхви (мм) проводять з використанням прозорого трафарету та міліметрового паперу, що дає змогу чітко встановити розміри площі ураження будь-якої форми та враховувати навіть крапкові ураження. Для цього накладають прозорий трафарет, обводять площу ураження та переносять на міліметровий папір, проводять розрахунки. Отримані результати виражають у відсотках.

З метою проведення оцінювання інтенсивності патологічного процесу та впливу досліджуваних засобів на стан слизової оболонки піхви проводять напівкількісну оцінку основних ознак запалення в балах за трьома параметрами: набряк, гіперемія, крововиливи. Бали присвоюють в залежності від виразності ознак:

0 балів - ознака відсутня;

1 бал - ознака виражена незначно;

2 бали - ознака виражена помірно;

3 бали - ознака різко виражена. Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1.

Асептичне запалення слизової оболонки піхви, відповідно до заявленого способу, моделювали у 10 білих безпородних щурах-самцях масою 200-205 г. До експерименту відбирали тварин в одній фазі естрального циклу. Патологію відтворювали шляхом введення у піхву тампону з 10 % розчином азотнокислого срібла та його експозицією 5 хвилин. Оцінювання ураження слизової оболонки піхви, тобто виразності модельної патології, проводили на шостий день досліду за аналізом морфологічних змін: визначали загальну площу піхви, загальну площу ураження піхви та робили напівкількісну оцінку ознак запалення у балах за параметрами: набряк, гіперемія, геморагії. Результати досліджень наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Показники відтворюваності модельної патології, отриманої за заявленим способом (n=10)

№ п/п	Загальна площа піхви, мм ²	Загальна площа ураженої піхви, мм ²	Загальна площа ураженої піхви, %	Набряк слизової оболонки піхви, бали	Гіперемія слизової оболонки піхви, бали	Інтенсивність геморагії слизової оболонки піхви, бали
1.	265	231	87,17	3	3	2
2.	253	237	93,67	2	2	3
3.	249	213	85,54	3	3	2
4.	268	246	91,78	3	2	2
5.	255	232	90,98	3	3	2
6.	256	230	89,84	2	2	3
7.	272	244	89,71	3	2	2
8.	248	228	91,93	3	3	3
9.	281	239	85,05	3	3	3
10.	256	225	87,89	3	3	2
Середнє значення	260,3±3,41	232,5±3,06	89,35±0,91	2,8±0,13	2,6±0,16	2,4±0,16
				Сума балів 7,8		

Як свідчать дані, що наведені таблиці 1, середня площа ураженої ділянки слизової оболонки піхви склала 232,5 мм² тобто 89,35 % від загальної площі піхви, що склала 260,3 мм. Виразність набряку, гіперемії та чисельність геморагій в групі контрольної патології були оцінені у 2,8, 2,6 та 2,4 бали, що за сумою балів склало 7,8 за дев'ятибальною шкалою.

Таким чином, заявлений спосіб дозволяє достовірно моделювати виражену патологію у дослідних щурів-самців.

Приклад 2.

Вивчення лікувальної дії "Супозиторіїв з обліпиховою олією" на модельній патології (асептичне запалення слизової оболонки піхви), що отримана за заявленим способом, проводили наступним чином.

Досліди проводили на 10 білих безпородних щурах-самцях масою 200-205 г. До експерименту відбирали тварин у одній фазі естрального циклу. З метою відтворення патології за заявленим

способом тваринам з експозицією 5 хвилин вводили у піхву тампон з 10 % розчином азотнокислого срібла.

З наступного дня після моделювання патології тварин поділяли на дві групи та починали лікування. Тваринам першої групи (дослідна група) вводили досліджувані "Супозиторії з обліпиховою олією" в дозі 60 мг/кг, що була перерахована з терапевтичної дози для людини за Ю.Р. Риболовлевим [3]; тваринам другої групи (контрольна патологія) - вводили супозиторії, що містили лише основу (плацебо).

Оцінку ефективності досліджуваного препарату проводили на шостий день за аналізом морфологічних змін, визначаючи загальну площу піхви, загальну площу ураження піхви та роблячи напівкількісну оцінку ознак запалення у балах за параметрами: набряк, гіперемія, геморагії. Як інтегральний показник стану слизової оболонки піхви використовували суму балів за трьома зазначеними параметрами (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив досліджуваного засобу на стан слизової оболонки піхви щурів на тлі патологічного процесу на 6 добу (n=10)

№ п/п	Показник	Контрольна патологія	«Супозиторії з обліпиховою олією»
1.	Загальна площа піхви, мм	267,38±8,15	246,25±9,34
2.	Загальна площа ураженої піхви, мм ²	234,42±9,61	62,73±5,23*
3.	Загальна площа ураженої піхви, %	87,67±6,05	25,74±3,21*
4.	Набряк слизової оболонки піхви, бали	2,60±0,16	1,20±0,13*
5.	Гіперемія слизової оболонки піхви, бали	2,80±0,17	0,80±0,20*
6.	Інтенсивність геморагій слизової оболонки піхви, бали	2,20±0,10	0,30±0,12*
7.	Сума балів	7,6	2,3*

* - відхилення показника достовірно відносно контрольної патології, p<0,001.

Як свідчать дані, що наведені у таблиці 2, середня площа ураженої ділянки слизової оболонки

піхви у групі контрольної патології склала 234,42 мм², тобто 87,67 % від загальної площі піхви. Ви-

разність набряку, гіперемії та чисельність геморагій в групі контрольної патології була оцінена у 7,2 бали на відміну від 2,5 балів у дослідній групі тварин, яким вводили "Супозиторії з обліпиховою олією»

На тлі патології, що викликана азотнокислим сріблом, спостерігалось достовірне, в порівнянні з групою контрольної патології, зменшення в 3,4 рази площі ураженої ділянки піхви у щурів під впливом "Супозиторіїв з обліпиховою олією".

Про лікувальну дію досліджуваного препарату свідчить також значне пригнічення по відношенню до групи контрольної патології місцевого запального процесу, що відображається в достовірному зменшенні в 3 рази інтенсивності набряку, гіперемії та кількості крововиливів за інтегральним показником стану слизової оболонки піхви.

Таким чином, отримані експериментальні дані свідчать про виражену перевагу терапевтичну дію "Супозиторіїв з обліпиховою олією", що ефективно зменшують симптоматичні прояви патології, викликаного азотнокислим сріблом, та відновлюють процес регенерації слизової оболонки піхви в умовах патології.

Заявлений спосіб дозволяє достовірно оцінити лікувальні властивості досліджуваного засобу.

Таким чином, заявлено спосіб моделювання асептичного запалення слизової оболонки піхви. Спосіб дозволяє отримувати статистично доказову оцінку лікувальної дії біологічно-активних речовин та вагінальних лікарських форм на тлі запалення, що викликане азотнокислим сріблом. Заявлений спосіб може бути використаний при проведенні доклінічних досліджень нових лікарських засобів та біологічно активних речовин у лікуванні гінекологічних захворювань.

Джерела інформації:

1. Методы экспериментального изучения биологически активных веществ на моделях вульвовагинита: метод, рек. / С.М. Дроговоз, А.Г. Цыпкун, В.В. Решетняк и др. - К., 2003.-19 с.

2. Пат. 2007997 Российская Федерация, МПК А61К9/06, А61К3 1/505. Линимент метилурацила / Леонидов Н.Б.; Селезнев Н.Г.; заявитель и патентообладатель Леонидов Н.Б. - № 5063309/14; заявл. 08.07.92; опубл. 28.02.94.

3. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР.-1979. - Т. 247, № 6. - с. 1513-1516.