



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **77325**

(13) **U**

(51) МПК

**G09B 23/28** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2012 09019**

(22) Дата подання заявки: **23.07.2012**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **11.02.2013**

(46) Публікація відомостей **11.02.2013, Бюл.№ 3**  
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Поворознюк Владислав Володимирович  
(UA),  
Масік Надія Прокопівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ  
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І.  
ПИРОГОВА,  
вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018 (UA)**

## (54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ОСТЕОПАТІЙ У ЩУРІВ

### (57) Реферат:

Спосіб моделювання остеопатії у щурів полягає в тому, що щурам лінії Вістар через 2 тижні після проведеної оваріектомії інтратрахеально вводять завись мілкодисперсного побутового пилу, зібраного методом седиментації та просіяного через сита, із розрахунку 10 мг на 100 г маси тіла в 0,5 мл фізіологічного розчину.

**UA 77325 U**



Корисна модель належить до галузі медицини і може бути використана для одержання комбінованої моделі остеопатії на дрібних лабораторних тваринах (щурах).

Відомий спосіб моделювання остеопорозу [Пат. UA 47677. Спосіб моделювання остеопорозу. Федонюк ЯЛ., Гнатюк М.С., Мерецький В.М. Опубл. 15.07.2002. Бюл. № 7.], який включає формування в організмі піддослідної тварини стану ендокринопатії на основі штучного порушення гормонального гомеостазу шляхом попереднього видалення у самки однієї або двох статевих залоз.

При хірургічній менопаузі особливо важливим є те, що після операції знижується рівень не лише естрогену, але і інших статевих гормонів-гестагенів. Відомі біохімічні властивості прогестерону дозволяють припускати його потенційну можливість попереджати втрату кісткової тканини. Так, прогестерон здатний конкурувати з кортикостероїдами, зв'язуючись з їх рецепторами в кісткових клітинах, тоді як естроген не здатний на подібну конкуренцію. Крім того, існує думка, що прогестерон має пряму стимулюючу дію на специфічні рецептори остеобластів. Тому, ймовірно, порушення його вмісту після оваріоектомії може мати вагоме значення в розвитку остеопорозу, про що свідчать дані літератури (Теппермен Дж., 1989; Байдак М. М., 1996). Механізм захисної дії естрогену проявляється також і в зниженні чутливості кісткової тканини до резорбтивної дії метаболітів вітаміну Д, зменшення катаболічного ефекту тироксину за рахунок посилення синтезу тиреоглобуліну. (Балан В.Е. и соавт., 1996). Встановлено, що після настання менопаузи в кістковій тканині жінки продукується більше цитокінів, чим до неї, і за даними деяких авторів, попередники остеокластів більшою мірою відповідальні за посилення резорбтивних процесів в кістковій тканині, ніж сам естрогенний дефіцит. Нині виявлено вплив естрогенодефіциту на механізми втрати кісткової тканини шляхом модуляції передачі внутрішньоклітинних сигналів, опосередкованих взаємодією системи RANKL/RANK/OPG. Окрім взаємодії із специфічними рецепторами в кістковій тканині, естроген активно втручається в кальцієвий обмін (Stevenson J.C., 1997; Purdie D.W., 1997), сприяючи відкладенню кальцію в кістки і знижуючи його виділення з сечею і через кишечник. Дослідження з використанням радіоактивного кальцію (Ca 45) показали, що екзогенний естроген, фіксуючись в кістковій тканині, у більшій мірі, чим ендогенний естроген стимулює затримку кальцію а, відповідно, і остеогенез (Теппермен Дж., 1989; Moris H. A. et al., 1995).

Втрата кісткової маси внаслідок хірургічної оваріоектомії у тварин, а також втрата кісткової маси у жінок віку постменопаузи мають багато спільного: активація кісткового метаболізму з домінуванням резорбції над формуванням кістки і з фазністю розвитку цих порушень (після первинної швидкої фази втрати кісткової маси слідує повільніша фаза); а також велика втрата губчастої кістки в порівнянні з кортикальною. Така широка аналогія є істотним доказом того що моделювання у тварин оваріоектомії є суттєвим для дослідження проблеми остеопорозу постменопаузи.

Недоліком відомого способу є те, що ранні зміни кісткового метаболізму у щурів відбуваються не раніше 60 діб після оваріектомії [Фролькис В.В. Экспериментальный остеопороз / В.В. Фролькис, В.В. Поворознюк, О.А. Евтушенко // Медична газета "Здоров'я України". - №86.-2004. - С. 8.]. Це обмежує використання вказаного методу, так як він не дає можливості швидко оцінити повноту патологічного процесу, який спостерігається у людини. Kaveh K. et al. [2010] зробили висновок, що оваріоектомія впродовж 4 тижнів не призводить до остеопоротичних порушень кісткової тканини, тоді як поєднана дія кількох чинників приводить до остеопорозу.

Прототип способу комбінованого моделювання остеопатії при хронічних обструктивних захворюваннях легенів не відомий.

В основу корисної моделі "Спосіб моделювання остеопатій у щурів" поставлено задачу розробити комбіновану модель остеопатії шляхом поєднаної дії двох чинників - оваріектомії і системного запалення при хронічних обструктивних захворюваннях легенів, які індивідуально призводять до розвитку остеопоротических порушень кісткової тканини з метою відтворення моделі і наближення до клінічного перебігу хвороби у людини.

Поставлена задача вирішується відповідно до способу моделювання, який полягає в тому, що щурам лінії Вістар через 2 тижні після проведеної оваріектомії інтратрахеально вводять завись мілкодисперсного побутового пилу із розрахунку 10 мг на 100 г маси тіла в 0,5 мл фізіологічного розчину.

Спосіб здійснюється таким чином.

Щурів лінії Вістар зважують, а потім заглиблюють в ефірний наркоз до стадії поверхневої анестезії. Тварину фіксують на спеціальних підставках на спині. Після обробки операційного поля (нижній половині живота) розчином антисептика виконують подовжній пошаровий розріз передньої черевної стінки до 2,5 см довжиною. Пінцетом виділяють роги матки і яєчники.

Яєчники перев'язують шовною ниткою і відсікають. Рану ушивають пошарово. В якості контролю для порівняння змін, що розвиваються в кістках, використовують псевдооперованих тварин.

Через 2 тижні після проведеної оваріектомії після премедикації і введення тварини в ефірний наркоз, її фіксують на спеціальних підставках на спині. Операційне поле (передня поверхня шиї, область щитовидного хряща) обробляють розчином антисептика, після чого виконують подовжній розріз шкіри довжиною 1-1,5 см, надсікають м'язовий пучок над трахеєю і оголюють трахею. Готують завись побутового мілкодисперсного пилу, зібраного методом седиментації та просіяного через сито, що забезпечувало отримання переважної кількості пилових часток розміром до 10 мкм. Пил вводять із розрахунку 10 мг на 100 г маси в 0,5 мл стерильного фізіологічного розчину. Завись пилу вводять в просвіт трахеї за допомогою стерильного шприца через прокол передньої стінки трахеї між двома хрящовими півкільцями голкою діаметром 0,8 мм. М'язи і краї розрізу шкіри ушивають наглухо, тварин поміщають в клітку.

Приклад конкретного виконання (6 місяців спостереження).

45 здоровим білим щурам - самкам лінії Вістар масою  $142,17 \pm 0,54$  г віком від 9 до 12 місяців під ефірним наркозом після обробки операційного поля (нижній половині живота) розчином антисептика виконували подовжній пошаровий розріз передньої черевної стінки до 2,5 см довжиною. Пінцетом виділяли роги матки і яєчники. Яєчники перев'язували шовною ниткою і відсікали. Рану ушивали пошарово. Через 2 тижні після проведеної оваріектомії 25 самкам під ефірним наркозом хірургічним шляхом оголювали трахею і проколом між двома хрящовими півкільцями голкою діаметром 0,8 мм вводили в її просвіт завись пилу з розрахунку 10 мг на 100 г маси в 0,5 мл стерильного фізіологічного розчину.

Всі експериментальні дослідження здійснювали відповідно до Методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України [Доклінічні дослідження лікарських засобів: [методичні рекомендації] / О.В. Стефанов. - К.: Авіцена, 2002. - 527 с.], вимог Європейської конвенції із захисту лабораторних тварин (Страсбург, 1986), "Положення про використання тварин в біомедичних дослідженнях" [Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія.-2003. - № 2 (22). - С. 108-109.].

Протягом усього експерименту з інтервалом в 3 місяці (на початку, через 3 і 6 місяців від початку експерименту) проводили рентгенденситометричне дослідження, яке виконано за допомогою двохенергетичної рентгенівської абсорбціометри (Dual Energy X-ray Absorptiometry, DEXA) на апараті "Prodigy" (GE Medical systems, Lunar, model 8743, 2005, США) з визначенням мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) всього тіла (BMD Total), хребта (BMD Spine), тулуба (BMD Trunk), кісток тазу (BMD Pelvis), кінцівок (BMD Legs) та жирової й знежиреної маси [Nagy T.R. Validation of peripheral DXA for the measurement of bone mineral in intact and excised long bones of rats / T.R. Nagy, C.W. Prince, J. Li // J. Bone Mineral Res. - 2001. - Vol.16. - P. 1682-1687.].

У групі щурів з проведеною оваріектомією (OV) через 3 місяці після OV спостерігалось збільшення МЩКТ, зокрема BMD Total на 0,97 % вище, ніж до операції (таблиця). Це свідчить про те, що впродовж першого року життя щура триває його ріст і досягнення піку кісткової маси. Через 6 місяців після операції BMD Total зменшилася на 11,77 % у порівнянні з вихідними показниками. Найбільші зміни спостерігалися у кістках тазу, так BMD Pelvis зменшилася на 11,38 %. Найменші зміни - в області хребта: BMD Spine збільшилася на 10,42 %. Таким чином, за нашими результатами моделювання мінеральна щільність кісткової тканини знизилася в порівнянні з показниками до операції, що свідчить про сформовану модель остеопору постменопаузи через 6 місяців після виконаної оваріектомії.

У групі тварин, яким моделювалось системне запалення при хронічних обструктивних захворюваннях легень на тлі оваріектомії (OV+COLD), вже через 3 місяці після операції OV+COLD у щурів загальна МЩКТ (BMD Total) на 12,31 % нижче, ніж до операції, BMD Legs - на 7,21 %. Проте відмічались протилежні зміни МЩКТ. Так, BMD Pelvis на 18,66 % більше вихідних значень, а BMD Spine - на 2,33 %. Через 6 місяців після операції загальна BMD Total зменшилася на 17,69 % у порівнянні з вихідними показниками. Найбільші зміни спостерігалися у кістках кінцівок і тулуба. Так, BMD Legs зменшилася на 18,92 %, BMD Trunk зменшилася на 3,54 %. Найменші зміни були в області хребта - BMD Spine збільшилася на 1,18 %, а BMD Pelvis-16,79 % (таблиця).

Отже, моделювання системного запалення при хронічних обструктивних захворюваннях легень на тлі оваріектомії супроводжується зниженням мінеральної щільності кісткової тканини вже через 3 місяці від початку експерименту. Ці показники поглиблюються з часом і через 6 місяців початку експерименту підтверджують формування остеопору.

**Зміни мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ, BMD)  
при формуванні експериментального остеопорозу**

Групи тварин		BMD Total (г/см <sup>2</sup> )	BMD Spine (г/см <sup>2</sup> )	BMD Trunk (г/см <sup>2</sup> )	BMD Pelvis (г/см <sup>2</sup> )	BMD Legs (г/см <sup>2</sup> )
OV n=20	До	0,102±0,006	0,097±0,007	0,13±0,01	0,123±0,01	0,083±0,004
	через 3 міс.	0,103±0,005	0,101±0,008	0,129±0,009	0,115±0,009	0,083±0,004
	через 6 міс.	0,09±0,008	0,106±0,010	0,144±0,011	0,109±0,006	0,084±0,005
OV COLD n=25	До	0,130±0,02	0,113±0,01	0,168±0,01	0,109±0,009	0,111±0,02
	через 3 міс.	0,11±0,009	0,116±0,008	0,172±0,01	0,134±0,01	0,103±0,02
	через 6 міс.	0,107±0,01	0,109±0,009	0,170±0,01	0,131±0,01	0,09±0,006

Таким чином, остеопоротичні порушення в кістках тварин в умовах експериментального моделювання розвиваються в коротші терміни при поєднанні декількох негативних чинників: системного запалення при хронічних обструктивних захворюваннях легенів і естрогенного дефіциту.

Результати отримані на 55 тваринах: з них основну групу склали 25 щурів, на яких створювали модель системного запалення при ХОЗЛ на тлі оварієктомії; 20 тварин були включені до контрольної групи, яким була виконана тільки оварієктомія.

Заявлений спосіб дозволяє через 3 місяці від початку моделювання отримати комбіновану модель остеопатії при хронічних обструктивних захворюваннях легенів з чітко вираженими ознаками остеопорозу, про що свідчать зниження мінеральної щільності кісткової тканини, зокрема BMD Total на 12,31 % нижче вихідних значень.

Підвищення точності моделювання досягається за рахунок використання стандартизованих ліній тварин (маса, вік, стать та інш.), можливості збільшення тварин у дослідженні та динамічного спостереження за процесом моделювання.

Таким чином, отримані результати дають підставу стверджувати, що запропонований спосіб забезпечує достатньо високе відтворення процесу, патогенетично наближеного до клінічного варіанта захворювання і дає можливість вивчення особливостей функціонування усіх органів цілісного організму при даній патології.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб моделювання остеопатії у щурів полягає в тому, що щурам лінії Вістар через 2 тижні після проведеної оварієктомії інтратрахеально вводять завись мілкодисперсного побутового пилу, зібраного методом седиментації та просіяного через сита, із розрахунку 10 мг на 100 г маси тіла в 0,5 мл фізіологічного розчину.

---

Комп'ютерна верстка В. Мацело

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601