



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **79901** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
G09B 23/00
A61D 99/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 10729	(72) Винахідник(и): Бойко Дмитро Миколайович (UA), Бойко Микола Григорович (UA), Бойко Оксана Сергіївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 13.09.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 13.05.2013	(73) Власник(и): Бойко Дмитро Миколайович, пров. Дніпропетровський, 9, м. Полтава, 36016 (UA), Бойко Микола Григорович, пров. Дніпропетровський, 9, м. Полтава, 36016 (UA), Бойко Оксана Сергіївна, вул. Пушкіна, 62, кв. 1, м. Полтава, 36039 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 13.05.2013, Бюл.№ 9	

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ФІБРОЗУ ЛЕГЕНЬ У ЩУРІВ

(57) Реферат:

Спосіб моделювання фіброзу легень у щурів включає одноразову інстиляцію в легені щура 0,3 мл розчину гідрохлориду блеоміцину з розрахунку 1,0 мг/100 г маси тіла, в якому, згідно з корисною моделлю, розчин гідрохлориду блеоміцину вводиться трансторакально.

UA 79901 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до пульмонології, і може бути застосована для експериментального відтворення фіброзу легень (ФЛ) з метою перевірки гіпотез, ефективності лікарських засобів, визначення механізмів розвитку запалення та процесів фібротизації у легеневої тканині.

Відомий спосіб моделювання фіброзу легень базується на інтратрахеальній інстиляції гідрохлориду блеоміцину [Anti-inflammatory and anti-fibrotic effects of sirolimus on bleomycin-induced pulmonary fibrosis / B. Tulek, E. Kiyani, H. Toy [et al.] // Clin. Invest. Med.-2011. - Vol. 34 (6). - P. 341.]. Недоліком цього методу є складність підготовки лабораторних тварин для інстиляції блеоміцину.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб моделювання фіброзу легень шляхом проколу стінки трахеї за допомогою шприца з інстиляцією в легені гідрохлориду блеоміцину [Mouratis M.A. Modeling pulmonary fibrosis with bleomycin / M.A.Mouratis, V. Aidinis // Curr. Opin. Pulm. Med.-2011. - Vol. 17 (5). - P. 355-361.]. Цей спосіб вибраний нами в якості прототипу.

Однак, суттєвим недоліком цього методу є складність транс-трахеального введення гідрохлориду блеоміцину у зв'язку з необхідністю хірургічного втручання для доступу до трахеї, що підвищує ризик летальності лабораторних тварин та вимагає додаткових ресурсів на ініціацію патології.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб моделювання фіброзу легень у щурів, що вимагає менших ресурсних затрат та має високий ступінь відтворюваності запланованого патологічного процесу.

Поставлена задача вирішується застосуванням в способі 0,3 мл розчину гідрохлориду блеоміцину з розрахунку 1,0 мг/100 г маси тіла шляхом одноразової інстиляції в легені щура, який згідно корисної моделі, відрізняється тим, що розчин гідрохлориду блеоміцину вводиться трансторакально.

Запропонований спосіб здійснюється наступним чином: загальна тривалість експерименту склала - 8 тижнів. Щурам одноразово трансторакально інстальювали в легені 0,3 мл розчину гідрохлориду блеоміцину з розрахунку 1,0 мг/100 г маси тіла.

Ефективність моделювання фіброзу легень у щурів була доведена у клінічному дослідженні.

У дослідження включено 72 статевозрілих щури лінії Вістар масою 257,5 (229,2; 280,1) грамів та віком 7,2 (6,7; 7,4) місяці. З 48 щурів сформували чотири дослідницькі групи по 12 особин в кожній. Одна група щурів, у яких моделювали фіброз легень (ФЛ), знаходилась без лікування. Інші дослідницькі групи тварин з експериментальною патологією розподілені з урахуванням отриманого лікування - дексаметазон, глюкозаміну сульфат чи комбінація імунофану та гіалуронідази. Контрольну групу склали 24 щури, яких розділили на 4 групи. У частини щурів контрольної групи не застосовували ніяких лікарських засобів. Ряд тварин без експериментальної патології, в залежності від групи, отримували один із перелічених варіантів лікування: дексаметазон, глюкозаміну сульфат, комбінацію імунофану та гіалуронідази. Режим введення та додавання препаратів: дексаметазон (KRKA, Словенія) по 0,08 мг/кг, в/м, через 2 дні; глюкозаміну сульфат (Дона (Rottapharm Ltd." та "Sigmar S.r.l." для "Rottapharm S.r.l.", Ірландія/Італія)) по 5,33 мг/кг, в/м, через 2 дні; комбінація імунофану (Біонокс (Росія Москва)) по 0,67 мг/кг, в/м та гіалуронідази (Лідаза-Біофарма, ЗАТ (Україна, Київ)) по 0,85 Од/кг в/м, через 2 дні. Всі вищевказані лікарські препарати на момент їх використання у дослідженні мали державну реєстрацію та повний пакет дозвільних документів відповідно до чинного законодавства України. Тривалість лікування склала від 4 до 8 тижнів в окремих групах. Щурам проведено комплексне клініко-лабораторне, морфологічне, макроскопічне обстеження. Вилучені від експериментальних тварин тканини підлягали підготовці до світлової мікроскопії за загально прийнятою методикою [Морфологічні зміни серця старих щурів при тривалому введенні активаторів КАТФ-каналів (діазоксиду та його аналогів) К. В. Тарасова, В. Г. Шевчук, О. В. Григорук [та ін.] // Пробл. старения и долголетия.-2011. - Том. 20. - № 4. - С. 381-392.]. Препарати фарбували за допомогою гематоксиліну та еозину. Аналіз макро- та мікроскопічних змін легень щурів проводили на 4-му та 8-му тижнях експерименту.

Досліджуючи стан легеневої тканини у щурів з експериментальною патологією, були враховані найбільш характерні для фіброзуючого альвеоліту макро- та мікроскопічні зміни: гіперінфляція (див. фіг. 2), емфізематозні були (див. фіг. 3), емфізема (див. фіг. 5), запальні зміни в інтерстиції легень (див. фіг. 6), запальні зміни у бронхах (див. фіг. 7), порівняно з макро- (див. фіг. 1) та мікроскопічними (див. фіг. 4) ознаками інтактних щурів контрольної групи.

У щурів з експериментальною моделлю ФЛ закономірно превалювали ураження тканини альвеолярної стінки легень.

Для якісного порівняння, перш за все, досліджено стан легень щурів з груп контролю (див. фіг. 8).

У тварин контрольної групи аномального рівня макро- та мікроскопічних змін не спостерігалось (див. фіг. 8). Групи між собою статистичних відмінностей не мали. Отже, отримані результати дають можливість говорити про високий профіль безпечності використаних лікарських препаратів відносно до легеневої тканини та дозволяють використовувати ці дані як "еталон норми" при порівнянні з тваринами, у яких штучно викликали ФЛ.

Досліджено динаміку морфологічних змін у легенях тварин з ФЛ порівняно з інтактними щурами (див. фіг. 9).

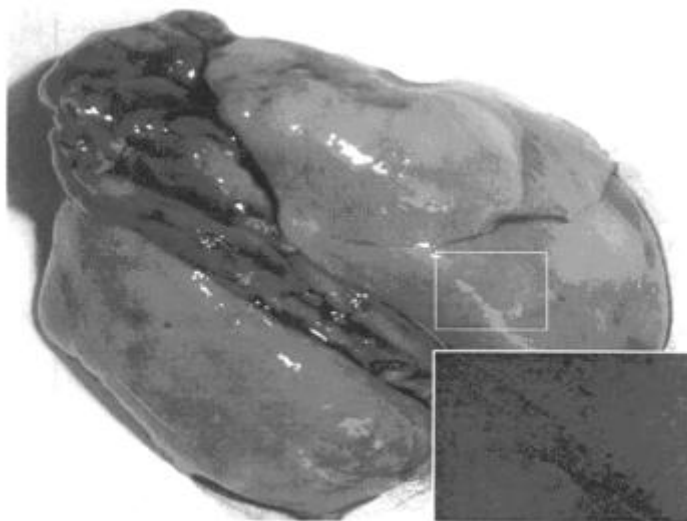
Майже у 91 % (11/12) щурів з експериментальною моделлю ФЛ були виявлені характерні запальні зміни інтерстиції легень та ознаки фібропластичної трансформації легеневої тканини.

Порівняльний аналіз характерних морфологічних ознак ФЛ між інтактними щурами та тваринами експериментальної групи через 8 тижнів експерименту виявив значимі відмінності (довірчий інтервал 95 % для відношення шансів 24,00 (2,05; 646,24) та відносного ризику 4,29 (1,97; 9,32); точний критерій Фішера, $p=0,0023$). Значимих відмінностей за морфологічними змінами у легеневій тканині між групами щурів з моделлю ФЛ на 4-му та 8-му тижнях експерименту знайдено не було ($p=0,83$). Такі результати говорять про високі показники відтворюваності даної експериментальної моделі фіброзу легень у щурів.

Таким чином, запропонований спосіб дозволяє з високим ступенем вірогідності експериментально відтворити фіброз легень у щурів.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб моделювання фіброзу легень у щурів, що включає одноразову інстиляцію в легені щура 0,3 мл розчину гідрохлориду блеоміцину з розрахунку 1,0 мг/100 г маси тіла, який **відрізняється** тим, що розчин гідрохлориду блеоміцину вводиться трансторакально.



Фіг. 1

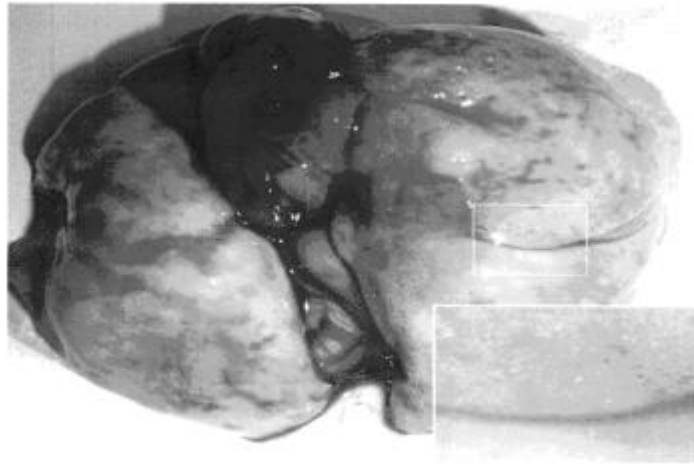


Fig. 2

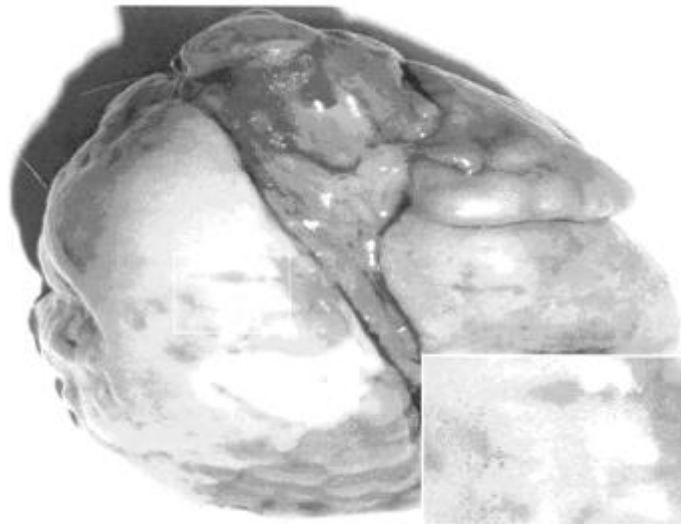


Fig. 3

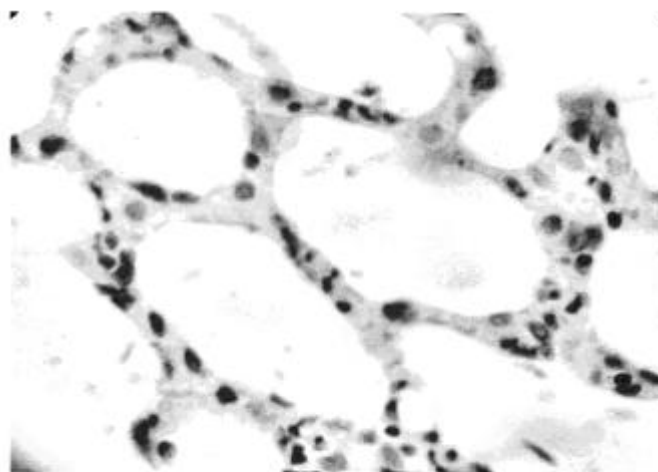


Fig. 4

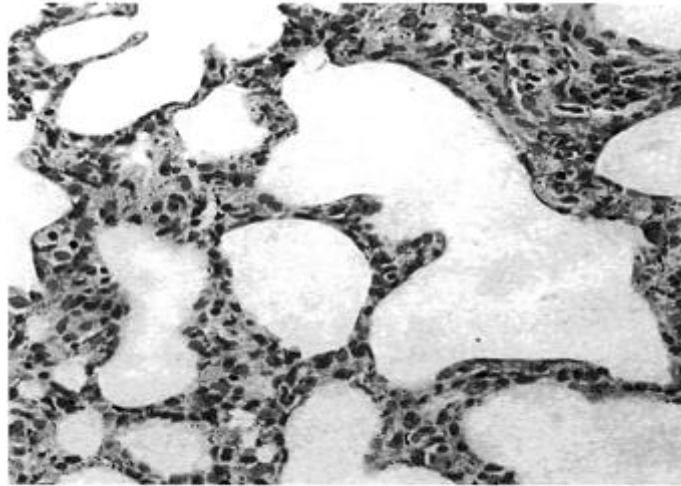


Fig. 5

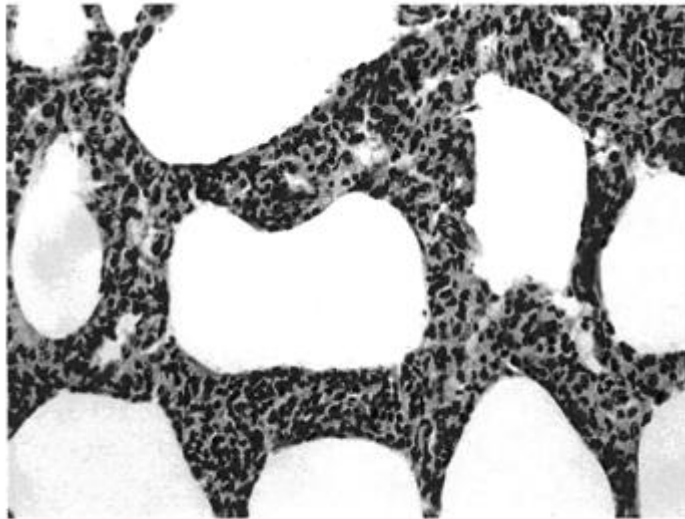


Fig. 6

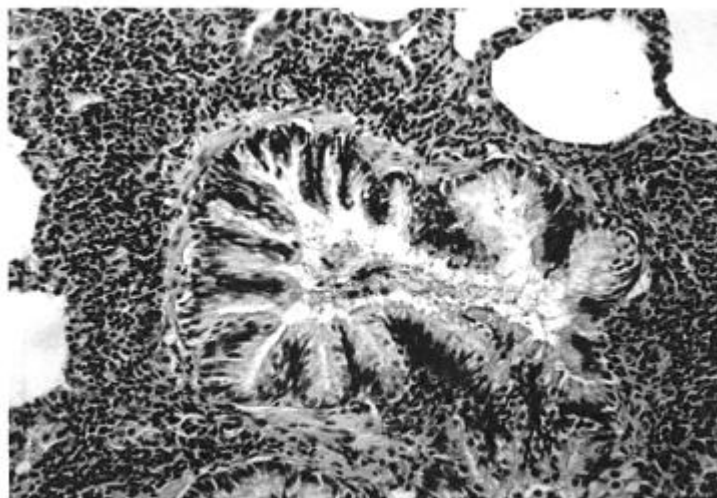
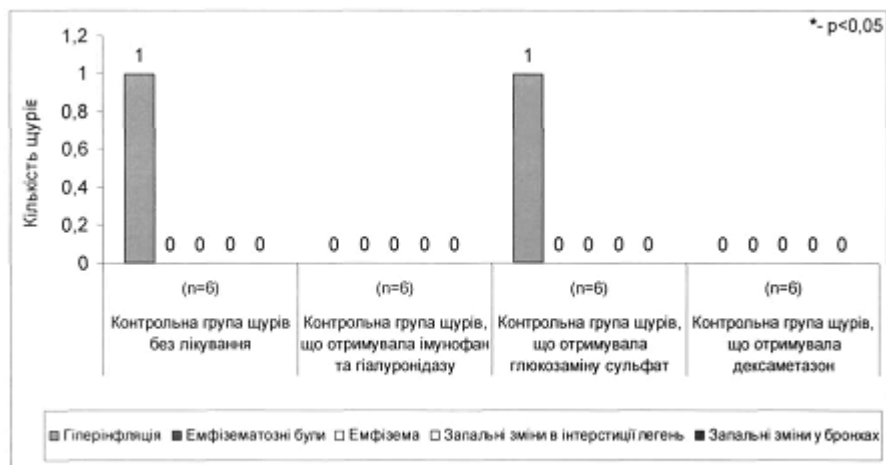
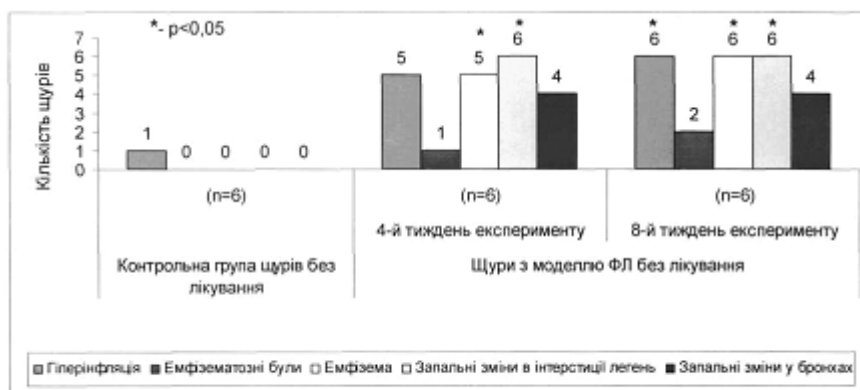


Fig. 7



Фіг. 8



Фіг. 9