



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **99377**

(13) **C2**

(51) МПК

A61B 5/0205 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2010 15677	(72) Винахідник(и):	Кірсанова Марина Петрівна (UA), Товт-Коршинська Мар'яна Іванівна (UA)
(22) Дата подання заявки:	24.12.2010	(73) Власник(и):	ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ", вул. Підгірна, 46, м. Ужгород, 88000 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.08.2012	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	RU 2199746 C2, 27.02.2003 RU 2332665C1, 27.08.2008 Yu Bei. Acute Tobacco Smoke-Induced Airways Inflammation in Spontaneously Hypertensive Rats / Yu Bei, Kodavanti Urmila, Takeuchi Minoru at al. // Inhalation Toxicology. - 2008. - Vol. 20. - P. 623-633. PMID:18464051
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.11.2011, Бюл.№ 22		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.08.2012, Бюл.№ 15		

(54) СПОСІБ ВИЯВЛЕННЯ ОБСТРУКТИВНИХ ЗМІН В ОРГАНАХ ДИХАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ІЗ СПОНТАННОЮ АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

(57) Реферат:

Винахід належить до експериментальної медицини та стосується способу виявлення обструктивних змін в органах дихання експериментальних тварин із спонтанною артеріальною гіпертензією. Відповідно до винаходу щурі лінії SHR зі спонтанною артеріальною гіпертензією використовують в експериментальних дослідженнях для вивчення патогенетичних та морфофункціональних змін в органах і системах, що виникають при поєднанні есенціальної гіпертензії та хронічного обструктивного захворювання легень.

UA 99377 C2

Винахід належить до експериментальної медицини і може бути використаний для дослідження патофізіологічних механізмів дихальної дисфункції при есенціальній гіпертензії, а також для вивчення структурних та функціональних змін у різних органах і системах при поєднанні артеріальної гіпертензії та хронічного обструктивного захворювання легень.

Дослідження вітчизняних вчених показали, що при розвитку артеріальної гіпертензії виникає порушення функції зовнішнього дихання, зміни бронхіальної прохідності, деякими дослідниками було виявлено навіть формування кисневої недостатності при АГ і необхідність застосування оксигенотерапії [1, 2, 3, 4]. Однак, існує мала кількість літературних даних, в яких описані морфофункціональні зміни в легенях за умов есенціальної гіпертензії [5]. Але ніде не вказано конкретних способів виявлення обструктивних змін в органах дихання, що супроводжуються спонтанною артеріальною гіпертензією.

В основу винаходу поставлено задачу розробити оригінальний і доступний спосіб виявлення обструктивних змін в органах дихання експериментальних тварин із спонтанною артеріальною гіпертензією на основі вивчення морфологічних особливостей в легенях при есенціальній гіпертензії.

Поставлена задача досягається таким чином, що спосіб виявлення обструктивних змін в органах дихання експериментальних тварин із спонтанною артеріальною гіпертензією, який включає дослідження морфофункціональних змін в органах дихання при есенціальній гіпертензії, який, згідно винаходу, відрізняється тим, що здійснюють морфологічне порівняльне дослідження структурних змін в легенях тварин на ранніх етапах появи артеріальної гіпертензії, при цьому тварин розміщують окремо в спеціалізованих клітках і утримують на стандартному харчовому раціоні в умовах вільного доступу до їжі і води і акліматизують до кімнатних умов для проведення дослідження, після чого, після забою тварин, легені видаляють повністю, а одну долю легенів беруть для гістологічного дослідження, причому при проведенні мікроскопічного дослідження фрагменти досліджуваних органів фіксують в 10 % розчині нейтрального формаліну, промивають проточною водою, дегідратують у спиртах зростаючої концентрації та занурюють у парафін, після чого на санному мікротомі виготовляють зрізи товщиною 5-7 мкм і забарвлюють їх гематоксиліном та еозином по ван Гізону, а зображення на монітор комп'ютера виводять з мікроскопу Zeiss Canon за допомогою відеокамери Axio Vision Camera і програми Inter Video WinDVR.

Спосіб відрізняється тим, що важкість ураження легень оцінюють за шкалою від 0 до 3 балів за такими ознаками: 1) обструкція дихальних шляхів (ДШ) (0 - нема; 1-часткова або повна обструкція 2 ДШ; 3 - часткова або повна обструкція 3 і більше ДШ); 2) кількість залозистих клітин, їх процентне співвідношення (0 - нема; 1 - до 5 %; 2-5-20 %; 3 - більше 20 %); 3) розширення альвеол, руйнування альвеолярних перегородок (0 - нема; 1 - плямиста паренхіма; 2 - змінено до 50 % паренхіми легень; 3 - змінено більше 50 % паренхіми); 4) лімфоїдна гіперплазія: периваскулярна, перебронхіальна або лімфоїдні вогнища у паренхімі легень (0 - нема; 1-1 вогнище у частці легені; 2-2 вогнища у частці легені; 3-3 і більше вогнищ у частці легені).

Запропонований спосіб передбачає дослідження структурних та пов'язаних з ними метаболічних змін органів дихальної системи, враховуючи клінічні та лабораторні дані, є необхідним кроком у визначенні природи легеневої дисфункції при есенціальній гіпертензії та розробки методів корекції даних порушень. Крім того, спосіб відрізняється доступністю, оригінальністю виконання, точністю даних дослідження обструктивних змін в органах дихання експериментальних тварин із спонтанною артеріальною гіпертензією.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Приклад.

Дослідження проводилося на гіпертензивних щурах лінії SHR та нормотензивних щурах лінії Вістар (WKY-normotensive Wistar-Kyoto rats). Досліджувані лінії тварин не відрізнялися між собою за статевим і віковим складом. В експерименті було використано 25 щурів віком 3 місяці та вагою 230-300 г. Тварини розміщувалися окремо в спеціалізованих клітках і утримувалися на стандартному харчовому раціоні в умовах вільного доступу до їжі і води, їх акліматизували до умов кімнати для проведення випробувань. Після забиття тварин легені видалялися повністю. Одна доля легенів бралася для гістологічного дослідження.

При проведенні мікроскопічного дослідження фрагменти досліджуваних органів фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, промивали проточною водою, дегідратували у спиртах зростаючої концентрації та занурювали у парафін. На санному мікротомі виготовлялися зрізи товщиною 5-7 мкм і забарвлювали гематоксиліном та еозином, по ван Гізону. На монітор комп'ютера зображення виводили з мікроскопу Zeiss Canon за допомогою відеокамери Axio Vision Camera і програми Inter Video WinDVR.

Важкість ураження легень ми оцінювали за шкалою від 0 до 3 балів за такими ознаками: 1) обструкція дихальних шляхів (ДШ) (0 - нема; 1- часткова або повна обструкція 2 ДШ; 3 - часткова або повна обструкція 3 і більше ДШ); 2) кількість залозистих клітин, їх процентне співвідношення (0 - нема; 1 - до 5 %; 2-5-20 %; 3 - більше 20 %); 3) розширення альвеол, руйнування альвеолярних перегородок (0 - нема; 1 - плямиста паренхіма; 2 - змінено до 50 % паренхіми легень; 3 - змінено більше 50 % паренхіми); 4) лімфоїдна гіперплазія: периваскулярна, перибронхіальна або лімфоїдні вогнища у паренхімі легень (0 - нема; 1-1 вогнище у частці легені; 2-2 вогнища у частці легені; 3-3 і більше вогнищ у частці легені).

У піддослідних тварин зі спонтанною артеріальною гіпертензією мікроскопічно було виявлено звуження просвіту бронхів (див. рис. 1), збільшення продукції слизу та порушення дренажної функції бронхіального дерева (рис. 2). У стінках бронхів була збільшена кількість сполучної тканини, що сприяла стійкому прогресуючому стенозу мілких бронхів і приводила до розширення респіраторних бронхіол, альвеолярних ходів і мішечків та супроводжувалася зменшенням площі альвеолярної поверхні легень. В результаті пошкоджувався еластичний каркас міжальвеолярних перегородок і виникала емфізема легень (фіг. 5, 6).

Навколо бронхів та судинних стінок були локалізовані лімфоїдні інфільтрати різних розмірів (фіг. 3, 4). Поява лімфоїдних вогнищ, які виявлялися при гістологічному дослідженні у кожному зрізі, можна пояснити імунологічними змінами, характерними для даної лінії тварин (імуносупресія) [5], застоєм слизу у бронхах та змінами коагуляційних властивостей крові. Паралельно з цими змінами був виявлений і склероз стінок судин (рис. 5).

Таким чином, у щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією реєструються зміни структурних компонентів паренхіми легень, які є характерними для хронічного обструктивного захворювання легень [6, 7]

Висновок: щурі лінії SHR зі спонтанною артеріальною гіпертензією можуть використовуватися в експериментальних дослідженнях для вивчення патогенетичних та морфофункціональних змін в органах і системах, що виникають при поєднанні есенціальної гіпертензії та хронічного обструктивного захворювання легень.

Винахід може бути використаний у науково-дослідних лабораторіях при проведенні експериментів на піддослідних щурах лінії SHR.

Джерела інформації:

1. Заноздра Н.С. Особенности адаптации кислороднотранспортной системы к физическим нагрузкам у больных пограничной артериальной гипертензией / Н.С. Заноздра, Л. Н. Малышко // Врачеб. дело.-1983. - № 1. - С. 33-37.

2. Катюхин В.Н. Состояние функции внешнего дыхания у больных гипертонической болезнью / В.Н. Катюхин // Врачеб. дело.-1988. - № 6. - С. 32-35.

3. Туев А.В. Функция внешнего дыхания оксигенации крови и содержание биогенных аминов при различных гемодинамических вариантах гипертонической болезни / А.В. Туев, В.В. Щекотов // Кардиология.-1986. - № 8. - С. 77-81.

4. Бобров В.О. Системна артеріальна гіпертензія при хронічних обструктивних захворюваннях легень / В.О. Бобров. - К, : Здоров'я, 1994.-208 с.

5. Yu Bei. Acute Tobacco Smoke-Induced Airways Inflammation in Spontaneously Hypertensive Rats / Yu Bei, Kodavanti Urmila, Takeuchi Minoru et al. // Inhalation Toxicology.-2008. - Vol. 20. - P. 623-633. - прототип

6. Hogg J.C. Lung structure and function in COPD / J.C. Hogg // The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.-2008. - Vol. 12(5). - P. 467-479.

7. Черняев А.Л. Патоморфология. Хронический бронхит / А. Л. Черняев. // Русский медицинский журнал.-1997. - Т. 5. - № 17.-110.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб виявлення обструктивних змін в органах дихання експериментальних тварин із спонтанною артеріальною гіпертензією, який включає дослідження морфофункціональних змін в органах дихання при есенціальній гіпертензії, який **відрізняється** тим, що здійснюють морфологічне порівняльне дослідження структурних змін в легенях тварин на ранніх етапах появи артеріальної гіпертензії, при цьому тварин розміщують окремо в спеціалізованих клітках і утримують на стандартному харчовому раціоні в умовах вільного доступу до їжі і води і акліматизують до кімнатних умов для проведення дослідження, після чого, після забою тварин, легені видаляють повністю, а одну долю легенів беруть для гістологічного дослідження, причому при проведенні мікроскопічного дослідження фрагменти досліджуваних органів фіксують в 10 % розчині нейтрального формаліну, промивають проточною водою, дегідратують

у спиртах зростаючої концентрації та занурюють у парафін, після чого на санному мікротомі виготовляють зрізи товщиною 5-7 мкм і забарвлюють їх гематоксиліном та еозином по ван Гізону, а зображення на монітор комп'ютера виводять з мікроскопу Zeiss Canon за допомогою відеокамери Axio Vision Camera і програми Inter Video WinDVR.

- 5 2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що важкість ураження легень оцінюють за шкалою від 0 до 3 балів за такими ознаками: 1) обструкція дихальних шляхів (ДШ) (0 - нема; 1 - часткова або повна обструкція 2 ДШ; 3 - часткова або повна обструкція 3 і більше ДШ); 2) кількість залозистих клітин, їх процентне співвідношення (0 - нема; 1 – до 5%; 2 - 5-20%; 3 - більше 20%);
- 10 3) розширення альвеол, руйнування альвеолярних перегородок (0 - нема; 1 - плямиста паренхіма; 2 - змінено до 50% паренхіми легень; 3 - змінено більше 50 % паренхіми); 4) лімфоїдна гіперплазія: периваскулярна, перибронхіальна або лімфоїдні вогнища у паренхімі легень (0 - нема; 1 - 1 вогнище у частці легені; 2 - 2 вогнища у частці легені; 3 - 3 і більше вогнищ у частці легені).

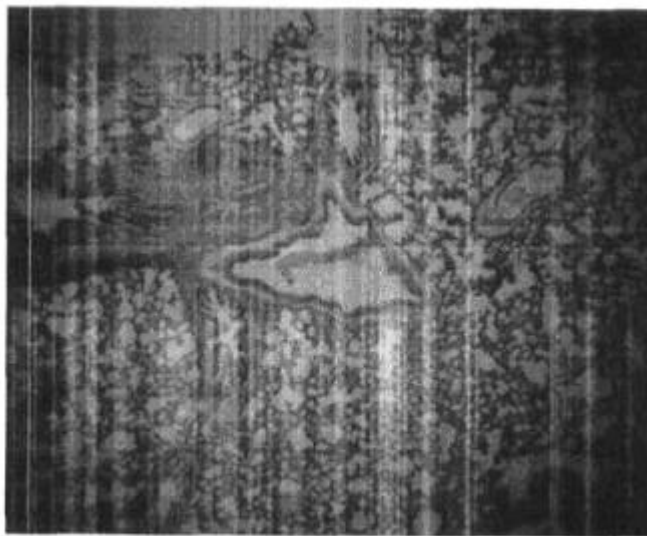


Fig. 1

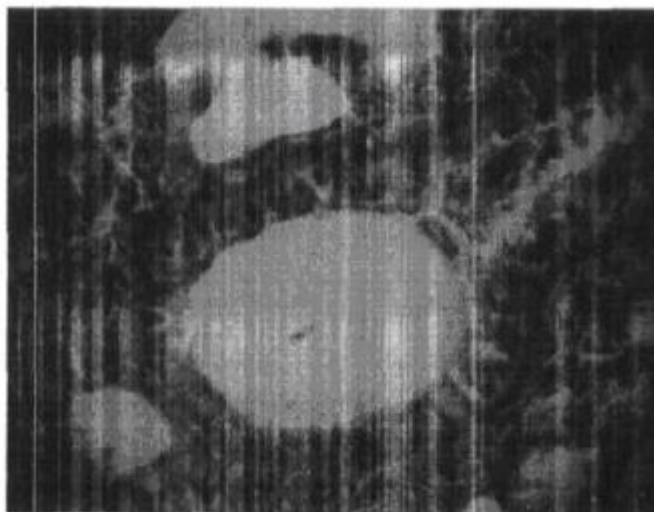


Fig. 2



Fig. 3

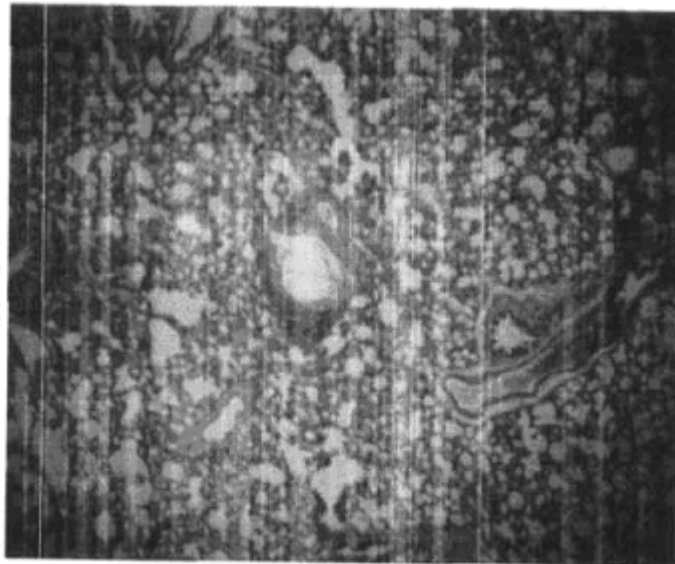


Fig. 4

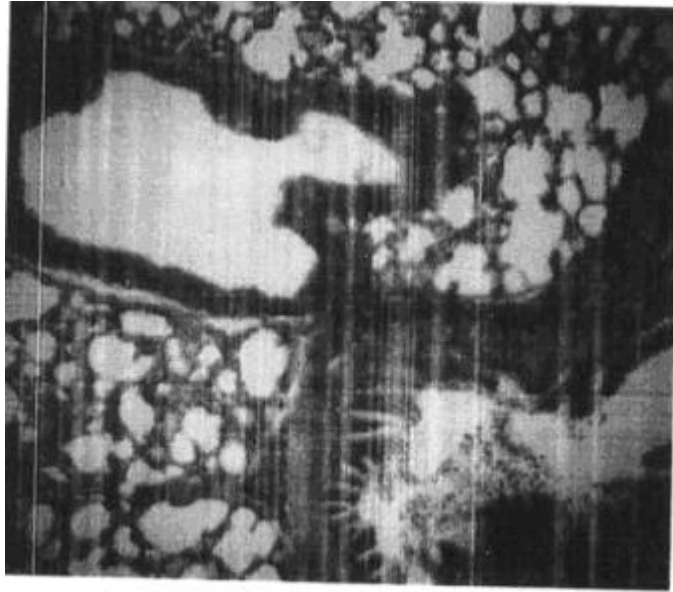


Fig. 5

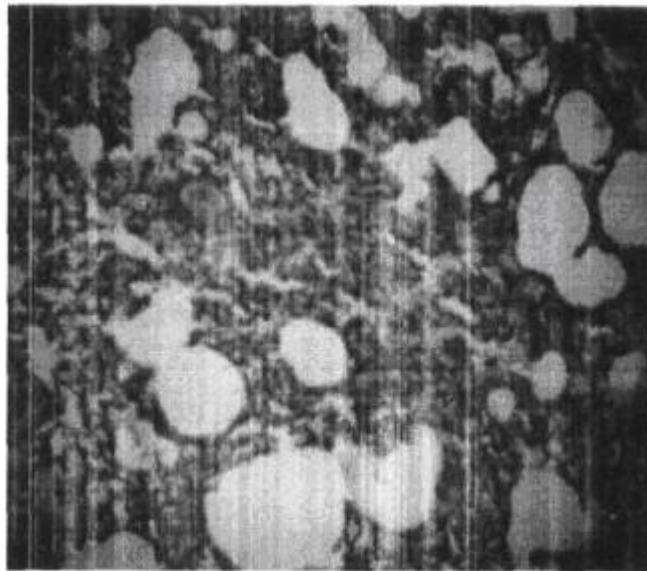


Fig. 6

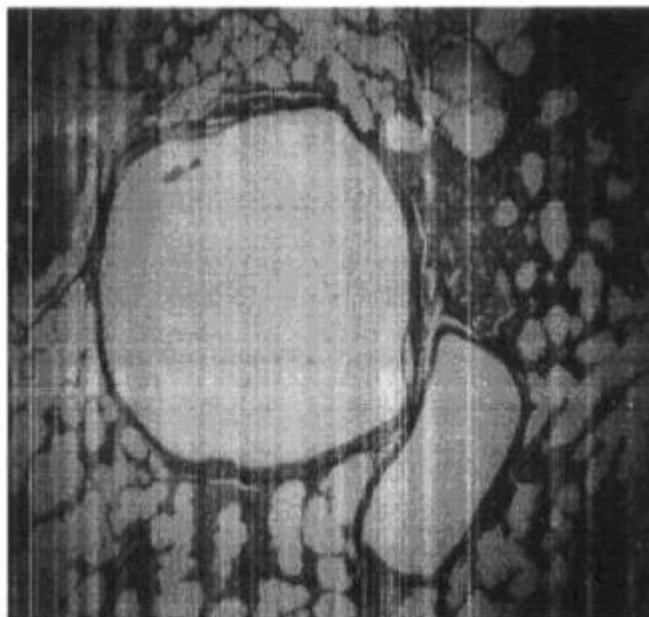


Fig. 7

Комп'ютерна верстка Л. Купенко

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