



УКРАЇНА

(19) UA (11) 47494 (13) U  
(51) МПК  
G09B 23/28 (2009.01)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ДЕГЕНЕРАТИВНИХ ЗМІН СІТКІВКИ ТА ЗОРОВОГО НЕРВА

1

2

(21) u200907750

(22) 23.07.2009

(24) 10.02.2010

(46) 10.02.2010, Бюл.№ 3, 2010 р.

(72) ХАРКОВЕНКО РУСЛАНА ВОЛОДИМИРІВНА,  
ПУШКАР МИХАЙЛО СТЕПАНОВИЧ, ПЕНТЮК  
ОЛЕКСАНДР ОЛЕКСІЙОВИЧ(73) ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І.ПИРОГОВА

(57) Спосіб моделювання дегенеративних змін сітківки та зорового нерва, що передбачає введення метіоніну, який відрізняється тим, що його вводять одноразово в шлунок щура за допомогою інтрагастрального зонда у вигляді 5 % розчину з розрахунку 50 мг/кг маси тіла тварини.

Корисна модель, що пропонується відноситься до області фундаментальної медицини, а саме до експериментальної офтальмології, і може бути використана для дослідження нейродегенеративних процесів, що відбуваються в сітківці та зоровому нерві за умов гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ), а також для дослідження нейропротекторних та гіпогомоцистеїнемічних властивостей лікарських засобів. Відомий спосіб моделювання експериментальної ретинопатії, при якому тварин годують дієтою, в якій відсутні вітаміни В6, В9, В12 і міститься метіонін. За цих умов у піддослідних тварин через 14 днів спостерігалось зростання рівня гомотеїну (ГЦ) в крові в середньому в 10 разів у порівнянні із контрольною групою. При вивченні гістологічних препаратів у експериментальних тварин спостерігалися такі зміни: дифузне враження судинного тракту і сітчастої оболонки ока, явища плазморагії, стаз і агрегація еритроцитів в капілярному руслі, набряк сітківки та ендотеліальних клітин, їх дистрофія та десквамація. Основною відзнакою даного способу є дифузне враження судинного тракту ока. [ Пат. 53403 А Україна, 1 АВ 1F9/00, G09B23/28. Спосіб моделювання ретинопатії / Й.Р. Салдан, О.С. Асачева, К.П. Поставітенко, М.Б. Луцьок, О.О. Пентюк, В.В. Біктемиров (Україна); Вінницький державний медичний університет ім. М.І. Пирогова. - №2002054043; Заявл. 17.05.2002; Опубл. 15.01.2003 - 2с.]

Такий спосіб моделювання ретинопатії має свої недоліки, тому що потребує тривалого застосування напівсинтетичної гіповітамінознометіонінової дієти, що потребує значних затрат часу та коштів, а десятикратне зростання рівня ГЦ in vivo зустрічається рідко.

В основу корисної моделі "Спосіб моделювання дегенеративних змін сітківки та зорового нерва" поставлено завдання створити шляхом внутрішньошлункового введення метіоніну п'ятикратне зростання рівня ГЦ в плазмі крові щурів, що призведе до ураження сітківки та зорового нерва, за умов більш наближених до природних. Це дасть можливість використовувати дану модель для дослідження структури сітківки та зорового нерва, стану нейронів, нейроглії та судин, що забезпечують їх трофіку, з використанням гістологічних, біохімічних та інших методів, а також вивчати профілактичну та лікувальну дію нейропротекторних та гіпогомоцистеїнемічних лікарських засобів.

Поставлене завдання досягається способом, що передбачає введення метіоніну, який відрізняється тим, що його вводять одноразово в шлунок щура за допомогою інтрагастрального зонду у вигляді 5% розчину з розрахунку 50мг/кг маси тіла тварини.

Запропонований "Спосіб моделювання дегенеративних змін сітківки та зорового нерва" у експериментальних тварин здійснюють наступним чином:

Вранці натще, тваринам експериментальної групи за допомогою зонда внутрішньошлунково вводять 5% розчин метіоніну з розрахунку 1мл на 100г маси тіла. Тварини контрольної групи отримують воду. Забір крові для дослідження здійснюють під час пікового рівня ГЦ в плазмі крові - через 2 години після навантаження метіоніном. Контрольним тваринам вводять воду. До введення метіоніну тварин утримують на стандартній дієті віварію.

Проведені нами дослідження засвідчили, що

(19) UA (11) 47494 (13) U

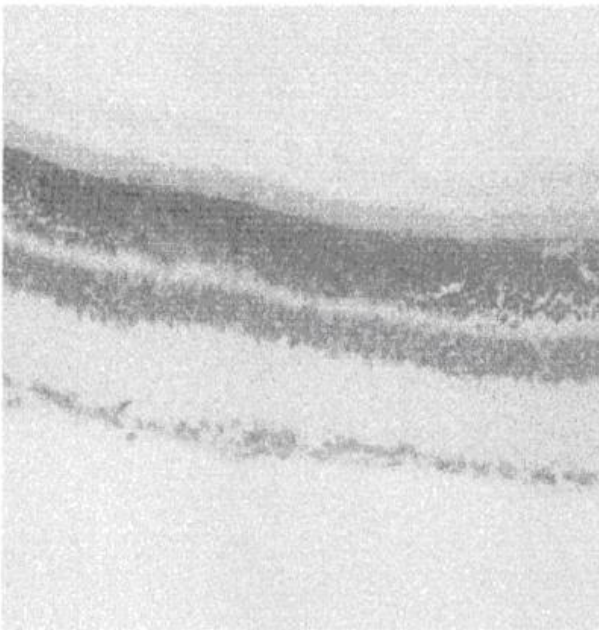
одноразове введення тваринам великої дози метіоніну викликає різке зростання концентрації загальної ГЦ в сироватці крові. Якщо у щурів контрольної групи середній рівень ГЦ складав  $10,8 \pm 0,35$  мкмоль/л, то у щурів, котрі отримали 50 мг/кг метіоніну, вміст гомоцистеїну виявився в 4,6 рази більшим -  $49,6 \pm 3,92$  мкмоль/л.

За результатами гістологічного дослідження стан сітчастої оболонки та зорового нерва в нормі та при гострій метіоніновій ГЦ відрізнялися між собою. В контрольній групі шари сітчастої оболонки були чітко диференційовані і мали типову структуру (Фіг.1), натомість, у щурів з ГЦ спостерігався значний набряк усіх шарів сітчастої оболонки. Внаслідок мукоїдного набухання строми в оболонках стінок судин відбувалася їх деструкція і пролягання із зони сітківки в склисте тіло у вигляді своєрідних „сталактитів” (Фіг.2). Крім того, були помітні явища деградації гангліозних нейронів - коліквація цитоплазми, ущільнення хроматину в ядрах і пікноз ядер, відсутність багатьох клітин внаслідок повного цитолізу. Місцями, де нібито збережені гангліозні клітини, насправді є лише угруповання гліальних клітин (Фіг.3). Тромботичних проявів в судинах не спостерігалось. Зоровий нерв перебував у стані гострого набряку із втратою впорядкованої структури, наявні були збільшення кількості нейролемоцитів та розташованих скупченнями макрофагів та фібробластів (Фіг.4).

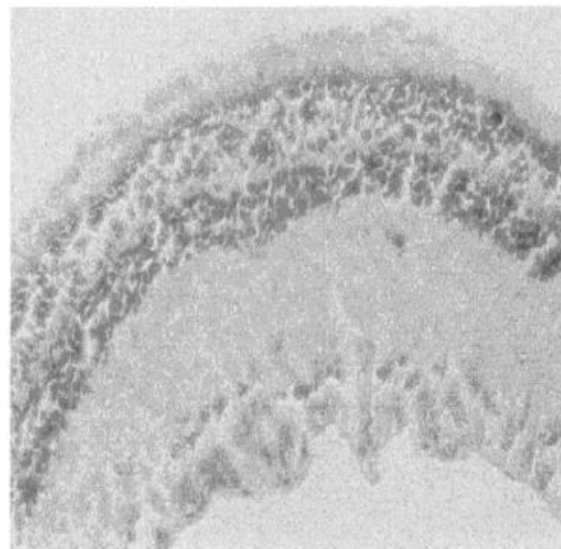
Приклад. Білий щур, вагою 205 грамів отримав через шлунок зонд 2 мл 5% розчину метіоніну. Через 2 години визначили рівень загальної ГЦ методом ІФА з використанням стандартного набору

ру „Homocysteine” Axis Shield, Англія, який становив 45,8 мкмоль/л. При вивченні гістологічних зрізів, зафарбованих гематоксиліном, Азур - II - еозином та гематоксилін - фосфорновольфамовими квасцями виявлено структурні зміни як судинного русла, так і нервових елементів ока, які проявляються мукоїдним набуханням та потовщенням стінок судин, дезорганізацією шарів сітчастої оболонки із явищами вакуолізації цитоплазми, пікнозу ядер і загибелі нервових клітин. Явища набряку спостерігалися в фотосенсорному та зовнішньому ядерному шарах, тоді як у внутрішньому ядерному шарі - і міжклітинний, і внутрішньоклітинний перинуклеарний набряк, а також пікноз ядер багатьох нейронів даного шару сітківки. В стані набряку зовнішній та внутрішній сітчасті шари. Помітні дефіцит гангліозних клітин та огрубіння внутрішньої пограничної гліальної мембрани (Фіг.5). В зоровому нерві спостерігається набряк, втрата меж та впорядкованості його волокон (Фіг.6).

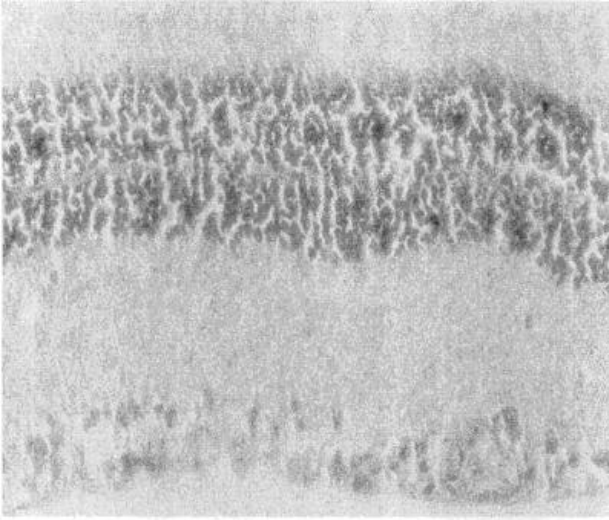
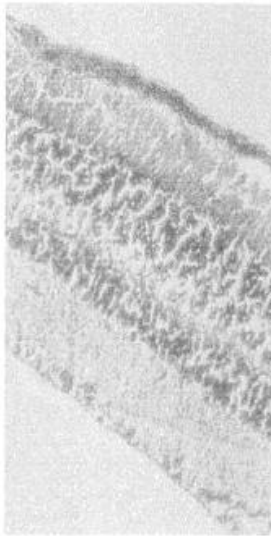
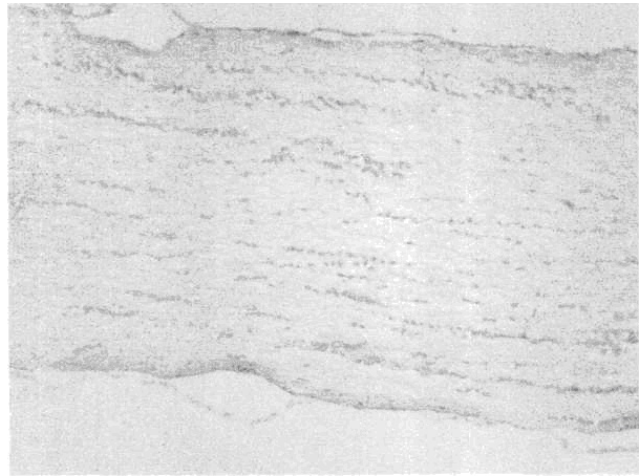
Таким чином, проведені спостереження показали, що „Спосіб моделювання дегенеративних змін сітківки та зорового нерва” шляхом гострого навантаження метіоніном призводить до розвитку нейродегенеративних процесів як в сітківці, так і в зоровому нерві, і дозволяє використовувати дану модель для дослідження гострих патологічних станів в оці та точніше, порівняно із прототипом, визначити основні патоморфологічні зміни, характерні для поєднаних дистрофічних вражень сітківки та зорового нерва.



Фіг.1



Фіг.2

**Fig.3****Fig.4****Fig.5****Fig.6**