



МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **117891** (13) **U**
(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>(21) Номер заявки: u 2017 01254</p> <p>(22) Дата подання заявки: 10.02.2017</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.07.2017</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.07.2017, Бюл.№ 13</p> | <p>(72) Винахідник(и): Мелеховець Оксана Костянтинівна (UA), Сікора Віталій Зіновійович (UA), Цимбал Нікіта Сергійович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007 (UA)</p> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

(54) СПОСІБ ІНДУКЦІЇ АЛОКСАНОВОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ У ЩУРІВ

(57) Реферат:

Спосіб індукції алоксанової гіперглікемії у щурів включає інтраперитонеальне введення білим безпородним щурам β -токсичного препарату алоксану. Попередньо розчинений у 0,9 % розчині хлористого натрію алоксан вводять одноразово натще у дозі 40 мг/кг, при цьому для профілактики гіпоглікемічного стану щура додатково проводять пероральне введення розчину 5 % глюкози.

UA 117891 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до експериментальної анатомії та ендокринології, та може бути використана для моделювання цукрового діабету у щурів.

Відомо, що кількість хворих на цукровий діабет невпинно зростає завдяки збільшенню популяції, підвищенню тривалості життя, урбанізації та розповсюдженості ожиріння й гіподинамії. Так, за даними ВООЗ передбачена загальна кількість хворих на ЦД у 2030 році складає 366 млн. осіб, порівняно з 171 млн. у 2000 році. Класичними експериментальними моделями відтворення гіперглікемічних станів є стрептозотоцинова та алоксанова моделі. Алоксан (2,4,5,6-Tetraoxypyrimidine) та стрептозотцин (2-Deoxy-2-((methylnitrosoamino)carbonyl)amino)-D-glucopyranose) за хімічною структурою є аналогами глюкози з цитотоксичною дією [1]. Для реалізації токсичного ефекту обидві речовини мають проникнути крізь плазматичну мембрану β-клітини, що реалізується завдяки зв'язуванню зі специфічними GLUT 2 гюкозотранспортерами. Така селективність забезпечує високу кумуляцію препарату та швидкість деструкції β-клітин. В залежності від дози та схеми введення препаратів розвивається стан відносної або абсолютної інсулінонедостатності, що призводить до розвитку стійкої гіперглікемії [2].

Як найближчий аналог цього методу вибрано спосіб моделювання алоксанового діабету (Данилова І.Г., Гетте І.Ф., Булавинцева Т.С., патент на изобретение № 2534411, опубл: 27.11.2014 р.). Спосіб, обраний за найближчий аналог, включає триразове введення білим безпородним щурам алоксану з інтервалом у 7 діб у дозах 50 мг/кг, 70 мг/кг и 50 мг/кг для розвитку субкомпенсованої форми діабету, або 100 мг/кг через 1 добу тричі для декомпенсованого діабету.

За даними Monika Misra (2012 р.), яка вивчала діабетогенні ефекти алоксану, летальність щурів на 15 добу після ін'єкції алоксану залежала від дози та складала 25 %, 33,3 % та 40 % при застосуванні 150 мг/кг, 160 мг/кг та 170 мг/кг відповідно. Такий високий показник летальності пояснюється гострою гіпоглікемією після введення препарату та токсичним ефектом фармакологічної дози алоксану на канальцеві клітини нирок. Розвиток стабільного діабету протягом 35 діб було досягнуто тільки у 20 % щурів, що отримали алоксан у дозі 170 мг/кг [3].

Недоліком цього методу є багаторазове введення високих доз препарату, що відповідає значному коливанню глікемічного профілю та підвищує ризик гострих гіпоглікемічних станів та летальності.

В основу корисної моделі, що заявляється, поставлена задача удосконалення способу інтраперитоніального введення алоксану щурам шляхом мінімізації дози та кількості введень препарату для зниження показників смертності під час експерименту та забезпечення стійкої хронічної гіперглікемії.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі індукції алоксанової гіперглікемії у щурів, що включає інтраперитонеальне введення білим безпородним щурам 13-токсичного препарату алоксану, згідно із корисною моделлю, алоксан попередньо розчиняють у розчині 0,9 % хлористого натрію і вводять його білим безпородним щурам одноразово натще у дозі 40 мг/кг маси тіла щура, при цьому для профілактики гіпоглікемічного стану щура додатково проводять пероральне введення розчину 5 % глюкози.

Використання заявлюваного способу з усіма суттєвими ознаками, включаючи відмінні, дозволяє мінімізувати селективну деструкцію β-клітин для збереження залишкової секреції інсуліну, що забезпечує досягнення тривалого монотонного профілю гіперглікемії, достатньої для реалізації її впливу на тканини, та зменшує летальність експериментальних тварин протягом експерименту.

Пояснюється це наступним.

При вивченні ефективності лікувальних засобів для корекції вуглеводного обміну у експериментальних моделях традиційно використовуються великі дози хімічних сполук для попередження відновлення інсулінсезуючої функції β-клітин. В той же час, досягнення незворотної деструкції острівцевих клітин супроводжується ризиком гострої декомпенсації цукрового діабету та підвищенням летальності експериментальних тварин. Тому підбір оптимальної дози та режиму введення препарату для збереження контингенту тварин протягом всього часу експерименту за умов розвитку стійкої гіперглікемії має особливе значення для вивчення механізмів метаболічних порушень. Запропонований режим одноразового введення алоксану у мінімально токсичній дозі 40 мг/кг з наступним пероральним введенням 5 % розчину глюкози забезпечує досягнення монотонного профілю гіперглікемії (рівень постпрандіальної глікемії більше 8 мм/л), що характеризується відсутністю абсолютного дефіциту інсуліну та розвитку кетоацидозу, сприяє забезпеченню довгострокової гіперглікемії, достатньої для реалізації її впливу на тканини та мінімальної летальності протягом експерименту. Таким чином, запропонований спосіб вирішує поставлену задачу.

Спосіб здійснюється наступним чином.

Білі щури утримувались при оптимальній температурі та вологості повітря, вільному доступі до їжі та води. Термін, протягом якого оцінювалась життєздатність, складав 40 діб. Алоксан з розрахунку 40 мг/кг було розчинено в фізіологічному розчині NaCl 0.9 % та введено в об'ємі 0,2 мл інтраперитонеально інсуліновим шприцом. Для попередження гіпоглікемічного стану щурам перорально зондово вводився розчин 5 % глюкози. Моніторинг глікемії здійснювався через 2, 12 та 24 години після ін'єкції та надалі щотижня протягом експерименту. Для оцінки рівню глюкози використовувався глюкозо-оксидазний ферментний метод. За допомогою глюкометра Accu-Chek Advantage (Boehringer, Німеччина) досліджувалась краплина крові, взятої скарифікатором з хвоста щура. Враховуючи вільний доступ щурів до їжі, глікемія натще не може бути використаною як об'єктивний критерій контролю. Тому для верифікації гіперглікемічного стану було використано показник постпрандіальної глікемії ≥ 8 ммоль/л (верхня межа норми 7,8 ммоль/л) (Standards of Medical Care in Diabetes, 2016).

Спосіб індукції алоксанової гіперглікемії апробовано на 24 білих щурах з наступним розподілом за віковими категоріями 7 молодих (3 місяці), 7 зрілих (8 місяців) та 8 старечих (24 місяці). Оцінка терміну досягнення гіперглікемічного стану показала підвищення глюкози через 2 години з середньою глікемією в групі $10,5 \pm 2$ ммоль/л. В жодному випадку постін'єкційних гіпоглікемічних станів зафіксовано не було. Профіль глікемії протягом 40 діб мав наступні особливості: на першому тижні середня глікемія визначалась на рівні $9,2 \pm 1,0$ ммоль/л; на другому тижні - $11,5 \pm 2,2$ ммоль/л; надалі середня глікемія залишалась на рівні $12,8 \pm 4,1$ ммоль/л. Не було встановлено достовірної різниці між віковими категоріями в динаміці розвитку гіперглікемії. Життєздатність щурів незалежно від віку склала 100 % протягом 40 днів.

Перевага даного методу у порівнянні з відомими полягає в покращенні результатів експерименту за рахунок забезпечення цільового рівня гіперглікемії та зберігання життєздатності щурів незалежно від вікових особливостей протягом терміну дослідження.

Джерела інформації:

1. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas // *Physiol. Res.* - 2001. - Vol. 50, № 6. - P. 537-546.
2. Jain DK, Arya RK. Anomalies in alloxan-induced diabetic model: It is better to standardize it first. *Indian J Pharmacol* 2011;43:91.
3. Misra M. Alloxan: An unpredictable drug for diabetes induction? // *Indian Journal of Pharmacology* – 2012 – Vol. 44-P. 4-<http://www.ijp-online.com> DOL: 10.4103/0253-7613.99348.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб індукції алоксанової гіперглікемії у щурів, що включає інтраперитонеальне введення білим безпородним щурам β -токсичного препарату алоксану, який **відрізняється** тим, що попередньо розчинений у 0,9 % розчині хлористого натрію алоксан вводять одноразово натще у дозі 40 мг/кг, при цьому для профілактики гіпоглікемічного стану щура додатково проводять пероральне введення розчину 5 % глюкози.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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