



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **114862**

(13) **U**

(51) МПК

G09B 23/28 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 09475**

(22) Дата подання заявки: **13.09.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **27.03.2017**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **27.03.2017, Бюл.№ 6**

(72) Винахідник(и):

**Кустов Дмитро Юрійович (UA),
Кокіна Ірина Володимирівна (UA),
Реготун Тетяна Анатоліївна (UA),
Валігун Яніна Сергіївна (UA)**

(73) Власник(и):

**Кустов Дмитро Юрійович,
вул. Франтішека Крала, 3, кв. 19, м. Харків,
61075 (UA)**

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ РЕВМАТОЇДНОГО АРТРИТУ

(57) Реферат:

Спосіб моделювання ревматоїдного артриту включає підшкірне введення речовин антигенів альбуміну і повного ад'юванту Фрейнда. Додатково одноразово підшкірно вводять колаген II типу в кількості 0,3-1,0 мг/кг маси тіла тварини.

UA 114862 U

Корисна модель належить до медицини, а саме ревматології, і може бути використана для моделювання ревматоїдного артриту.

Відомий спосіб моделювання ревматоїдного артриту у тварин шляхом підшкірного введення повного ад'юванту Фрейнда (ПАФ) і подальшого одногодинного щоденного іммобілізаційного стресу з 14-ї по 28-у добу [1].

Недоліком відомого способу є те, що після одноразового введення ПАФ в організмі розвивається неспецифічний аутоімунний процес, який не сприяє розвитку аутоімунного ревматоїдного артриту, а іммобілізаційне стресування лише згладжує прояви гострої фази захворювання.

Найближчим до способу, що заявляється, є спосіб моделювання експериментального ревматоїдного артриту шляхом підшкірного введення, як антигенів, овальбуміну й ПАФ в дві зони в ділянці колінного суглоба і внутрішньовенного введення папаїну, а через 12 діб повторного внутрішньосуглобового введення овальбуміну з фізіологічним розчином [2].

Недоліком відомого способу є те, що розвиток аутоімунного процесу відбувається за рахунок неспецифічного антигена, а використання папаїну не дозволяє відділити аутоімунне пошкодження від ферментного. Ще одним недоліком можна вважати важкоздійснюване внутрішньосуглобове введення овальбуміну з фізіологічним розчином в дозі 5 мг/мл.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення способу моделювання ревматоїдного артриту, який відтворює аутоімунне запалення суглобів з ознаками ревматоїдного артриту, з підвищеною надійністю моделювання при використуванні тварин різних видів та ліній, зі скороченням часу експерименту.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі моделювання ревматоїдного артриту, який включає одноразове введення бичачого сироваткового альбуміну (БСА) і повного ад'юванту Фрейнда (ПАФ), згідно з корисною моделлю, додатково одноразово підшкірно вводять колаген II типу в кількості 0,3-1,0 мг/кг маси тіла тварини.

Спосіб реалізують таким чином. Експериментальній тварині за допомогою одноразових шприців об'ємом 2 мл, підшкірно, по черзі, роздільно в різні ділянки тіла, одноразово або дворазово (з перервою 7 днів) вводили колаген II типу в дозах від 0,3 мг/кг до 1,0 мг/кг маси тіла тварини, одноразово бичачий сироватковий альбумін (БСА) в дозі 0,4 мг/кг маси тіла тварини і повний ад'ювант Фрейнда (ПАФ) в дозі 0,1 мг/кг маси тіла тварини. Формування проявів ревматоїдного артриту залежно від дози колагену, що вводиться, спостерігається з 15-ї по 30-у добу експерименту у 100 % експериментальних тварин.

Приклад
Чотирьом підгрупам статевозрілих самців і самиць білих щурів здійснювали підшкірну ін'єкцію БСА в дозі 0,4 мг/кг маси тіла в область шиї, ПАФ в дозі 0,1 мг/кг маси тіла в область кореня хвоста і колагену II типу під шкіру стегна в наступних дозуваннях: I підгрупа - 0,1 мг/кг маси тіла одноразово, II підгрупа - 0,3 мг/кг маси тіла одноразово, III підгрупа - 1,0 мг/кг маси тіла одноразово, IV підгрупа - 0,3 мг/кг маси тіла дворазово з інтервалом 7 днів.

Тестування показників реактивності імунної системи (лейкоцитарна формула периферичної крові) і поведінки грумінгу реєстрували через 30 днів після початку імунізації.

Грумінг - елемент зоосоціальної поведінки тварин, що характеризує стан комфортності і є послідовністю моторних актів, спрямованих на самоочищення поверхні тіла (чесання, лизання, умивання, обтрушування). Зміни грумінгу спостерігаються як при посиленні стану тривожності тварини, так й при порушенні моторної функції, пов'язаної з больовим синдромом, викликаним аутоімунним ревматоїдним запаленням суглобів.

Дані, що характеризують стан імунної системи, наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Основні показники периферичної крові щурів до та після формування моделі ревматоїдного артриту

Групи тварин	Показники крові					
	Лімфоцити, %	Моноцити, %	Паличкоядерні, %	Сегментоядерні, %	Еозинофіли, %	Лейкоцити, Г/л
Інтактні (n=20)	61,0±0,6	3,0±0,1	3,0±0,5	29,0±0,6	4,0±0,2	12,5±0,5
I (n=20)	58,7±0,9	2,0±0,1	3,0±0,1	32,7±0,8	2,0±0,1*	13,1±0,7
II (n=20)	75,1±0,4*	3,2±0,2	3,1±0,3	17,2±0,7*	1,9±0,3*	21,7±0,6*
III (n=20)	88,0±0,2*	3,0±0,1	1,0±0,1*	8,0±0,5*	0,0±0,0*	38,0±0,5*

Таблиця 1

Основні показники периферичної крові щурів до та після формування моделі ревматоїдного артриту

Групи тварин	Показники крові					
	Лімфоцити, %	Моноцити, %	Паличкоядерні, %	Сегментоядерні, %	Еозинофіли, %	Лейкоцити, Г/л
IV (n=20)	82,4±0,5*	2,6±0,1	1,0±0,1*	14,1±0,4*	1,1±0,2*	36,6±0,3*

Примітка: * - $p \leq 0,05$ при порівнянні з інтактними тваринами.

З таблиці 1 видно, що при ін'єкції колагену II типу у дозі 0,1 мг/кг маси тіла (I підгрупа) лейкоцитарна формула не зазнавала змін в порівнянні з інтактною групою. У решті підгруп в організмі починався специфічний аутоімунний процес. Про це свідчить вірогідне підвищення рівня лімфоцитів і, як наслідок, вірогідне збільшення лейкоцитів. Крім цього спостерігалось

зниження кількості паличкоядерних й сегментоядерних клітин.

Дані дослідження грумінгової активності наведені в таблиці 2.

Як видно з таблиці 2, в I підгрупі щурів грумінгова активність помітно не відрізнялася від фізіологічної норми. В підгрупі щурів, яким вводили 0,3 мг/кг маси тіла колаген II типу, знижувалися такі показники як лизання, чесання й час грумінга. В III та IV підгрупах кількість усіх елементарних грумінгових актів й час грумінгу значно знижувались.

Таблиця 2

Основні грумінгові показники у щурів до та після формування моделі ревматоїдного артриту

Групи тварин	Показники грумінга				
	Вмивання, е.г.а.	Лизання, е.г.а.	Чесання, е.г.а.	Обтрушування, е.г.а.	Час, с
Інтактні (n=20)	9,2±0,3	7,5±0,2	6,8±0,2	5,0±0,2	160,3±13,1
I (n=20)	10,5±0,6	8,3±0,3	6,9±0,5	4,4±0,7	178,9±12,4
II (n=20)	8,1±0,4	5,6±0,4*	5,3±0,7*	4,0±0,3	118,8±11,9*
III (n=20)	4,5±0,2*	3,8±0,1*	5,8±0,1	2,3±0,1*	76,3±8,4*
IV (n=20)	5,6±0,5*	3,5±0,3*	4,2±0,3*	2,6±0,4*	68,5±9,2*

Примітка: е.г.а. - елементарний грумінговий акт,

*- $p \leq 0,05$ при порівнянні з інтактними тваринами.

Переваги способу, що заявляється: підвищення надійності моделювання ревматоїдного артриту у тварин різних видів і ліній практично до 100 %, скорочення часу формування моделі, мінімізація тривалості неспецифічного запалення, яке маскує формування ревматоїдного артриту.

Джерела інформації:

1. Пат. RU, № 2305238, G09B 23/28. Способ моделирования ревматоидного артрита / Ярославская государственная медицинская академия. - Заявка № 2005136004/14 от 21.11.2005, Опубл. 27.08.2007, Бюл. № 24.

2. Пат. RU, № 2351021, G09B 23/28. Способ моделирования экспериментального ревматоидного артрита / Федеральное государственное учреждение "Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии Федерального агентства по высокотехнологической медицинской помощи". - Заявка № 2007148301/14 от 24.12.2007, Опубл. 27.03.2009, Бюл. № 9.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб моделювання ревматоїдного артриту, що включає підшкірне введення речовин антигенів альбуміну і повного ад'юванту Фрейнда, який **відрізняється** тим, що додатково одноразово підшкірно вводять колаген II типу в кількості 0,3-1,0 мг/кг маси тіла тварини.

Комп'ютерна верстка Т. Вахричева

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

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