ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА **(19) UA** **(11) 114861** **(13) U**

(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 09474**
(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),
Косторєв Олександр Станіславович (UA)
(73) Власник(и):
Кустов Дмитро Юрійович,
вул. Франтішека Крала, 3/19, м. Харків, 61075 (UA)

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ АУТОІМУННОГО ГІПОГОНАДИЗМУ

(57) Реферат:

Спосіб моделювання аутоімунного гіпогонадизму включає підшкірне введення антигенів. Як антиген одноразово підшкірно вводять гомогенат яєчників самицям або сім'яників самцям в емульсії неповного ад'юванта Фрейнда.

UA 114861 U

Спосіб належить до медицини, а саме ендокринології, і може бути використаний для моделювання аутоімунного гіпогонадизму.

Відомий спосіб моделювання аутоімунного гіпогонадизму (АІГ) у тварин шляхом підшкірного введення 10 мг/кг маси тіла піридоксину гідрохлориду одноразово щодня з 3 дня життя тварин, а по досягненню статевозрілого віку проводять гонадектомію й, через 7 днів, протягом 5 днів щодня одноразово вводять підшкірно 2 мг/кг маси тіла тестостерона пропіонат [1].

Недоліком відомого способу є те, що видалення гонад і подальше введення тестостерону пропіонату приводить до формування гормонального гіпогонадизму, проте не сприяє виникненню аутоімунного процесу в організмі тварин.

Найближчим до способу, що заявляється, є спосіб моделювання АІГ, шляхом внутрішньоочеревинного введення статевозрілим самцям як антигену антибіотика адріабластину в дозі 2-5 мг/кг маси тіла, двократно по половині сумарної дози з інтервалом 7 днів [2].

Недоліком відомого способу є те, що адріабластин, як цитостатичний препарат, пригнічує матричну ДНК гонад, при цьому не впливає на специфічну імунну толерантність реципієнта до власних тканин гонад.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення способу моделювання АІГ, який відтворює аутоімунне запалення гонад з ознаками аутоімунного гіпогонадизму, з підвищеною надійністю моделювання при використовуванні тварин різних видів та ліній, зі скороченням часу експерименту.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі моделювання АІГ, який включає підшкірне введення антигенів, згідно з корисною моделлю, як антиген одноразово підшкірно вводять гомогенат яєчників самицям або сім'яників самцям в емульсії неповного адъюванта Фрейнда (НАФ).

Спосіб реалізують таким чином. Експериментальній тварині за допомогою одноразових шприців об'ємом 2 мл, внутрішньоочеревинно, сумісно, одноразово або дворазово (з інтервалом 10 днів), вводили гомогенат тканини яєчників або сім'яників (самицям або самцям відповідно) в дозі від 0,2 мг/кг до 0,6 мг/кг маси тіла тварини в емульсії НАФ в дозі 0,4 мг/кг маси тіла тварини. Формування моделі АІГ здійснюється в терміни від 3-х до 6-і тижнів залежно від статі та віку тварини.

Приклад № 1.

Чотирьом підгрупам статевозрілих самців білих щурів здійснювали внутрішньоочеревинну ін'єкцію НАФ в дозі 0,4 мг/кг маси тіла сумісно з гомогенатом тканини сім'яників в наступних дозуваннях: I підгрупа - 0,1 мг/кг маси тіла одноразово, II підгрупа - 0,2 мг/кг маси тіла одноразово, III підгрупа - 0,6 мг/кг маси тіла одноразово, IV підгрупа - 0,2 мг/кг маси тіла дворазово з інтервалом 10 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, направлених на самоочищення поверхні тіла (чесання, лизання, умивання, обтрушування).

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

З таблиці 1 видно, що при дозуванні гомогенату сім’яників 0,1 мг/кг маси тіла лейкоформула 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 кількості лейкоцитів. Крім цього спостерігалося зниження кількості еозинофілів й сегментоядерних клітин.

Таблиця 1

Основні показники периферичної крові щурів до та після формування моделі аутоімунного гіпогонадизму

Групи тварин	Показники крові					
	Лімфоцити %	Моноцити %	Паличкоядерні %	Сегментоядерні %	Еозинофіли %	Лейкоцити, Г/л
Інтактні (n=20)	62,0±0,6	2,0±0,3	2,0±0,5	30,0±0,6	4,0±0,2	12,5±0,5
I (n=20)	60,4±0,9	1,5±0,1	2,0±0,1	33,3±0,5	2,8±0,1	14,0±0,7
II (n=20)	71,4±0,2*	2,5±0,6	3,1±0,7	19,4±0,7*	2,6±0,6*	23,3±0,4*
III (n=20)	86,0±0,2*	1,0±0,3	1,5±0,5	11,0±0,5*	1,0±0,2*	40,0±0,2*
IV (n=20)	80,4±0,5*	1,0±0,3	1,0±0,1*	16,3±0,4*	1,3±0,2*	37,8±0,5*

Примітка: * - p≤0,05 при порівнянні з інтактними тваринами.

Дані дослідження грумінгової активності приведені в таблиці 2.

Як видно з таблиці 2, в I підгрупі щурів грумінгова активність помітно не відрізнялась від фізіологічної норми. В підгрупі щурів, яким вводили 0,2 мг/кг маси тіла гомогенату сім'яників, знижувалися такі показники як лизання, чесання, обтрушування і час грумінга. В III і IV підгрупах кількість усіх елементарних грумінгових актів і час грумінгу значно знижувались.

Таблиця 2

Основні грумінгові показники у щурів до та після формування моделі аутоімунного гіпогонадизму

Групи тварин	Показники грумінга				
	Умивання, е.г.а.	Лизання, е.г.а.	Чесання, е.г.а.	Обтрушування, е.г.а.	Час, с
Інтактні (n=20)	8,7±0,3	13,5±0,3	7,8±0,1	6,0±0,2	197,2±11,3
I (n=20)	9,2±0,4	14,3±0,5	6,9±0,5	5,4±0,4	198,4±12,4
II (n=20)	8,5±0,2	11,6±0,4*	6,0±0,3*	4,0±0,3*	174,8±10,9*
III (n=20)	6,8±0,2*	9,0±0,6*	5,3±0,4*	4,1±0,1*	168,2±10,1*
IV (n=20)	4,6±0,4*	2,5±0,3*	4,6±0,4*	2,5±0,2*	58,7±8,3*

Примітка: е.г.а. - елементарний грумінговий акт,
*- p≤0,05 при порівнянні з інтактними тваринами.

Приклад № 2.

Чотирьом підгрупам статевозрілих самиць білих щурів здійснювали внутрішньоочеревинну ін'єкцію НАФ в дозі 0,4 мг/кг маси тіла сумісно з гомогенатом тканини яєчників в наступних дозуваннях: I підгрупа - 0,1 мг/кг маси тіла одноразово, II підгрупа - 0,2 мг/кг маси тіла одноразово, III підгрупа - 0,6 мг/кг маси тіла одноразово, IV підгрупа - 0,2 мг/кг маси тіла дворазово з інтервалом 10 днів.

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

Дані, що характеризують стан імунної системи, приведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Основні показники периферичної крові щурів до та після формування моделі аутоімунного гіпогонадизму

Групи тварин	Показники крові					
	Лімфоцити %	Моноцити %	Паличкоя-дерні %	Сегментоя-дерні %	Еозинофіли %	Лейкоцити, Г/л
Інтактні (n=20)	60,3±0,4	4,1±0,1	1,3±0,5	29,3±0,4	5,0±0,2	14,2±0,3
I (n=20)	59,2±0,6	3,5±0,1	1,3±0,2	31,2±0,7	4,8±0,1	14,0±0,7
II (n=20)	74,2±0,4*	5,5±0,2	2,1±0,4	18,4±0,6*	1,7±0,3*	21,1±0,5*
III (n=20)	88,2±0,2*	4,3±0,1	1,5±0,1	6,0±0,3*	0,0±0,0*	41,1±0,2*
IV (n=20)	85,1±0,6*	3,2±0,5	0,0±0,0*	9,3±0,2*	2,4±0,1*	39,2±0,6*

Примітка: * - p≤0,05 при порівнянні з інтактними тваринами.

З таблиці 3 видно, що при дозуванні гомогенату яєчників 0,1 мг/кг маси тіла лейкоформула 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 спостерігалося зниження кількості еозинофілів і сегментоядерних клітин.

Дані дослідження грумінгової активності приведені в таблиці 4.

Як видно з таблиці 4, в I підгрупі щурів грумінгова активність помітно не відрізнялась від фізіологічної норми. В підгрупі щурів, яким вводили 0,2 мг/кг маси тіла гомогенату яєчників, знижувалися такі показники як лизання, чесання, обтрушування і час грумінгу. В III і IV підгрупах кількість всіх елементарних грумінгових актів і час грумінгу значно знижувались.

Таблиця 4

Основні грумінгові показники у щурів до та після формування моделі аутоімунного гіпогонадизму

Групи тварин	Показники грумінгу				
	Умивання, е.г.а.	Лизання, е.г.а.	Чесання, е.г.а.	Обтрушування, е.г.а.	Час, с
Інтактні (n=20)	10,1±0,4	9,5±0,2	7,0±0,1	6,2±0,2	181,1±10,3
I (n=20)	10,7±0,5	14,3±0,5	6,9±0,5	5,4±0,4	198,4*12,4
II (n=20)	8,5±0,2	11,6±0,4*	6,0±0,3*	4,0±0,3*	174,8±10,9*
III (n=20)	6,8±0,2*	9,0±0,6*	5,3±0,4*	4,1±0,1*	168,2±10,1*
IV (n=20)	4,6±0,4*	2,5±0,3*	4,6±0,4*	2,5±0,2*	58,7±8,3*

Примітка: е.г.а. - елементарний грумінговий акт,
*- p≤0,05 при порівнянні з інтактними тваринами.

Переваги способу, що заявляється: підвищення надійності моделювання аутоімунного гіпогонадизму у тварин різних видів і ліній, скорочення часу формування моделі, мінімізація тривалості неспецифічного запалення.

Джерела інформації:

1. Пат. SU, № 1720079 A1, C09B 23/28. Способ моделирования аутоиммунного гипогонадизма / Харьковский научно-исследовательский институт эндокринологии и химии - Заявка № 777515/1 от 04.01.1990., Опубл. 15.03.1992., Бюл. № 10.

2. Пат. UA № 17287, G09B 23/02. Спосіб моделювання вторинного гіпогонадизму / Одеський державний медичний університет - Заявка № 200603542 від 03.04.2006., Опубл. 15.09.2006., Бюл. № 9.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб моделювання аутоімунного гіпогонадизму, що включає підшкірне введення антигенів, який **відрізняється** тим, що як антиген одноразово підшкірно вводять гомогенат яєчників самицям або сім'яників самцям в емульсії неповного ад'юванта Фрейнда.

Комп'ютерна верстка М. Мацело

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