



УКРАЇНА

(19) UA (11) 38151 (13) A

(51) 7 G09B23/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ГЕРПЕСУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА

(21) 2000063176

(22) 02.06.2000

(24) 15.05.2001

(33) UA

(46) 15.05.2001, Бюл. № 4, 2001 р.

(72) Ширококов Володимир Павлович, Савичук  
Наталія Олегівна, Ніколаєнко Ігор Васильович(73) Національний медичний університет ім. О.О.  
Богомольця

(57) Спосіб моделювання герпесу слизової оболонки порожнини рота, який передбачає інфікування експериментальних тварин шляхом ін'єкційного введення у слизову оболонку порожнини рота після попередньої обробки 10% розчином трипсину

0,1 мл інфекційного матеріалу вірусу простого герпесу першого типу  $10^5$ - $10^6$  БУО/мл і спонтанне формування пухирців і ерозій на слизовій оболонці порожнини рота на 3-7-й день, який **відрізняється** тим, що як експериментальних тварин використовують тижневих білих щурів лінії Вістар масою 9,0-10,5 г, а для відтворення рецидиву після інфікування додатково здійснюють аплікацію гелю протистин Е2 на слизову оболонку порожнини рота під легким ефірним наркозом протягом 34-36-го днів, після чого на 38-40-й день очікують спонтанне формування пухирців і ерозій на слизовій оболонці порожнини рота.

Винахід стосується галузі експериментальної медицини, вірусології, стоматології і педіатрії, і призначений для моделювання головних патогенетичних механізмів виникнення і розвитку рецидивуючого герпесу слизової оболонки порожнини рота (СОПР) для визначення клінічної та протирецидивної ефективності різних методів лікування.

Рецидивуючий герпес займає одне з провідних місць серед уражень слизової оболонки порожнини рота і губів як у дорослих, так і у дітей. Протягом останнього десятиліття значно змінилась клінічна картина герпетичної інфекції, зросла кількість резистентних до традиційної терапії форм захворювань [1].

В умовах клініки дослідники мають справу зі сформованою рецидивуючою герпетичною інфекцією, яка у кожної конкретної людини протікає на тлі певного комплексу супутніх захворювань. Тому узагальнення отриманих результатів не дозволяє визначити головні патогенетичні механізми, притаманні рецидивуючому герпесу, на підставі яких створити ефективні методи лікування [2].

Існуючі моделі герпесу слизової оболонки порожнини рота відтворюють гострі форми захворювання і не забезпечують виживання навіть 25% лабораторних тварин протягом 3-4 тижнів від початку експерименту. Не існує способу ініціювання рецидивів герпетичної інфекції в умовах експерименту, який забезпечував би загострення захворювання у 75-100% тварин. Тому результати досліджень по відтворенню гострого герпесу вимушено екстраполюються на рецидивуючі форми

захворювання, а моделі для вивчення протирецидивних властивостей препаратів узагалі не існують [2].

Так, відомий спосіб експериментального відтворення герпесу слизової оболонки порожнини рота [3], який полягає у інфікуванні безпородних білих мишей масою 10-12 г вірусом простого герпеса першого типу (ВПГ-1) шляхом внесення краплі нерозведеної культуральної рідини 10 ЦПД 50/мл на скарифіковану слизову оболонку порожнини рота. У всіх тварин із 2-3-ї доби після інфікування спонтанно виникають пухирці і ерозії на СОПР. Після утворення ерозій на їхню поверхню здійснюють аплікацію медикаментів, клінічну ефективність яких оцінюють.

Указаний спосіб моделювання відтворює гостру форму герпесу слизової оболонки порожнини рота, причому смертність лабораторних тварин протягом першого тижня перевищує 25%. Відтворення рецидиву герпесу СОПР не передбачається, а отримані результати дослідження екстраполюють на рецидивуючі форми ураження. На вказаній моделі можна вивчати лише здатність препаратів покращувати клінічний перебіг гострого герпесу СОПР.

Найближчим аналогом (прототипом) способу моделювання герпесу СОПР є спосіб, який передбачає інфікування тритижневих морських свинок масою 150-200 г вірусом простого герпесу першого типу (ВПГ-1) шляхом ін'єкції 1 мл інфекційного матеріалу, що містить  $10^5$ - $10^6$  БУО/мл у слизову оболонку порожнини рота після попереднього втиран-

ня 10% розчину трипсину. Для визначення ефективності противірусних препаратів на поверхню ерозій, які утворюються на 3-7-й день від початку інфекції, здійснюють аплікацію розчину противірусного препарату [4].

Указаний спосіб забезпечує відтворення гострої форми герпесу СОПР для наступного вивчення особливостей патогенезу захворювання, створення і визначення ефективності різних методів терапії. Протягом першого тижня смертність морських свинок від генералізації герпетичної інфекції перевищує 30%, до кінця експерименту доживає лише 25% тварин. Тому відтворення рецидиву герпесу СОПР не передбачається, а результати вивчення патогенезу гострого герпесу СОПР екстраполюються на рецидивуючі форми інфекції.

Завдання, яке вирішується в даному винаході, полягає у створенні експериментальної моделі герпесу СОПР на білих щурах лінії Вістар, яка б адекватно відтворювала особливості патогенезу рецидивуючої форми інфекції.

Технічний ефект, який досягається, полягає в можливості вивчення головних патогенетичних механізмів рецидивуючого герпесу слизової оболонки порожнини рота і можливості визначення клінічної і протирецидивної ефективності лікування.

Поставлена задача вирішується завдяки тому, що у відомому способі моделювання герпесу слизової оболонки порожнини рота, який передбачає інфікування експериментальних тварин шляхом ін'єкційного введення у слизову оболонку порожнини рота після її попередньої обробки 10% розчином трипсину 0,1 мл інфекційного матеріалу вірусу простого герпесу першого типу  $10^5$ - $10^6$  БУО/мл і спонтанне формування пухирців та ерозій на слизовій оболонці порожнини рота на 3-й - 7-й день, згідно з винаходом, як експериментальних тварин використовують тижневих білих щурів лінії Вістар масою 9-10,5 г, а для відтворення рецидиву після інфікування додатково здійснюють аплікацію гелю простін Е2 на слизову оболонку порожнини рота під легким ефірним наркозом протягом 34-36-го днів, після чого на 38-40-й день очікують спонтанне формування пухирців і ерозій на слизовій оболонці порожнини рота.

Відмінною особливістю способу моделювання герпесу слизової оболонки порожнини рота, згідно з винаходом, є те, що як експериментальних тварин використовують тижневих білих щурів лінії Вістар масою 9,0-10,5 г, а для відтворення рецидиву після інфікування, додатково здійснюють аплікацію гелю простін Е2 на поверхню слизової оболонки порожнини рота протягом 34-36-го днів, після чого на 38-40-й день очікують спонтанне формування пухирців і ерозій на слизовій оболонці порожнини рота. Це дозволяє відтворити адекватну модель саме рецидивуючого герпесу слизової оболонки порожнини рота, надає можливість вивчати особливості патогенезу інфекції на різних етапах її розвитку та забезпечити меншу смертність експериментальних тварин. З доступних літературних джерел такий спосіб моделювання герпесу СОПР не відомий.

Спосіб моделювання герпесу СОПР здійснюють наступним чином. Герпетичне ураження СОПР відтворюють на тижневих білих щурах лінії

Вістар масою 9-10,5 г шляхом ін'єкції 0,1 мл ВПГ-1 з інфекційним титром  $10^5$ - $10^6$  БУО/мл в слизову оболонку порожнини рота після попереднього втирання 10% розчину трипсину (піддослідна група). Контрольну групу складають щурі такого ж віку і маси, яким за аналогічною схемою у СОПР ін'єкційно вводять 0,1 мл фізіологічного розчину після попереднього втирання 10% розчину трипсину. Протягом 3-7-го днів від початку інфікування у всіх тварин піддослідної групи виникає гострий герпес СОПР. У тварин контрольної групи не спостерігаються ознаки ураження СОПР. На 11-13-й день експерименту у щурів, які вижили, спостерігається повне зникнення клінічних ознак гострої форми захворювання. Протягом 34-36-го днів від початку інфікування слизову оболонку порожнини рота тварин піддослідної і контрольної груп змащують гелем простін Е2 один раз на день під легким ефірним наркозом. На 38-40-й день експерименту у щурів піддослідної групи очікують виникнення клінічних ознак рецидиву герпетичної інфекції СОПР – піперемія, пінгівіт, пухирці і ерозії на СОПР, губах, мордочці. У контрольній групі вказаних ознак не спостерігається. Для лабораторного підтвердження герпетичної етіології захворювання здійснюють процедуру вірусологічної верифікації.

Конкретний приклад здійснення. 10.12.99 р. для експериментального дослідження були відібрані 105 тижневих білих щурів лінії Вістар (54 самці, 51 самка) вагою 9-10,5 г, які знаходились у гніздах разом із самками. Слизову оболонку порожнини рота 65 щурів (33 самці, 32 самки) обробили 10% розчином трипсину, після чого у її товщу в ділянці правого кутика рота ввели по 0,1 мл інфекційного матеріалу ВПГ-1  $10^5$ - $10^6$  БУО/мл. Контрольну групу склали 40 щурів аналогічного віку і маси (21 самець, 19 самок), яким після обробки СОПР 10% розчином трипсину ін'єкційно вводили 0,1 мл фізіологічного розчину за аналогічною схемою. Протягом 14-23.12.99 р. у щурів піддослідної групи спостерігались ознаки гострої форми герпесу СОПР - порушення харчової поведінки, зменшення рухомості, піперемія, пінгівіт, пухирці і ерозії на СОПР, губах, шкірі мордочки. 9 щурів загинули від нейроінфекції. У щурів контрольної групи ознак герпетичної інфекції не відзначали. Протягом 12-14.01.2000 р. слизову оболонку порожнини рота щурів піддослідної групи, які вижили, та контрольної групи, змащували гелем простін Е2 під легким ефірним наркозом. 16-18.01.2000 р. у 42 щурів піддослідної групи виникли клінічні ознаки рецидиву герпесу СОПР. У щурів контрольної групи клінічних проявів рецидивуючого герпесу СОПР не спостерігали. Для підтвердження етіологічної ролі ВПГ-1 узяли зішкреби з поверхні ерозій і вміст пухирців, біологічний матеріал кожної проби розвели у 2 мл культурального середовища і внесли у моношар культури клітин НЕр-2. 24-26.01.2000 р. були визначені характерні для герпесу ознаки цитопатичної дії вірусу на культури клітин НЕр-2. Рідину з поверхні культури клітин зібрали і використали для стандартної процедури ідентифікації ВПГ-1 імунопероксидазним методом.

Для вивчення головних механізмів патогенезу рецидивуючого герпесу СОПР здійснили забори щурів піддослідної та контрольної груп 19.01.2000

р., 26.01.2000 р., 2.02.2000 р., 9.02.2000 р., матеріал для вірусологічного, імунологічного та морфологічного дослідження забирали та вивчали згідно з діючими вимогами.

Для визначення ефективності лікування 14 щурів були розподілені на 2 групи. Препарати, ефективність яких вивчалась, вводили дозатором *регос* та здійснювали аплікацію їхніх розчинів на поверхню СОПР протягом 19-26.02.2000 р., 16.02.2000 р. здійснили забій усіх тварин лікувальних груп і 6 тварин контрольної групи із забором і вивченням матеріалу для вірусологічного, імунологічного та морфологічного дослідження.

Перевагами запропонованого способу перед прототипом є те, що він крім того, що дозволяє відтворити адекватну модель саме рецидивуючого герпесу СОПР, надає можливість вивчати особливості патогенезу інфекції на різних етапах її розвитку, забезпечує меншу смертність експериментальних тварин, передбачає визначення клінічної та

протирецидивної ефективності різних методів лікування для підвищення економічності.

Джерела інформації

1. Ходак Л.А. Сучасні погляди на герпесвірусні інфекції // Інфекційні хвороби. - 1997. - № 4. - С. 42-44.

2. Евстропов А.Н., Яворская В.Е., Галегов Г.А. Лечение экспериментальной герпетической инфекции противовоспалительными средствами // Вопросы вирусологии. - 1996. - № 2. - С. 66-69.

3. Вектемиров Т.А., Чекунов Э.В., Анджепаридзе О.Г. Орорациальный герпес мышей – экспериментальная модель для изучения противогерпетических препаратов // Методологические проблемы экспериментальной химиотерапии вирусных инфекций. - Минск, 1980. - С. 138-139.

4. Рашков М., Дундаров Г., Вылев И., Дундаров С. Использование модели герпетического стоматита для исследования противовирусных средств // Вопросы вирусологии. - 1991. - № 3. - С. 242-243.

---

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)  
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26  
(044) 295-81-42, 295-61-97

---

Підписано до друку \_\_\_\_\_ 2001 р. Формат 60х84 1/8.  
Обсяг \_\_\_\_\_ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. \_\_\_\_\_

---

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.  
(044) 268-25-22

---