



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **66813** (13) **U**
(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**ОПИС**
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ДЕРМАТИТУ**

1

2

(21) u201104228

(22) 07.04.2011

(24) 25.01.2012

(46) 25.01.2012, Бюл.№ 2, 2012 р.

(72) КОКІНА ІРИНА ВОЛОДИМИРІВНА, ЗЯБЛИЦЕВ
СЕРГІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ, ЄЛЬСЬКИЙ ВІКТОР
МИКОЛАЙОВИЧ(73) ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.ГОРЬКОГО

(57) Спосіб моделювання дерматиту, що містить у собі багаторазове нанесення на шкіру розчину сенсibiliзуючої речовини, який **відрізняється** тим, що як сенсibiliзуючу речовину застосовують 1 % олійний розчин 2,4,6-тринітрохлорбензолу, та додатково одноразово парентерально вводять повний ад'ювант Фрейнда й бичачий сироватковий альбумін.

Корисна модель, що заявляється, належить до медицини, а саме - до патологічної фізіології, дерматології, імунології, алергології, фармакології, і може бути використаний для моделювання алергічного дерматиту, atopічного дерматиту та хронічного свербіжжя.

Відомий спосіб моделювання хронічного дерматиту у тварин шляхом нанесення 2,4-динітрохлорбензолу на шкіру вухної раковини *Rattus norvegicus* 3 рази на тиждень протягом 3 тижнів [1].

Недоліком відомого способу є те, що стійкі зміни з боку шкіри розвиваються за 21 добу лише у 50-70 % експериментальних щурів, а також недостатня ефективність з відтворення проявів саме хронічного алергічного запалення шкіри, оскільки застосовуваний при ньому спиртовий розчин 2,4-динітрохлорбензолу чинить не тільки сенсibiliзуючу, але, насамперед - подразнюючу дію, яка викликає при кожній його аплікації гострий іритативний дерматит, маскуючи прояви хронічного алергічного дерматиту з ознаками atopічного.

Найближчим до способу, що заявляється, є спосіб моделювання хронічного свербіжжя шляхом повторного нанесення на шкіру вухних раковин інбредних мишей лінії NC/Jic 1 % спиртового розчину 2,4,6-тринітрохлорбензолу (пiкрилхлориду) кожні 48 годин, що призводить до розвитку дерматиту на тлі різкого підвищення вмісту IgE у сироватці протягом 30 дiб [2].

Недоліком відомого способу є те, що його використання на гризунах інших ліній, а тим більше - видів, недоцільне через низьку ефективність відтворення свербіжної реакції та інших проявів хронічного алергічного дерматиту та atopічного дерма-

титу, які до того ж маскуються протягом перших тижнів експерименту проявами гострого іритативного дерматиту, пов'язаного з взаємним потенціюванням подразнюючої дії пікрилхлориду та спирту.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення способу моделювання дерматиту, який відтворює алергічне запалення шкіри з ознаками atopічного дерматиту, у тому числі - свербіжною реакцією, із підвищеною надійністю моделювання при застосуванні тварин різних видів та ліній і зменшенням часу експерименту.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі моделювання дерматиту шляхом багаторазового нанесення на шкіру гризунів розчину сенсibiliзуючої речовини, згідно з корисною моделлю, як сенсibiliзуючу речовину застосовують 1 % олійний розчин 2,4,6-тринітрохлорбензолу та додатково одноразово парентерально вводять повний ад'ювант Фрейнда й бичачий сироватковий альбумін.

Спосіб здійснюють таким чином. Експериментальним тваринам проводять багаторазове нанесення на шкіру 1 % олійного розчину 2,4,6-тринітрохлорбензолу (пiкрилхлориду) кожні 48-96 годин після одноразового парентерального введення повного ад'юванта Фрейнда й бичачого сироваткового альбуміну. Формування алергічного дерматиту з ознаками atopічного дерматиту й вираженою свербіжною реакцією спостерігається вже на 15-у добу експерименту. Оскільки пікрилхлорид є ліпофільною речовиною, яка погано розчиняється у холодній воді, а в гарячій воді та спиртах гідролізується до тринітрофенолу (пiкриновi кислоти), в якості оптимального розчинника вибрано олію; крім того, спиртовий розчин має вира-

(13) **U**
(11) **66813**
(19) **UA**

жену подразнюючу дію, яка протягом перших тижнів використання маскує прояви сенсibilізації, тоді як олійний розчин позбавлений цього недоліку. Використання саме 1 % розчину пікрilхлориду обґрунтовується недостатньою ефективністю менших концентрацій та підвищеним ризиком розвитку токсичних ускладнень при застосуванні більших концентрацій. Інтервали між нанесеннями та їх кратність залежать від сприйнятливості тварин даного виду, породи або лінії до сенсibilізації. Додатково введення повного ад'юванту Фрейнда й бичачого сироваткового альбуміну, створюючи імунний конфлікт в організмі, підсилює та прискорює сенсibilізацію та розвиток алергічних проявів.

Приклад 1.30 самцям білих безпородних щурів масою 180-200 г одноразово у корінь хвоста вводили ПАФ із розрахунку 0,5 мл на 1 кг маси тіла, одночасно з введенням до м'яких тканин контра-латерального стегна 0,1 % розчину БСА із розрахунку 1 мг БСА на 1 кг маси тіла, з дотриманням правил асептики й антисептики. На шкіру обох

сторін лівої вушної раковини та лівої сторони черепа наносили 1 % олійний розчин 2,4,6-тринітрохлорбензолу з інтервалом 48 годин протягом 15 діб. Формування хронічного алергічного дерматиту на 15-ту добу експерименту спостерігали у всіх тварин (100 %), при цьому сверблячі вогнища запалення шкіри із її розчухуванням розташовувалися не тільки у зоні нанесення пікрilхлориду, але й у віддалених ділянках тіла. Напади свербіжували провокувалися також стресовими чинниками та харчовими провокаціями (додаванням до їжі продуктів-джерел та лібераторів гістаміну й серотоніну), що надавало експериментальній хворобі подібності до клінічної картини atopічного дерматиту людини у формі розсіяного або дифузного нейродерміту. Формування дерматиту підтверджували патоморфологічним дослідженням зразків шкіри. Проводили реєстрацію грумінгової активності, здійснювали імунологічний та ендокринологічний моніторинг стану піддослідних тварин.

Таблиця 1.

Основні грумінгові показники у щурів до та після формування експериментального дерматиту.

Групи	Показники грумінгу				
	умивання, е.г.а.	лизання, е.г.а.	чухання, е.г.а.	обтрушування, е.г.а.	час, с
Інтактні	11,80±1,28*	7,50±0,93	6,13±0,88*	3,30±0,64	147,83±1,56*
Модель дерматиту	8,20±0,60	6,60±0,52	15,70±1,15	3,20±0,61	197,97±1,58

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

* - $p < 0,05$ при порівнянні з тваринами зі змодельованим дерматитом.

Як видно з таблиці 1, у щурів з експериментальним дерматитом спостерігається зниження вми-вальної активності на тлі значного підвищення кількості е.г.а. чухання та часу грумінгу порівняно з інтактними особинами, приводить до зниження кількості елементарних актів грумінгу. Це свідчить не тільки про виражений свербіж шкіри, але й про вплив змодельованого захворювання на вищу нервову діяльність, порушення стану комфорту тварин, що в сукупності з даними імунологічного та ендокринологічного дослідження підтверджує наявність синдрому нейрогуморальної дисрегуляції на тлі підвищеного ризику виникнення аутоімунних процесів, притаманних прогресуючому перебігу atopічного дерматиту. З урахуванням накопичених доказів тієї важливої ролі, яку аутоімунні феномени відіграють у розвитку atopічного дерматиту, вибір саме безпородних, тобто генетично та фенотипічно гетерогенних, а не лінійних інбредних тварин, для цього експерименту обумовлено необхідністю нівелювання залежності сприйнятливості до дерматиту та схильності до аутоімунних реакцій від належності тварини до тієї чи іншої лінії.

Приклад 2.10 самицям морської свинки масою 450-650 г одноразово підшкірно вводили ПАФ до задньої шийної області з розрахунку 0,5 мл на 1 кг маси тіла, одночасно з введенням до м'яких тканин стегна 0,1 % розчину БСА із розрахунку 1 мг БСА на 1 кг маси тіла, з дотриманням правил асептики й антисептики. На шкіру обох сторін вушних раковин наносили 1 % олійний розчин 2,4,6-

тринітрохлорбензолу з інтервалом 72 години протягом 15 діб. На 15-ту добу експерименту у всіх тварин (100 %) сформувались виражені прояви підгострого алергічного дерматиту з появою сверблячих вогнищ запалення шкіри у ділянках тіла, віддалених від зони нанесення сенсibilізуючого розчину. Свербіжна реакція виникла не тільки спонтанно або під алергеним впливом, але провокувалась і неімунними стимулами, наприклад, додаванням до раціону джерел та лібераторів гістаміну й серотоніну, нервовим стресами, що наближало експериментальне захворювання до atopічного дерматиту людини. Патоморфологічні дослідження зразків шкіри підтверджували формування дерматиту.

Перевагами даної корисної моделі є: підвищення ефективності способу у тварин різних видів та ліній до 100 %, тобто у 1,5-2 рази, скорочення часу експерименту у 1,5-2 рази у порівнянні з найближчим аналогом через створення імунного конфлікту на тлі послабленої подразнюючої дії застосованого сенсibilізуючого розчину, що сприяє прискореному розвитку алергічного дерматиту з ознаками atopічного дерматиту, у тому числі - вираженою свербіжною реакцією, при мінімізації тривалості та тяжкості явищ іритативного дерматиту, який маскує алергічні прояви.

Джерела інформації:

1.Characterization of a 2,4-Dinitrochlorobenzene-Induced Chronic Dermatitis Model in Rats / [Y.Fujii, H.

Takeuchi, S. Sakuma, T. Sengoku, S. Takakura] // Skin Pharmacol. Physiol.-2009. - Vol.22. - P.240-247.

2. Pharmacological characterization of a chronic pruritus model induced by multiple application of

2,4,6-trinitrochlorobenzene in NC mice / [H. Yamashita, T. Makino, H. Mizukami, M. Nose] // European Journal of Pharmacology.-2007. - Vol.563, Issues 1-3. - P.233-239.