



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **118029**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/564 (2006.01)

A61K 35/55 (2015.01)

A61P 5/14 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 10892	(72) Винахідник(и): Кустов Дмитро Юрійович (UA), Кокіна Ірина Володимирівна (UA), Реготун Тетяна Анатоліївна (UA), Валігун Яніна Сергіївна (UA), Косторєв Олександр Станіславович (UA)
(22) Дата подання заявки: 31.10.2016	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.07.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.07.2017, Бюл.№ 14	(73) Власник(и): Кустов Дмитро Юрійович, вул. Франтішека Крала, 3/19, м. Харків, 61075 (UA)

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ АУТОІМУННОГО ТИРЕОЇДИТУ

(57) Реферат:

Спосіб моделювання аутоімунного тиреоїдиту включає підшкірне введення антигенів. Як антиген дворазово з інтервалом 10 днів підшкірно вводять гомогенат щитовидної залози в емульсії неповного ад'юванту Фрейнда.

UA 118029 U

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

Відомий спосіб моделювання аутоімунного тиреоїдиту у тварин шляхом перорального введення статевозрілим самцям кроликам мерказоліла в дозі 1,5 мг/кг маси тіла, щодня протягом 60 днів [1].

Недоліком відомого способу є те, що мерказоліл, який пригнічує синтез тиреоїдних гормонів, може сприяти формуванню тиреоїдиту з елементами аутоімунного захворювання, проте дана патологія не є класичним аутоімунним процесом.

Найближчим до способу, що заявляється, є спосіб моделювання аутоімунного тиреоїдиту (АІТ) шляхом підшкірного введення статевозрілим щурам як антигенів кон'югатів трийодтироніну (ТЗ), тироксину (Т4) і тиротропін-рилізінг-гормону (ТРГ) з бичачим сироватковим альбуміном (БСА), дворазово (з інтервалом 1 місяць) в дозі 0,6 мг кон'югата на кілограм маси тіла в об'ємі 0,2 мл емульсії, а при повторному введенні - 0,3 мг/кг в тому ж об'ємі [2].

Недоліком відомого способу є те, що застосування кон'югата гормонів з БСА викликає імунну відповідь організму, пов'язану з введенням одного чужорідного білка. Це не дає можливість імуннокомпетентним клітинам реципієнта сформувати імунну відповідь на весь комплекс білків щитовидної залози (у тому числі тиреоглобулін, тиреопероксидазу та рецепторні білки). Усе це призводить до подовження терміну формування моделі.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення способу моделювання аутоімунного тиреоїдиту, який відтворює аутоімунне запалення щитовидної залози з ознаками аутоімунного тиреоїдиту, з підвищеною надійністю моделювання при використуванні тварин різних видів і ліній, зі скороченням часу експерименту.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі моделювання АІТ, який включає підшкірне введення антигенів, згідно з корисною моделлю, як антиген дворазово з інтервалом 10 днів підшкірно вводять гомогенат щитовидної залози в емульсії неповного ад'юванту Фрейнда (НАФ).

Спосіб реалізують таким чином. Експериментальній тварині за допомогою одноразових шприців об'ємом 2 мл, підшкірно, сумісно, одноразово або дворазово з інтервалом 10 днів вводили гомогенат тканини щитовидної залози в дозі від 0,3 мг/кг до 0,8 мг/кг маси тіла тварини в емульсії НАФ в дозі 0,4 мг/кг маси тіла тварини. Формування моделі АІТ спостерігалось через 2-3 тижні і протікало в три фази - тиреотоксичну, псевдоеутиреоїдну і гіпотиреоїдну - в терміни від 3-х до 6-й місяців, що підтверджувалось імунологічними та гормональними дослідженнями.

Приклад

Трьом підгрупам статевозрілих самців і самиць білих щурів здійснювали підшкірну ін'єкцію НАФ в дозі 0,4 мг/кг маси тіла сумісно з гомогенатом тканини щитовидної залози в наступних дозуваннях: I підгрупа - 0,1 мг/кг маси тіла одноразово, II підгрупа - 0,3 мг/кг маси тіла одноразово, III підгрупа - по 0,4 мг/кг маси тіла дворазово з інтервалом 10 днів.

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

Грумінг - елемент зоосоціальної поведінки тварин, що характеризує стан комфортності і є послідовністю моторних актів, які направлені 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 щитовидної залози 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 спостерігалось зниження кількості еозинофілів, паличкоядерних і сегментоядерних клітин.

Таблиця 1

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

Групи тварин	Показники крові					
	Лімфоцити, %	Моноцити, %	Паличкоядерні, %	Сегментоядерні, %	Еозинофіли, %	Лейкоцити, г/л
Інтактні (n=20)	63,0±0,4	2,5±0,1	3,2±0,4	29,1±0,3	2,2±0,1	11,4±0,6
I (n=20)	61,6±0,7	2,2±0,2	3,3±0,2	31,1±0,5	1,8±0,1	12,1±0,4

Продовження таблиці 1

II (n=20)	70,0±0,5*	3,5±0,1	3,4±0,2	23,1±0,6*	2,0±0,3	20,6±0,2*
III (n=20)	91,4±0,3*	2,0±0,2	1,0±0,1*	4,3±0,3*	1,3±0,1*	39,1±0,2*

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

Дані дослідження грумінгової активності приведені в таблиці 2.

- 5 Як видно з таблиці 2, в I підгрупі щурів грумінгова активність помітно не відрізнялась від фізіологічної норми. В підгрупі щурів, яким вводили 0,3 мг/кг маси тіла гомогенат щитовидної залози, знижувалися такі показники як лизання, чесання, обтрушування і час грумінгу. В III підгрупі кількість всіх елементарних грумінгових актів і час грумінгу значно знижувались.

Таблиця 2

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

Групи тварин	Показники грумінгу				Час, с
	Умивання, е.г.а.	Лизання, е.г.а.	Чесання, е.г.а.	Обтрушування, е.г.а.	
Інтактні (n=20)	9,7±0,3	8,4±0,2	7,0±0,3	6,8±0,3	178,2±12,1
I (n=20)	10,0±0,4	9,3±0,3	6,9±0,2	6,1±0,5	183,4±13,4
II (n=20)	8,7±0,2	5,2±0,2*	5,0±0,1*	4,7±0,3*	134,5±10,9*
III (n=20)	5,1±0,3*	2,0±0,6*	0,0±0,0*	3,1±0,1*	92,6±8,1*

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

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

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

Джерела інформації:

1. Пат. SU, № 1252812, A1 G 09 B 23/28. Способ моделирования аутоиммунного тиреоидита/ Харьковский научно-исследовательский институт эндокринологии и химии гормонов- Заявка № 3731757/28-14 от 23.04.1984, Опубл. 23.08.1986. Бюл. № 31.

2. Влияние аутоантител к тиреоидным гормонам на зависимые от тиреоидного статуса физиологические функции у крыс/ Цвиркун Д.В. –М.: 2007. - С. 7-15.

20 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб моделювання аутоімунного тиреоїдиту, що включає підшкірне введення антигенів, який **відрізняється** тим, що як антиген дворазово з інтервалом 10 днів підшкірно вводять гомогенат щитовидної залози в емульсії неповного ад'юванту Фрейнда.

25

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

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

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