

Metodă de modelare a leziunilor de tipul pemfigusului

Olga MACAGONOVA¹, *Gheorghe MUȘET², Adrian COCIUG¹, Mariana JIAN¹,
Vitalie COBZAC¹, Violeta SAREV¹, Viorel NACU¹

¹Laboratorul Inginerie Tisulară și Culturi Celulare, ²Catedra Dermatovenerologie
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu", Chișinău, Republica Moldova

*Autor corespondent: gheorghe.muset@usmf.md

Generalități. Pemfigusul vulgar este o maladie cu extindere la nivel mondial, care variază în funcție de profilul clinic și epidemiologic în diferite regiuni ale lumii. Ținând cont de metodele terapeutice actuale, prognosticul acestei maladii depinde, în primul rând, de răspunsul pacientului la corticosteroizi și complicațiile, care apar în timpul tratamentului îndelungat. Pentru studierea evoluției unei maladii concrete și abordarea unor metode noi de tratament, sunt utilizate animale de laborator, care sunt supuse unor studii preclinice și modelate diferite maladii caracteristice subiecților umani. Pentru modelarea leziunilor de tipul pemfigusului la șobolani, a fost propusă administrarea complexului de vitamine "Tetravit" (soluție sterilă, preparatul complex cu conținut de vitamine la 1 cm³ soluție: A – 50000 ME; D₃ – 25000 ME; E – 20 mg și F – 5 mg, per. №: PIBP-2-4.0/00453 от 15.03.2008, OCT 12.1.007-76, NITA-FARM, Rusia, data producerii 2015, termen de valabilitate 2 ani) și glicerinei sterile (HIMEDIA Laboratories Pvt. Ltd. Company certified for ISO 9001, 2006, LOT 0000209941, data producerii 2015, termen de valabilitate 3 ani) în calitate de adjuvanți ai fracției 5 (soluție cu antigen din mucoasa esofagului de bovine).

Scopul lucrării. Crearea unui model experimental de tipul pemfigusului, pe șobolani, apropiat de leziuni analogice la om.

Material, metode și rezultate. În calitate de obiect de studiu au servit 30 de șobolani, linia Wistar, cu vârsta de 5-6 luni și masa de $275,7 \pm 7,1$ (n=30). Ca sursă pentru prepararea extractului proteic, a fost utilizat țesut esofagian, obținut de la bovine (n=3). Concentrația extractului obținut a fost evaluată prin examen biochimic și metoda Lowry. Pentru imunizare, 0,1 ml de fracția 5 a extractului etanolic de proteine din mucoasa de bovină (BEM-F5), cu concentrația proteică de $4,5 \pm 0,32$ mg/ml, a fost amestecat cu un volum egal de soluție de glicerină și vitamine. Mixtura a fost injectată intradermal, timp de 8 luni, la fiecare 14 zile. Afecțiunile s-au remarcat prin apariția leziunilor bulos-erozive (2-3, negrupate, preponderent în locurile injectărilor efectuate) cu diametrul de $0,9 \pm 0,07$ cm. În lotul martor (injectat NaCl 0,9%), nu au fost depistate leziuni. Afecțiunile cutanate, organele interne au fost evaluate prin metode morfologice. S-a constatat îngroșarea și detașarea epidermei cu infiltrat leuco-limfocitar al regiunii restante, detrit necrotic în derm și hipoderm, proliferarea intensă a fibroblastelor la periferia focarului, hemoragii interstițiale. Evaluarea scorului pemfigusului, estimată la fiecare 2 săptămâni, a fost realizată prin calcularea ariilor afectate și a gradului pierderii greutatei corporale, care a constituit $5,25 \pm 1,3$. Scorul maxim total a fost 11.

Concluzii. Utilizarea amestecului de glicerină, vitamine și antigen, obținut din esofagul de bovine, prelungeste acțiunea lui în organism, ceea ce favorizează amplificarea efectului imun al antigenului introdus intradermal și crearea unui model experimental de tipul pemfigusului, pe șobolani, care poate fi utilizat pentru evaluarea maladiei și testarea unor metode inovative de tratament.

Cuvinte-cheie: pemfigus, modelare experimentală, șobolani.

Modelling method of the pemphigus-like lesions

Overview. Pemphigus vulgaris is a disease with a global expansion and varies depending on the clinical and epidemiological profile in different regions of the world. In current conditions of therapy, the prognosis of this disease, primarily depends on the patient's response to corticosteroids and complications that appear from the long-term treatment. To study the evolution of a specific disease and the approach to new methods of treatment the laboratory animals are used as the preclinical studies are performed on them and various diseases characteristic to humans are modelied. In order to model the pemphigus-like lesions in rats, it was proposed the administration of the vitamin complex "Tetravit" (a sterile preparation containing the vitamin complex, to 1 cm³ of the solution: A – 50000 ME, D3 – 25000 ME, E – 20 mg and F – 5 mg, per. №: IIBP-2-4.0 / 00453 from 15.03.2008, OCT 12.1.007-76, NITA-FARM, Russia, date of 2015, the term of validity 2 years) and sterile glycerol (HIMEDIA Laboratories Pvt. Ltd Company certified for ISO 9001: 2006, LOT 0000209941, date of 2015, valid for 3 years) as adjuvants of 5 fraction (solution of the antigen from mucosa esophagus of the bovine). The purpose was to create a pemphigus-like model, in rats, similar to analogical lesions in humans.

Material, methods and results. As the object of study there were used 30 rats of the Wistar's line, 5-6 months of age and body weight 275.7 ± 7.1 (n = 30). As a source for the preparation of the protein extract was used esophageal tissue obtained from bovine (n = 3). The concentration of the obtained extract was evaluated by the Lowry method and biochemical examination. For immunization, 0.1 ml of the ethanolic protein extract of fraction 5 of the bovine mucous membrane (BEM-F5) with the concentration 4.5 ± 0.32 mg / ml, was mixed with the equal volume of glycerol and vitamins. The mixture was injected intradermally, for 8 months, every 14 days. The affections were marked by the appearance of bullous-erosive lesions (2-3, non-pooled mainly in places of the injections performed) with dimensions of 0.9 ± 0.07 cm in diameter, in the control group (injected NaCl 0,9%) the lesions were not detected. The skin lesions, internal organs were studied by morphological methods, there were highlighted: thickening and epidermis detachment, with the leuco-lymphocytes infiltrate of the remaining region, dendrite necrotic in dermis and hypodermis, intense proliferation of fibroblasts at the periphery of the outbreak, interstitial hemorrhage. Assessing of the pemphigus score, estimated every two weeks, was performed by calculating of the number of affected areas and the degree of loss of the body weight, which constituted 5.25 ± 1.3 . The maximum total score was 11.

Conclusion. The use of the mixture of glycerin, vitamins and the antigen obtained from the esophagus of bovine, prolongs the action in the body, which favors the amplification of the immunological effect of the antigen introduced intradermally and creating of an experimental pemphigus-like model on the rats, which can be used for the study of the disease and testing of the innovative treatment methods.

Key words: pemphigus, experimental modelling, rats.