



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **86784**

(13) **U**

(51) МПК

A01K 67/02 (2006.01)

A61K 31/375 (2006.01)

A61K 31/095 (2006.01)

A61K 31/70 (2006.01)

A61K 33/04 (2006.01)

A61K 31/355 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 08800**

(22) Дата подання заявки: **15.07.2013**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.01.2014**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.01.2014, Бюл.№ 1**

(72) Винахідник(и):

Гутий Богдан Володимирович (UA),

Гуфрій Дмитро Федорович (UA),

Харів Іван Іванович (UA),

Гута Зоряна Антонівна (UA),

Мартішук Тетяна Василівна (UA),

Мурська Світлана Дмитрівна (UA),

Харів Марія Іванівна (UA),

Кириловська Іванна Володимирівна (UA)

(73) Власник(и):

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ

УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ

МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМ. С.З.

ГЖИЦЬКОГО,

вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010 (UA)

(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ СТАНУ ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У МОЛОДНЯКУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ПРИ ГОСТРОМУ НІТРАТНО-НІТРИТНОМУ ТОКСИКОЗІ

(57) Реферат:

Спосіб корекції стану глутатіонової системи антиоксидантного захисту у молодняку великої рогатої худоби при гострому нітратно-нітритному токсикозі включає внутрішньовенне введення аскорбінової кислоти в дозі 0,03 г/кг маси тіла розчиненої у 200 мл 5 % розчину глюкози протягом 2-х діб поспіль через кожні 6 годин. Одночасно з аскорбіновою кислотою додатково вводять внутрішньом'язово Селевіт у дозі 5 мл/тварину.

UA 86784 U

Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, зокрема ветеринарної фармакології, а саме до способів корекції стану глутатіонової системи антиоксидантного захисту у молодняку великої рогатої худоби при гострому нітратно-нітритному токсикозі.

Заявлений спосіб може бути використаний у господарствах із різними формами власності, що вирощують і утримують молодняк великої рогатої худоби в умовах нітратного навантаження, тобто при підвищенні рівня нітратів і нітритів у кормах і воді.

Відомі способи лікування сільськогосподарських тварин при нітратному отруєнні (Винярска А.В. Ефективність використання тетравіту при нітратно-нітритних навантаженнях тільних корів // Наук. - техн. бюл. Ін-ту біол. тварин. - Львів, 2006. - С. 62-66; Гунчак В.М. Застосування метіоніну для зменшення токсичної дії нітратів // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Ґжицького. - Львів, 2004. - Т. 6, № 3, Ч. 1. - С. 84-88; Методичні рекомендації з профілактики, діагностики та лікування тварин при отруєнні нітратами і нітритами. - Харків, 2001. - 58 с.; Хмельницький Г.О., Вовк Д.М., Панько М.Ф. Тривале згодовування підвищених доз нітратів та клініко-біохімічний статус організму нетелів // Вісник с. - г. науки. - 1986. - № 12. - С. 58-60; Внутрішні хвороби тварин / В.І. Левченко, І.П. Кондрахін, В.В. Влізло та ін.; За ред. В.І. Левченка. - Біла Церква, 2001. - Ч. 2. - 544 с.; Мусієнко М.Т. Особливості хронічного нітратного токсикозу корів // Наук. вісн. НАУ. - К., 2002. - № 55. - С. 120-123), в яких використовуються різні біологічно активні речовини, які гальмують надходження токсичних нітратних сполук з шлунково-кишкового тракту в кров, сприяють виведенню нітратних сполук з організму, а також нейтралізують продукти порушеного обміну речовин і забезпечують видужання тварин, які отруїлися нітратними сполуками.

Недоліком цих способів є мала ефективність виведення ксенобіотиків з організму у початковій стадії токсикозу і недостатня корекція глутатіонової системи антиоксидантного захисту організму молодняку великої рогатої худоби.

Найбільш близьким по суті до способу, що заявляється, є спосіб лікування жуйних при нітратних токсикозах (Деклараційний патент України на корисну модель № 64847 Старик Л.І., Гуфрій Д.Ф., Гутий Б.В. "Спосіб корекції стану антиоксидантного захисту у молодняку великої рогатої худоби при нітратних навантаженнях"). Відомий спосіб включає внутрішньовенне введення аскорбінової кислоти в дозі 0,03 г/кг, розчиненої у 200 мл 5 %-ного розчину глюкози впродовж двох діб через кожні шість годин та внутрішньом'язове введення тіаміну хлориду в дозі 0,003 г/кг розчиненому у 10 мл 5 % розчину глюкози. Даний спосіб забезпечує видужання 72 % хворих тварин у завершальній стадії токсикозу. Відомий спосіб сприяє корекції показників системи антиоксидантного захисту при нітратних навантаженнях. Спосіб базується на здатності аскорбінової кислоти прискорювати перебіг окисно-відновних процесів в організмі і сприяє перетворенню метгемоглобіну, що утворюється при отруєнні тварин нітратами, в гемоглобін у декомпенсаторній стадії токсикозу.

Заявлений спосіб і прототип мають суттєві спільні ознаки: обидва способи включають внутрішньовенне введення аскорбінової кислоти в дозі 0,03 г/кг маси тіла, розчиненої у 200 мл 5 % розчину глюкози протягом 2-х діб поспіль через кожні 6 годин.

Недоліком відомого способу є недостатня корекція глутатіонової системи антиоксидантного захисту та інтенсивності перекисного окиснення ліпідів, які відіграють важливе значення у патогенезі гострого нітратно-нітритного токсикозу.

Заявлений нами спосіб усуває вказані недоліки прототипу і забезпечує високу ефективність видужання тварин (до 85 % від загальної кількості хворих) шляхом активізації відновлення рівноваги функцій глутатіонової системи антиоксидантного захисту та інтенсивності перекисного окиснення ліпідів у крові молодняку великої рогатої худоби. Таким чином, запропонований спосіб сприяє корекції глутатіонової системи антиоксидантного захисту організму молодняку великої рогатої худоби, а це, у свою чергу, прискорює видужання хворих і потребує менших економічних затрат на їх лікування.

В основу корисної моделі поставлено задачу - розробити ефективний спосіб корекції стану глутатіонової системи антиоксидантного захисту у молодняку великої рогатої худоби при гострому нітратно-нітритному токсикозі, простий та доступний у застосуванні, економічно вигідний для господарств, в якому він застосовується.

Технічний результат досягається тим, що одночасно з аскорбіновою кислотою додатково вводять внутрішньом'язово Селевіт у дозі 5 мл/тварину.

Одержання технічного результату у заявленому способі пов'язано з наступним. Дія нітритів на організм тварин супроводжується утворенням в крові метгемоглобіну, де двохвалентне залізо гемоглобіну окиснюється до тривалентного. Процес окиснення гемоглобіну реалізується через взаємодію його оксиформи з нітрит-іоном по ланцюговому шляху. При окисненні гемоглобіну утворюється цілий ряд радикальних метаболітів, які є активними окисниками

біологічних субстратів, надають виражену цитотоксичну дію, ініціюють процеси перекисного окиснення ліпідів.

Даному патологічному процесу запобігає багатокомпонентна система антиоксидантного захисту організму. Велику роль відіграє глутатіонова система (глутатіон, глутатіонредуктаза, глутатіонпероксидаза, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа).

Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа - пусковий ензим пентозофосфатного циклу окиснення вуглеводів як джерела відновленої форми NADPH та пентозних основ для синтезу нуклеїнових кислот.

Глутатіонредуктаза входить до складу глутатіонової системи антиоксидантного захисту. Даний фермент не каталізує знешкодження радикалів кисню та продуктів пероксидації ліпідів, проте активність глутатіонової системи антиоксидантного захисту у значній мірі залежить від інтенсивності відновлення глутатіону. Глутатіонредуктаза забезпечує відновлення глутатіону за допомогою NADPH·H, NADPH, що виступають донорами водню.

Глутатіонпероксидаза - каталізує розклад гідроперекисів ліпідів нерадикальним шляхом за допомогою глутатіону відновленого, а саме каталізує розпад перекису водню і окиснює глутатіон. Глутатіонпероксидаза разом з іншими антиоксидантами сприяє видаленню первинних продуктів частково редукованого кисню.

Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа - пусковий ензим пентозофосфатного циклу окиснення вуглеводів як джерела відновленої форми NADPH та пентозних основ для синтезу нуклеїнових кислот.

Технічний результат заявленого способу обумовлений одночасним парентеральним використанням вітамінних препаратів Селевіту і аскорбінової кислоти, розведеної у 5 % розчині глюкози. Механізмом впливу цих препаратів на організм молодняку великої рогатої худоби за нітратного навантаження та роллю цих препаратів у процесах обміну речовин і, зокрема, впливом їх на стан глутатіонової системи антиоксидантного захисту. Так, аскорбінова кислота є важливим антиоксидантом та імуностимулятором, що сприяє підвищенню опірності організму до різних захворювань, зокрема до токсикозів різної етіології. Відіграє велике значення в синтезі кортикостероїдних гормонів і гормонів щитовидної залози, відповідальних за стійкість і адаптацію організму до умов зовнішнього середовища, що змінюються. Покращує метаболізм ліпідів, сприяючи нормалізації обміну холестерину. Цей вітамін нормалізує порушення синтетичних і енергетичних процесів, покращує діяльність печінки, приймає участь у всіх ланках обміну речовин, синтезі адреналіну, інсуліну, глікогену, знешкодженні токсичних речовин. Вітамін С разом із продуктом окиснення дегідраскорбіновою кислотою утворюють окисно-відновну систему, яка бере участь у відновленні різних біосубстратів, впливає на синтез нуклеїнових кислот, обмін амінокислот, кровотворення, зменшує проникливість стінок судин.

Глюкоза забезпечує субстратне поповнення енерговитрат організму. 5 % розчин глюкози ізотонічний відносно плазми крові і при його внутрішньовенному введенні добре поповнює об'єм циркулюючої крові при її втраті. Низька осмолярність розчину дозволяє використовувати його як розчинник лікарських засобів для парентерального застосування за умови їхньої хімічної сумісності. Енергетична цінність 1 л розчину глюкози 5 % становить 170 ккал.

Селевіт у своєму складі містить токоферолу ацетат та селеніт натрію. Механізм фармакологічної дії його полягає у тому, що він запобігає окисненню жирів, жирних кислот і стеринів, діє як прямий антиоксидант. Селен - є потужним антиоксидантом, який перешкоджає окисненню клітинних мембран, не допускаючи дегенеративних змін найважливіших біомолекул клітин, і сповільнює тим самим, процеси старіння організму. Селен збільшує утворення й активність таких захисників імунної системи, як Т-лімфоцитів, антитіл, макрофагів, інтерферону. Селен допомагає зберігати еластичність тканин тіла, перешкоджає старінню волокон. Селен захищає організм від вільних радикалів, вірусів, бактеріологічних інфекцій, діє проти хімічних алергій. Селен має захисну дію на імунну систему, запобігаючи формуванню і знижуючи рівень вільних радикалів, що негативно впливають на організм; контролює життєвий цикл клітин, володіє протизапальними властивостями, забезпечує захист від серцево-судинних та ендокринних захворювань.

Токоферол захищають мембрани клітин від руйнування. Вони мають найбільшу здатність стабілізувати мембрани і утворювати комплекси з жирними кислотами, що забезпечує високу стійкість мембран до вільнорадикального окиснення. Токоферол з фосфоліпідами клітинних мембран утворює стабільні комплекси, які забезпечують функціональний стан епітелію слизових оболонок матки, бронхів, кишечника, шкіри та підвищують бар'єрну функцію проти проникнення бактеріальних і вірусних інфекцій. Також вони проявляють антиоксидантну дію завдяки здатності захоплювати неспарені електрони активних форм кисню та пероксидних радикалів.

Вітамін Е і селен є синергістами (діють спільно). Це означає, що разом вони сильніші, ніж сума рівних частин.

Таким чином наведені інформативні відомості пояснюють технічний результат заявленого способу підтверджуючи його ефективність і об'єктивність.

При проведенні патентно-інформаційного пошуку авторами і заявником виявлено технічне рішення (Деклараційний патент України на корисну модель № 64847 Старик Л.І., Гуфрій Д.Ф., Гутий Б.В. "Спосіб корекції стану антиоксидантного захисту у молодняку великої рогатої худоби при нітратних навантаженнях"), що містить найбільшу кількість суттєвих ознак, спільних із заявленим способом. Спосіб включає внутрішньовенне введення аскорбінової кислоти в дозі 0,03 г/кг маси тіла, розчиненої у 200 мл 5 % розчину глюкози протягом 2-х діб поспіль через кожні 6 годин.

Але наявність зазначених, спільних із прототипом ознак недостатня для одержання технічного результату, який забезпечує заявлений спосіб.

Технічних рішень, які б за сукупністю ознак повністю б співпадали із заявленим, не виявлено.

Це дозволяє зробити висновок про відповідність заявленого технічного рішення критерію корисної моделі "новизна".

В патентній і науково-технічній літературі не знайдено технічних рішень, в яких були б описані відомості про ознаки, що відрізняють заявлений спосіб від прототипу і забезпечують досягнення технічного результату тим, що одночасно з аскорбіновою кислотою додатково вводять внутрішньом'язово Селевіт у дозі 5 мл/тварину.

Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, зокрема ветеринарної фармакології, а саме до способів корекції стану ферментної системи антиоксидантного захисту у молодняку великої рогатої худоби при гострому нітратно-нітритному токсикозі. Заявлений спосіб може бути використаний у господарствах із різними формами власності, що вирощують молодняк великої рогатої худоби в умовах натрієвого навантаження, тобто при підвищенні рівня нітратів у кормах, а тому відповідає критерію корисної моделі "промислова придатність".

Отже, заявлене технічне рішення є новим, є промислово придатним, тобто відповідає всім умовам патентоспроможності відповідно до статті 7 розділу II "Закону України про охорону прав на винаходи і корисні моделі" № 1771-III, 2000.

Реалізацію заявленого способу здійснюють у такий спосіб. У господарствах, в яких молодняк великої рогатої худоби хворіє на нітратно-нітритний токсикоз, лікування проводять застосуванням вітамінних препаратів.

У день постановки діагнозу на нітратно-нітритний токсикоз вводять Селевіт у дозі 5 мл/тварину (внутрішньом'язово) та аскорбінову кислоту (0,03 г/кг) розчиненої у 200 мл 5 % розчину глюкози (внутрішньовенно) чотири рази на добу протягом двох діб.

Ефективність заявленого способу та його переваги перед прототипом підтверджені прикладом конкретного виконання.

У навчально-науково-виробничому центрі "Комарнівський" Городоцького району, Львівської області було відібрано 15 телят шестимісячного віку, яким створювали штучне навантаження нітратами, згодовуючи одноразово нітрат натрію у дозі 0,35 г NO_3^- /кг маси тіла тварин. За принципом аналогів тварини були поділені на 3 групи по 5 тварин у кожній (контрольну і дві дослідні).

Схема досліджень виглядала наступним чином.

Контрольна група - бички знаходились на раціоні, згідно з нормами ВІТА.

Перша дослідна група (D_1) - прототип. Бичкам згодовували один раз з кормом нітрат натрію у дозі 0,35 г NO_3^- /кг маси тіла, через 3 години вводили аскорбінову кислоту в/в у дозі 0,03 г/кг з 200 мл 5 % розчину глюкози

Друга дослідна група (D_2) - новий спосіб. Бичкам згодовували один раз з кормом нітрат натрію у дозі 0,35 г NO_3^- /кг маси тіла, через 3 години в/м ввели Селевіт у дозі 5 мл/тварину та в/в аскорбінову кислоту (0,03 г/кг) розчиненої у 200 мл 5 % розчину глюкози.

Матеріалом для дослідження слугувала кров. З яремної вени венозну кров відбирали на початку досліду та через 3 години після згодовування бичкам нітрату натрію, а також через 1, 2, 3, 6, 9, 12 годин після введення вітамінних препаратів. В крові бичків визначали активність глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, рівень дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду.

Одержані показники активності ферментів як дослідних так і контрольної груп подані у таблиці.

Таблиця

Активність ферментів глутатіонової системи антиоксидантного захисту та рівень продуктів перекисного окиснення ліпідів у крові бичків за розвитку гострого нітратно-нітритного токсикозу, ($M \pm m$, $n=5$)

Групи тварин	До згодовування нітрату натрію	Після згодовування нітрату натрію	Після введення вітамінних препаратів					
		Третя година	Перша година	Друга година	Третя година	Шоста година	Дев'ята година	Дванадцята година
Активність глутатіонредуктази, нмоль NADPH/хв на 1 мг білка								
К	1,59±0,050	1,69±0,060	1,37±0,050	1,34±0,042	1,30±0,025	1,35±0,033	1,42±0,043	1,46±0,045
Д ₁	1,58±0,055	1,63±0,065	1,39±0,055	1,40±0,045	1,43±0,050*	1,45±0,046*	1,48±0,058	1,53±0,061
Д ₂	1,59±0,050	1,68±0,060	1,43±0,050	1,47±0,045	1,49±0,048**	1,52±0,060*	1,55±0,055	1,58±0,064
Активність глутатіонпероксидази, нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка								
К	37,1±1,5	38,4±1,5	34,2±1,2	31,6±1,2	29,5±1,1	34,6±1,3	35,5±1,4	36,2±1,4
Д ₁	37,2±1,2	38,2±1,4	34,4±1,6	33,8±1,5	34,8±1,4**	35,2±1,5	35,5±1,4	36,4±1,4
Д ₂	37,1±1,3	38,3±1,5	34,6±1,5	35,1±2,5	35,3±1,6**	35,9±1,4	36,5±1,5	37,1±1,6
Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, нмоль NADPH/хв на 1 мг білка								
К	0,73±0,025	0,62±0,025	0,53±0,021	0,50±0,020	0,48±0,017	0,52±0,017	0,56±0,019	0,60±0,021
Д ₁	0,75±0,023	0,60±0,023	0,55±0,022	0,56±0,021*	0,59±0,021***	0,61±0,023**	0,54±0,024*	0,67±0,024*
Д ₂	0,74±0,024	0,61±0,025	0,56±0,021	0,60±0,023**	0,63±0,022***	0,67±0,023***	0,71±0,025***	0,74±0,025***
Рівень дієнових кон'югатів, мкмоль/л								
К	5,83±0,19	7,27±0,24	7,35±0,26	7,61±0,28	7,86±0,25	8,25±0,30	8,12±0,28	7,99±0,26
Д ₁	5,83±0,18	7,25±0,25	7,21±0,26	7,13±0,27	6,86±0,24**	6,56±0,21***	6,41±0,21***	6,17±0,20****
Д ₂	5,84±0,19	7,25±0,24	7,10±0,27	6,88±0,25*	6,61±0,24***	6,45±0,21****	6,21±0,22*****	6,02±0,19***
Рівень малонового діальдегіду, мкмоль/л								
К	0,250±0,012	0,285±0,012	0,294±0,012	0,305±0,013	0,312±0,014	0,328±0,014	0,323±0,013	0,318±0,013
Д ₁	0,246±0,011	0,282±0,013	0,286±0,013	0,278±0,013	0,272±0,012*	0,269±0,010***	0,264±0,010***	0,259±0,011***
Д ₂	0,248±0,012	0,279±0,012	0,280±0,013	0,271±0,012	0,264±0,012*	0,259±0,011***	0,256±0,010***	0,255±0,010***

Результати досліджень, що наведені в таблиці, свідчать, що застосування вітамінних препаратів за умов розвитку гострого нітратно-нітритного токсикозу бичків сприяло підвищенню активності ферментів глутатіонової системи антиоксидантного захисту (глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази) у крові дослідних тварин, крім того аскорбінова кислота з Селевітом проявляла кращу дію на глутатіонову систему антиоксидантного захисту організму бичків.

Отже, біохімічні показники крові лікованих телят, наведені в таблиці свідчать, що за умов гострого нітратно-нітритного токсикозу, сукупне застосування аскорбінової кислоти з Селевітом проявляє кращу лікувальну ефективність та нормалізуючу функцію на глутатіонову систему антиоксидантного захисту організму телят. Терапевтична ефективність способу підтверджується тим, що застосування Селевіту разом із аскорбіновою кислотою сприяє нормалізації активності глутатіонової системи антиоксидантного захисту організму бичків, починаючи з 6-ої години досліду, тоді як застосування бичкам тільки аскорбінової кислоти, сприяє нормалізації активності ферментної системи лише на 9- і 12-ту доби досліду. Застосування бичками Селевіту сприяло кращій пригнічуючій дії на процеси перекисного окиснення ліпідів, на що вказує низький рівень дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду у крові дослідних бичків.

Отже, результати досліджень, одержані в прикладі конкретного виконання способу підтверджують його ефективність.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5 Спосіб корекції стану глутатіонової системи антиоксидантного захисту у молодняку великої рогатої худоби при гострому нітратно-нітритному токсикозі, який включає внутрішньовенне введення аскорбінової кислоти в дозі 0,03 г/кг маси тіла, розчиненої у 200 мл 5 % розчину глюкози протягом 2-х діб поспіль через кожні 6 годин, який **відрізняється** тим, що одночасно з аскорбіновою кислотою додатково вводять внутрішньом'язово Селевіт у дозі 5 мл/тварину.

10

Комп'ютерна верстка С. Чулій

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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