



УКРАЇНА

(19) UA (11) 53222 (13) U
(51) МПК (2009)
G09B 23/00
G01N 33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ СТВОРЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ МОДЕЛІ СТАНУ МЕТАБОЛІЧНОГО АЦИДОЗУ У ЩУРІВ ПІСЛЯ ОТРУЄННЯ КАДМІЮ СУЛЬФАТОМ У ДИНАМІЦІ

1

2

(21) u201004651

(22) 20.04.2010

(24) 27.09.2010

(46) 27.09.2010, Бюл.№ 18, 2010 р.

(72) МЕЛЬНИЧУК ДМИТРО ОЛЕКСІЙОВИЧ, МЕЛЬНИКОВА НЕЛЯ МИКОЛАЇВНА, ВОРОШИЛОВА НАТАЛІЯ МИХАЙЛІВНА

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

(57) Спосіб створення біологічної моделі стану метаболічного ацидозу у щурів після отруєння кадмію сульфатом у динаміці, що включає розведення, утримання та годівлю лабораторних тварин

та введення їм внутрішньочеревно токсиканту, який **відрізняється** тим, що тваринам упродовж перших 7 діб внутрішньочеревно вводять кадмію сульфат, який попередньо розчиняють в 0,9% розчині натрію хлориду, з розрахунку 0,134мг/100г маси тіла тварини (що становить 1/50 LD₅₀) та амонію хлорид з розрахунку 20мг/100г маси тіла тварини, при цьому щурам інтактною групи за схемою досліду вводять 0,9% розчин натрію хлориду та упродовж наступних 7 діб моделюють стан експериментального метаболічного ацидозу шляхом внутрішньочеревного введення амонію хлориду з розрахунку 35мг/100г маси тіла тварини.

Корисна модель відноситься до біохімії, клінічної біохімії, токсикології, ветеринарної медицини і може бути використана з метою створення біологічних моделей для проведення медико-біологічних досліджень.

Сполуки важких металів, до яких відноситься і кадмій, є найбільш поширеними причинами екологічно обумовленої та професійної патології. Це обумовлено тим, що у сучасних умовах техногенне забруднення довкілля кадмієм, у зв'язку з широким розвитком автомобільної індустрії і використанням автотранспорту та його промисловим застосуванням, досить значне, та чинить несприятливу дію на здоров'я людей. Завдяки наявності у повітрі одночасно з кадмієм сполук інших металів і хімічних забруднювачів створюється ефект біологічної сумації їхнього впливу і таким чином поглиблюється несприятлива дія цього комплексу на організм. Кадмій в організмі накопичується переважно в нирках та печінці у вигляді комплексів з білками, які беруть участь у ферментативних процесах. Відомо, що кадмій здатний утворювати комплекси з високомолекулярними сполуками, блокувати сульфгідрильні групи, внаслідок чого порушуються

ферментативні реакції, накопичуються продукти обміну, порушуються окисно-відновні процеси, змінюється рН середовища. Його токсична дія заснована на зв'язуванні SH-групи цистеїнових залишків у білках та інгібуванні SH-ферментів. Тому розробка методів профілактики несприятливого впливу сполук кадмію на організм як тварини, так і людини є однією з найбільш актуальних проблем сучасної біохімії.

Нині відомий спосіб створення біологічної моделі стану метаболічного ацидозу у щурів після отруєння кадмію сульфатом патент на КМ №31452 Спосіб створення біологічної моделі стану метаболічного ацидозу у щурів після отруєння кадмію сульфатом / опубл. 10.04.2008, бюл. №7), що передбачає упродовж перших 14 діб внутрішньочеревне введення кадмію сульфату, який попередньо розчиняють в 0,9% розчині натрію хлориду, з розрахунку 0,134мг/100г маси тіла тварини (що становить 1/50 LD₅₀), упродовж наступних 14 діб моделювання стану експериментального метаболічного ацидозу шляхом внутрішньочеревного введення амонію хлориду з розрахунку 20мг/100г маси тіла тварини.

(13) U

(11) 53222

(19) UA

До недоліків зазначеного раніше способу можна віднести те, що показана експериментальна модель стану метаболічного ацидозу у щурів після отруєння кадмію сульфатом з тривалим періодом часу та відсутністю глибокої характеристики кислотного навантаження щурів у динаміці.

Корисною моделлю ставиться завдання створення найбільш оптимальної біологічної моделі адаптаційних можливостей отруєного важкими металами організму тварин в умовах посилення ацидотичного стану в значно короткий проміжок часу.

Поставлене корисною моделлю завдання досягається тим, що у способі створення біологічної моделі, що включає розведення, утримання та годівлю лабораторних тварин та введення їм внутрішньочеревне токсиканту, ряслю згідно корисної моделі, тваринам упродовж перших 7 діб внутрішньочеревне вводять кадмію сульфат, який попередньо розчиняють в 0,9% розчині натрію хлориду, з розрахунку 0,134мг/100г маси тіла тварини (що становить 1/50 LD₅₀) та амонію хлорид з розрахунку 20мг/100г маси тіла тварини. Щурам інтактної групи за схемою дослідів вводять 0,9% розчин натрію хлорид. Упродовж наступних 7 діб моделюють стан експериментального метаболічного ацидозу шляхом внутрішньочеревного введення амонію хлориду з розрахунку 35мг/100г маси тіла тварини.

Порівняльний аналіз запропонованого способу з відомими показує, що створення біологічної моделі адаптаційних можливостей отруєного важкими металами організму в умовах посилення ацидотичного стану в подальшому може використовуватися для корекції вмісту кадмію в організмі отруєних тварин, які перебувають на забруднених ним територіях.

Ефективність використання запропонованого способу перевірили в умовах віварію кафедри біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської

продукції Національного аграрного університету на білих безпородних щурах. Упродовж перших 7 діб внутрішньочеревне вводили кадмію сульфат, який попередньо розчиняли в 0,9% розчині натрію хлориду, з розрахунку 0,134мг/100г маси тіла тварини (що становить 1/50 LD₅₀) та амонію хлорид з розрахунку 20мг/100г маси тіла тварини. Щурам інтактної групи за схемою дослідів вводили 0,9% розчин натрію хлорид. Упродовж наступних 7 діб моделювали стан експериментального метаболічного ацидозу шляхом внутрішньочеревного введення амонію хлориду з розрахунку 35мг/100г маси тіла тварини. Після закінчення дослідів кров відбирали в гепаринизовані капіляри і визначали показники кислотно-лужного стану на мікроаналізаторі Blood Gas Analyzer "Radelkis" (Угорщина).

Відомо, що у компенсаторних механізмах в отруєному важкими металами організмі постійно відбувається перехід кислих і лужних еквівалентів із крові в тканини. Це дає підстави для дослідження у динаміці показників кислотно-лужного стану та створенню експериментальне класичного стану метаболічного ацидозу у тварин. На 7 добу експерименту в крові щурів, які отримували амонію хлорид (табл.1) встановлено тенденцію до зменшення величини рН, рівня рСО₂, рСО₂, [НСО₃], СО₂ заг., порівняно з інтактними тваринами. В крові щурів, отруєних кадмію сульфатом, спостерігається тенденція до збільшення величини рН, рівня рСО₂, рСО₂, [НСО₃], СО₂ заг., порівняно з інтактними тваринами. Відомо, що кадмій має лужні властивості, тому, можливо, первинна активація гліколізу сприяє переходу окисно-відновних ферментів клітин у відновлений стан та залужуванню крові, що і виражається розвитком алкалозного стану у тварин. У щурів, отруєних кадмієм з додаванням амонію хлориду, на 7 добу експерименту вірогідних змін показників кислотно-лужного стану крові не встановлено, порівняно з тваринами, отруєних кадмію сульфатом.

Таблиця 1

Показники кислотно-лужного стану крові щурів, отруєних кадмію сульфатом, та за умов його змін на 7 добу експерименту (гострий перебіг), (M±m, n=10)

Показники	Групи тварин			
	інтактні тварини	тварини, що отримували NH ₄ Cl	тварини, отруєні CdSO ₄	CdSO ₄ +NH ₄ Cl
рН	7,32±0,03	7,28±0,05	7,35±0,06	7,30±0,05
РСО ₂ , мм.рт.ст.	30,50±2,14	27,20±1,90	32,55±2,28	28,18±1,55
РО ₂ , мм.рт.ст.	68,20±4,77	65,15±4,56	70,12±4,91	63,20±3,72
[НСО ₃], ммоль/л	18,40±1,29	17,18±1,20	20,30±1,42	17,40±1,22
СО ₂ заг., ммоль/л	20,22±1,42	17,20±1,20*	22,20±1,55	20,15±1,25
ЗБО, ммоль/л	-5,20±0,36	-7,22±0,51*	-6,20±0,43*	-7,20±0,71

Примітка. * - зміни вірогідні відносно показників інтактних щурів (P<0,05);

** - зміни вірогідні відносно показників щурів, отруєних кадмію сульфатом (P<0,05).

На 14 добу експерименту (табл.2) у щурів, які отримували амонію хлорид, відзначається вірогідне зниження показників кислотно-лужного стану крові, порівняно з аналогічними 7-ої доби експе-

рименту. Встановлено зниження величини рН, рівня рСО₂ на 23,9%, [НСО₃] - на 16,3%, СО₂ заг., - на 17%, порівняно з інтактними тваринами.

Таблиця 2

Показники кислотно-лужного стану крові щурів, отруєних кадмію сульфатом, та за умов його змін на 14 добу експерименту (хронічний перебіг), ($M \pm m$, $n=10$)

Показники	Групи тварин			
	інтактні тварини	тварини, що отримували NH_4Cl	тварини, отруєні CdSO_4	$\text{CdSO}_4 + \text{NH}_4\text{Cl}$
pH	$7,32 \pm 0,03$	$7,19 \pm 0,04$	$7,25 \pm 0,06$	$7,20 \pm 0,05$
PCO_2 , мм.рт.ст.	$30,50 \pm 2,14$	$23,20 \pm 1,62^*$	$22,15 \pm 1,55^*$	$18,20 \pm 1,25^{**}$
pO_2 , мм.рт.ст.	$68,20 \pm 4,77$	$58,50 \pm 4,10$	$56,30 \pm 3,95^*$	$50,20 \pm 3,50$
$[\text{HCO}_3^-]$, ммоль/л	$18,40 \pm 1,29$	$15,40 \pm 1,08^*$	$14,70 \pm 1,10^*$	$10,70 \pm 0,85^{**}$
CO_2 заг., ммоль/л	$20,22 \pm 1,42$	$16,80 \pm 1,20^*$	$15,80 \pm 1,12^*$	$12,40 \pm 0,88^{**}$
ЗБО, ммоль/л	$-5,20 \pm 0,36$	$-6,20 \pm 0,43^*$	$-10,20 \pm 0,71^*$	$-12,70 \pm 0,90^{**}$

Примітка. * - зміни вірогідні відносно показників інтактних щурів ($P < 0,05$);

** - зміни вірогідні відносно показників щурів, отруєних кадмію сульфатом ($P < 0,05$).

Також вірогідні зміни відзначаються в крові щурів, отруєних кадмію сульфатом. Знижується величина pH крові, рівень pCO_2 на 27,4%, pO_2 - на 17,4%, $[\text{HCO}_3^-]$ - на 20%, CO_2 заг. - на 22%, порівняно з інтактними тваринами. Про дефіцит буферних основ крові свідчить зміна показника ЗБО ($-10,20 \pm 0,71$), порівняно з цим показником у інтактних тварин ($-5,20 \pm 0,36$).

В організмі щурів, отруєних кадмієм з додаванням амонію хлориду, відзначається вірогідне зниження величини pH крові, рівня pCO_2 на 17,8%, $[\text{HCO}_3^-]$ - на 27,2%, CO_2 заг. - на 21,5%, порівняно з отруєними тваринами. Виражений також зсув буферних основ крові ($-12,70 \pm 0,90$), порівняно з цим показником в отруєних тварин ($-10,20 \pm 0,71$).

Таким чином, введення амонію хлориду отруєним кадмієм тваринам сприяє розпаду макроергічних сполук, таких як аденозинтрифосфат (АТФ), кисла фосфатаза, які мають кислотні властивості і тим самим зміщують величину pH у кислий бік. З накопиченням кислих метаболітів алкалоз компенсується та сприяє утворенню ацидотичного стану.

Отже, застосування щурам амонію хлориду після отруєння кадмію сульфатом, сприяє створенню оптимальної біологічної моделі тварин в стані посиленого метаболічного ацидозу, що є надзвичайно важливим моментом при проведенні медико-біологічних експериментів для вивчення впливу цього металу, а також плануванні лікувальних та профілактичних заходів у біогеохімічних провінціях України з високим вмістом кадмію у довкіллі.