



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **87661** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
G09B 23/28 (2006.01)
G01N 33/48 (2006.01)
G01N 21/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 11490	(72) Винахідник(и): Сорока Юрій Вікторович (UA), Демків Ірина Ярославівна (UA), Сорока Ірина Олександрівна (UA), Лісничук Наталія Євгенівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 30.09.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.02.2014	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.02.2014, Бюл.№ 3	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ", Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001 (UA)

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ХРОНІЧНОЇ НЕОПЛАСТИЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ**(57) Реферат:**

Спосіб моделювання хронічної неопластичної інтоксикації включає вплив несиметричним 1,2-диметилгідрaziном гідрохлоридом (ДМГ). ДМГ застосовують в дозі 7,2 мг/кг один раз на тиждень впродовж 30 тижнів і додатково вводять препарати цитостатичної дії, а саме застосовують Метотрексат в дозі 15 мг/кг маси тварини 2 рази на тиждень та Доксорубіцин в дозі 10 мг/кг перший раз і далі по 5 мг/кг щотижнево паралельно з введенням ДМГ впродовж останніх 8 тижнів, а висновок про змодельовану хронічну неопластичну інтоксикацію роблять за критеріями метаболічних порушення в організмі білих щурів.

UA 87661 U

Корисна модель належить до медицини, а саме експериментальної патології, і може бути використана при дослідженні впливу на організм токсичних чинників, зокрема несиметричного 1,2-диметилгідразину гідрохлориду (ДМГ) і препаратів цитостатичної дії.

Відомий спосіб моделювання хронічної неопластичної інтоксикації, що включає застосування ДМГ, що є високоспецифічним непрямим канцерогеном, який в дозозалежний спосіб викликає ініціацію та наступні етапи онкогенезу, що в результаті призводить до виникнення раку товстої кишки забезпечує швидку та ефективну мобілізацію компенсаторних механізмів у клітинах ураженої печінки. За відомим способом використовують ДМГ в дозі 20 мг/кг раз на тиждень впродовж 20 тижнів [1].

Недоліком відомого способу є недостатня технологічність, що впливає з того, що для дослідження кишкового канцерогенезу, висока доза канцерогену призводить до смертності експериментальних тварин, а також те, що морфологічні та біохімічні зміни, які виникають у товстому кишечнику при індукції пухлинного процесу за відомим способом недостатньо близькі до тих, які мають місце в тканинах людини при раку товстої кишки.

В основу корисної моделі поставлено задачу вдосконалити відомий спосіб моделювання хронічної неопластичної інтоксикації, в якому шляхом зменшення дози ДМГ та більш тривалого введення його в часі (30 тижнів) при додатковому застосуванні цитостатичних препаратів, що дозволить відтворити морфологічні та біохімічні зміни у товстому кишечнику максимально наближені до тих, які мають місце в тканинах людини при раку товстої кишки, чим досягають підвищення інформативності експерименту.

Поставлену задачу вирішують тим, що при здійсненні у способі моделювання хронічної неопластичної інтоксикації, що включає вплив ДМГ, відповідно до корисної моделі, додатково впливають препаратами цитостатичної дії, а саме "Метотрексом" і "Доксорубіцином".

При вирішенні поставленої задачі було взято до уваги те, що препарат "Метотрексам" цитостатичний препарат з групи антиметаболітів, антагоністів фолієвої кислоти, має виражену імуносупресорну дію навіть у відносно низьких дозах, призначається як препарат, що пригнічує імунну систему. Препарат "Доксорубіцин" характеризується здатністю взаємодіяти з ДНК, має імуносупресивну активність, кардіотоксичність, виявляє пригнічуючий вплив на кровотворення.

Спосіб здійснюють таким чином. Лабораторній тварині - білому щуру-самцю вводили ДМГ підшкірно в міжлопаткову область в дозі 7,2 мг/кг (в розрахунку на діючу речовину) раз на тиждень впродовж 30 тижнів [2], Метотрексам вводили внутрішньошлунково 2 рази на тиждень розрахунку 15 мг/кг маси тварини, Доксорубіцин вводили внутрішньоочередово в дозі 10 мг/кг перший раз і далі по 5 мг/кг щотижнево паралельно з введенням ДМГ впродовж останніх 8 тижнів, паралельно до введення ДМГ [3]. Висновок про змодельовану хронічну неопластичну інтоксикацію робили за критеріями метаболічних порушення в організмі білих щурів.

Приклад 1. Білому щуру-самцю, масою 200 г моделювали хронічну неопластичну інтоксикацію, для чого підшкірно в міжлопаткову область вводили ДМГ, попередньо розведений ізотонічним розчином натрію хлориду в дозі 7,2 мг/кг (в розрахунку на діючу речовину) раз на тиждень впродовж 30 тижнів, чітко по масі тварини з розрахунку 0,1 мл розчину ДМГ на 10 грам маси тіла. Після цього впродовж останніх 8 тижнів, паралельно до введення ДМГ вводили Метотрексам внутрішньошлунково 2 рази на тиждень розрахунку 15 мг/кг маси тварини, Доксорубіцин вводили внутрішньоочередово в дозі 10 мг/кг перший раз і далі по 5 мг/кг щотижнево.

Оцінку метаболічних порушення в організмі білих щурів при змодельованій хронічній неопластичній інтоксикації здійснювали за змінами біохімічних показників, зокрема активністю аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної та кислої фосфатази, концентрацією сечовини, сечової кислоти, креатиніну, білірубину, а також за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ), концентрацією малонового діальдегіду (МДА). Для характеристики антиоксидантного стану організму піддослідних тварин ми вираховували фактор, який відображає активність важливих ферментів та рівень вільнорадикального переокиснення ліпідів (Фактор АОЗ). Результати аналізу порівнювали з аналогічними показниками у групі контрольних тварин. В результаті дослідження встановили що індукований диметилгідразином канцерогенез на фоні введення цитостатиків спричиняє клітинно-печінкову недостатність та розвиток синдрому цитолізу у експериментальних тварин, порушення функції нирок, а саме викликає циркуляторну недостатність, в результаті якої порушується фільтрація в клубочках і кількість хлориду натрію в організмі зменшується в результаті порушення гемодинаміки, відбувається підвищене накопичення в крові токсичних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, і, як наслідок дисбаланс ферментативних систем антиоксидантного захисту, що призводить до поширення токсемії в організмі піддослідних тварин.

Приклад 2. За запропонованим способом здійснювали моделювання хронічної неопластичної інтоксикації в експерименті на 90 безпородних щурах-самцях. Про метаболічні порушення в організмі білих щурів свідчать результати, наведені в таблиці. Для порівняння було взято 3 групи тварин: 1 група - контрольні тварини; 2 група - тварини, яким вводили 1,2-диметилгідразин в дозі 20 мг/кг впродовж 20 тижнів; 3 група - тварини, яким вводили 1,2-диметилгідразин в дозі 7,2 мг/кг впродовж 30 тижнів, а також препарати цитостатичної терапії Доксорубіцин та Метотрексат.

Вміст АлАТ при неопластичній інтоксикації перевищувала аналогічний показник у групі неуразених щурів на 65,5 %, а при поєднанні з цитостатичними препаратами - на 303,0 % (тобто у 4,0 рази). Вміст АсАТ зростав відповідно на 42,7 та 52,9 %. Вміст сечовини (на 8,6 %) і сечової кислоти (на 31,0 %) вірогідно збільшилися при змодельованому неопластичному ендотоксикозі у порівнянні з показником у групі інтактних тварин. Застосування компонентів цитостатичної терапії призводило до ще більшого зростання концентрацій сечовини та сечової кислоти: на 15,2 % і 32,0 % у порівнянні з інтактними тваринами. Концентрація креатиніну достовірно зростала у обох дослідних групах: на 18,0 % і 22,3 % відповідно у порівнянні з показником контрольної групи тварин. Активність кислої фосфатази (зростала на 132,8 % при неопластичній інтоксикації та на 167,2 % у поєднанні з хімотерапевтичними препаратами); лужної фосфатази (зростала на 62,9 % і 87,6 % відповідно); концентрація білірубину (зростала на 111,3 % і 124,1 %) відповідно до груп ураження.

Активність СОД знижувалась на 31,6 % при неопластичній інтоксикації та на 40,7 % у поєднанні з хімотерапевтичними препаратами. Активність КТ знижувалась на 28,1 % при неопластичній інтоксикації та на 46,2 % у поєднанні з цитостатичними препаратами. Встановлено суттєве підвищення концентрації МДА при неопластичній інтоксикації - у 2,0 та 2,1 рази у поєднанні з хімотерапевтичними препаратами відносно аналогічного показника у групі контрольних тварин.

Нами був застосований фактор антиоксидантного стану організму (Ф-АОС), який більш наочно відображає кількісні зміни АОС при змодельованій хронічній неопластичній інтоксикації на фоні застосування препаратів цитостатичної терапії, ніж інші показники взяті окремо. У групі контрольних тварин Ф-АОС становив $(57,33 \pm 0,41)$, тоді як у групі тварин з введенням диметилгідразину $(27,33 \pm 0,32)$ і був на 52,3 % меншим за контрольний показник. А у групі тварин за неопластичної інтоксикації у поєднанні з цитостатичними препаратами становив $(6,33 \pm 0,12)$, що на 90,7 % менше за аналогічний показник контрольної групи.

Із наведених даних видно, що запропонований спосіб моделювання хронічної неопластичної інтоксикації є достатньо ефективним для дослідження особливостей кишкового канцерогенезу, оскільки помірна доза канцерогену не призводить до смертності експериментальних тварин, а зменшення дози 1,2-диметилгідразину та більш тривалого введення його в часі (30 тижнів) з використанням цитостатичних препаратів дозволяє відтворити біохімічні зміни у товстому кишечнику максимально наближені до тих, які мають місце в тканинах людини при розвитку раку товстої кишки та більш ефективно дослідити особливості кишкового канцерогенезу, і може бути застосований як в експериментальній медицині, так і в клінічній практиці.

Таблиця

Біохімічні показники при хронічній неопластичній інтоксикації на фоні введення цитостатичних препаратів, ($M \pm m$; P)

Показник	Групи тварин		
	Контроль	Хронічна неопластична інтоксикація (ДМГ)	Дослідна (ДМГ + цитостатики)
АлАТ, Од/л	$52,7 \pm 0,78$	$148,1 \pm 0,88^{***}$	$212,4 \pm 9,1^{###}$
АсАТ, Од/л	$177,6 \pm 7,5$	$204,6 \pm 8,5^*$	$271,6 \pm 12,3^{###}$
Кисла фосфатаза, Од/л	$12,8 \pm 0,3$	$21,8 \pm 0,4^{**}$	$34,2 \pm 0,9^{\#}$
Лужна фосфатаза, Од/л	$289,3 \pm 12,1$	$329,3 \pm 13,1^{**}$	$542,8 \pm 14,2^{###}$
Креатинін, мкмоль/л	$108,3 \pm 1,7$	$110,2 \pm 1,9$	$132,5 \pm 3,1^{###}$
Сечовина, ммоль/л	$128,1 \pm 1,9$	$132,2 \pm 2,1$	$147,5 \pm 3,6^{\#}$
Сечова кислота, мкмоль/л	$310,8 \pm 2,8$	$323,6 \pm 3,2^*$	$410,2 \pm 4,6^{##}$
Білірубин, мкмоль/л	$2,82 \pm 0,07$	$3,28 \pm 0,08^*$	$6,32 \pm 0,09^{###}$
КТ, мкат/кт (печінка)	$0,53 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,02^*$	$0,29 \pm 0,01^{###}$
СОД, ум.од/мг (печінка)	$3,19 \pm 0,16$	$2,24 \pm 0,11^*$	$1,89 \pm 0,06^{###}$
МДА, мкмоль/кг (печінка)	$3,18 \pm 0,14$	$4,18 \pm 0,15^*$	$7,89 \pm 0,26^{###}$

Продовження таблиці

Фактор АОЗ (печінка)	57,33±0,41	27,33±0,32**	6,33±0,12###
Примітка. * - величини, які статистично достовірно відрізняються від аналогічних показників у контрольній групі тварин (1. * - $p<0.05$; 2. ** - $p<0.01$; 3.*** - $p<0,001$).			
# - величини, які статистично достовірно відрізняються від аналогічних показників у групі тварин, яким вводили ДМГ (1. # - $p<0.05$; 2. ## - $p<0.01$; 3. ### - $p<0,001$).			

Джерела інформації:

1. Гепатотоксичність 1,2-диметилгідразину при моделюванні колоректального раку у щурів / О.В. Линчак, В.К. Рибальченко, Н.О. Карпезо, Г.В. Островська, О.М. Бабуца // Сучасні проблеми токсикології. - 2012. - № 1. - С. 29-34.
2. Дерягина В.П., Рыжова Н.И., Разин А.Н. Экспериментальное изучение действия (Шиитаке) на рост опухоли у мышей на моделях трансплантационного и химического канцерогенеза // Российский онкологический журнал. - 2009. - № 1. - С. 33-38.
3. Зарипова И.В. Эндогенная интоксикация в формировании патологии сердца, вызванной компонентами цитостатической химиотерапии (экспериментальное исследование) / И.В. Зарипова // Автореф. дисс... канд. мед. наук. - Волгоград, 2008. - 22 с.
4. Сорока Ю.В., Демкив И.Я., Лисничук Н.Е. Изменения антиоксидантной защиты в условиях хронической неопластической интоксикации на фоне применения цитостатической терапии // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. - 2013. - № 1. - С. 26.
5. Сорока Ю.В., Демків І.Я., Лісничук Н.Є. Маркери ендогенної інтоксикації та стан імунної системи в організмі білих щурів за умов хронічної неопластичної інтоксикації // Таврический медико-биологический вестник. - 2012. - Т. 15, № 3 (59). - С. 308-310.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб моделювання хронічної неопластичної інтоксикації, що включає вплив несиметричним 1,2-диметилгідразином гідрохлоридом (ДМГ), який **відрізняється** тим, що ДМГ застосовують в дозі 7,2 мг/кг один раз на тиждень впродовж 30 тижнів і додатково вводять препарати цитостатичної дії, а саме застосовують Метотрексат в дозі 15 мг/кг маси тварини 2 рази на тиждень та Доксорубіцин в дозі 10 мг/кг перший раз і далі по 5 мг/кг щотижнево паралельно з введенням ДМГ впродовж останніх 8 тижнів, а висновок про змодельовану хронічну неопластичну інтоксикацію роблять за критеріями метаболічних порушення в організмі білих щурів.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

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