

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) ВУ (11) 23825

(13) С1

(46) 2022.10.30

(51) МПК

G 09B 23/28 (2006.01)

(54) СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИПЕРАМИНОАЦИДЕМИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

(21) Номер заявки: а 20210020

(22) 2021.02.01

(71) Заявитель: Учреждение образования
"Гродненский государственный ме-
дицинский университет" (ВУ)

(72) Авторы: Шейбак Владимир Михай-
лович; Павлюковец Анастасия
Юрьевна; Дорошенко Евгений Ми-
хайлович (ВУ)

(73) Патентообладатель: Учреждение
образования "Гродненский госу-
дарственный медицинский универ-
ситет" (ВУ)

(56) ШЕЙБАК В.М. и др. Свободные ами-
нокислоты плазмы крови и селезенки
при введении животным ацетата свин-
ца и аминокислотно-микроэлементной
композиции "Тритарг". Проблемы
здоровья и экологии, 2014, № 2, с. 87-
91.

ЛЕДНЁВА И.О. и др. Применение
композиций аминокислот для метабо-
лической коррекции при хронической
алкогольной интоксикации. Актуаль-
ные проблемы биохимии, сборник ма-
териалов научно-практической конфе-
ренции. Гродно, 2019, с. 191-195.

HOLEČEK M. et al. Plasma amino acids
in four models of experimental liver inju-
ry in rats. Amino Acids, 1996, v. 10,
p. 229-241.

FONTANA L. et al. Serum amino acid
changes in rats with thioacetamide-
induced liver cirrhosis. Toxicology,
1996, v. 106, p. 197-206.

(57)

Способ моделирования гиперацидемии при экспериментальном поражении печени, заключающийся в том, что экспериментальному животному в течение 10 суток 1 раз в день внутривенно вводят композицию, содержащую таурин, лейцин, рибофлавин, цинка сульфат и магния сульфат в молярном соотношении 60:56:11:7:1, в дозе 500 мг/кг массы тела и на 8-10-е сутки дополнительно внутривенно каждые 12 ч вводят 2,5%-ный раствор этионина в дозе 62,5 мг/кг массы тела.

Изобретение относится к экспериментальной медицине и может быть использовано для изучения механизмов формирования гиперацидемии при экспериментальном поражении печени у животных, усовершенствования способов диагностики, лечения и профилактики заболеваний, сопровождающихся повышением концентраций свободных аминокислот в плазме крови.

Известен способ моделирования гипераминоацидемии при экспериментальном поражении печени путем введения тиаоацетамида 300 мг/л в питьевой воде в течение 4 месяцев [4]. Отмечено снижение индекса Фишера (соотношение аминокислот с разветвленной углеродной цепью и ароматических аминокислот) за счет более выраженного увеличения концентраций ароматических аминокислот.

Данный способ отличается длительностью, невозможно рассчитывать точное дозирование препарата.

Известен способ моделирования гипераминоацидемии при экспериментальном поражении печени путем ишемического повреждения печени. Ишемию печени выполняли путем пережатия воротной вены и печеночной артерии в средней и левой боковых долях, через 2 ч крыс декапитировали. В плазме крови крыс повышались уровни цистина, гистидина и аргинина. Индекс аминокислоты с разветвленной углеродной цепью/ароматических аминокислот не изменялся за счет параллельного увеличения концентраций этих аминокислот в плазме крови. Значительно повышалась активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы [2].

Недостатками способа являются трудоемкость, низкий уровень гипераминоацидемии.

Известен способ моделирования гипераминоацидемии при экспериментальном поражении печени путем введения тетрахлорметана в течение 10 недель [3]. В плазме крови увеличивались концентрации 10 аминокислот из 22, отсутствовало увеличение общего содержания аминокислот с разветвленной углеродной цепью. Также в плазме крови значительно повышалось содержание общего билирубина, увеличивалась активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы.

Недостатками способа являются трудоемкость, длительность, значительное повышение активности органоспецифических ферментов в плазме крови.

Из просмотра доступной литературы нам не удалось обнаружить источник, который мог бы служить прототипом заявляемого изобретения.

Задача изобретения - разработка способа моделирования выраженной гипераминоацидемии при относительно небольшом повышении органоспецифических ферментов.

Поставленная задача решается тем, что экспериментальному животному в течение 10 суток 1 раз в день внутрижелудочно вводят композицию, содержащую таурин, лейцин, рибофлавин, цинка сульфат и магния сульфат в молярном соотношении 60:56:11:7:1, в дозе 500 мг/кг массы тела и на 8-10-е сутки дополнительно внутрибрюшинно каждые 12 ч вводят 2,5%-ный раствор этионина в дозе 62,5 мг/кг массы тела.

Способ осуществляют следующим образом. Экспериментальному животному (крысе) внутрижелудочно вводят композицию, состоящую из биологически активных микронутриентов таурина, лейцина, рибофлавина, цинка сульфата и магния сульфата в молярном соотношении 60:56:11:7:1, в дозе 500 мг/кг в течение 10 суток. С 8-х по 10-е сутки дополнительно внутрибрюшинно вводят антиметаболит метионина этионин в виде 2,5%-ного раствора 2 раза в день с интервалом в 12 ч в дозе 62,5 мг/кг (общая доза за 3 суток составила 375 мг/кг). Через 12 часов после последнего введения этионина у экспериментальных животных развивается гипераминоацидемия.

Приводим доказательства, подтверждающие возможность использования заявляемого способа. Исследования выполнены на 15 крысах массой 120-140 г. Композицию, состоящую из биологически активных микронутриентов таурина, лейцина, рибофлавина, цинка сульфата и магния сульфата в молярном соотношении 60:56:11:7:1, вводили в дозе 500 мг/кг внутрижелудочно в течение 10 суток. В последние 3 суток (с 8-х по 10-е сутки) животным дополнительно вводили этионин в виде 2,5% раствора с интервалом в 12 ч (6 раз) в дозе 62,5 мг/кг массы тела (общая доза составила 375 мг/кг). Крыс декапитировали через 12 ч после последнего введения этионина.

С целью оценки гипераминоацидемии проводили определение свободных аминокислот в плазме крови методом обращенно-фазной ВЭЖХ с о-фталевым альдегидом и

3-меркаптопропионовой кислотой с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции (231/445 нм) [1].

Совместное введение композиции, состоящей из биологически активных микронутриентов таурина, лейцина, рибофлавина, цинка сульфата и магния сульфата в молярном соотношении 60:56:11:7:1, и этионина приводило к повышению общего количества протеиногенных аминокислот в плазме крови крыс как заменимых, так и незаменимых, общего количества аминокислот с разветвленной углеродной цепью и ароматических аминокислот (табл. 1).

Таблица 1

Структура аминокислотного пула плазмы крови крыс, получавших композицию, состоящую из таурина, лейцина, рибофлавина, цинка сульфата и магния сульфата (500 мг/кг массы, внутрижелудочно), и этионин (внутрибрюшинно в течение 8-10-х суток в общей дозе 375 мг/кг), $M \pm m$

Изучаемый показатель	Контроль	Этионин + композиция, состоящая из таурина, лейцина, рибофлавина, цинка сульфата и магния сульфата
Общее количество протеиногенных аминокислот	1814±65	3743±257*
Общее количество заменимых аминокислот	1261±62	2117±137*
Общее количество незаменимых аминокислот	597±23	1705±156*
Общее количество аминокислот с разветвленной углеродной цепью	198±12	392±25*
Общее количество аминокислот ароматических аминокислот	148±6	338±58*

*Статистически значимые различия с контрольными значениями.

Повышались концентрации заменимых аминокислот: глутаминовая кислота (в 1,8 раза), аспарагин (в 1,4 раза), серин (в 4,8 раза), глутамин (в 1,9 раза), гистидин (в 1,7 раза), глицин (в 2,1 раза); незаменимых аминокислот: тирозин (в 1,8 раза), валин (в 2,0 раза), фенилаланин (в 6,1 раза), изолейцин (в 1,7 раза), лейцин (в 2,2 раза), лизин (в 1,6 раза), треонин (в 7,8 раза) (табл. 2).

Таблица 2

Концентрации свободных аминокислот в плазме крови крыс, получавших композицию, состоящую из таурина, лейцина, рибофлавина, цинка сульфата и магния сульфата, и этионин (внутрибрюшинно в течение 3 суток в общей дозе 375 мг/кг), мкмоль/л, $M \pm m$

Изучаемый показатель	Контроль	Этионин + композиция, состоящая из таурина, лейцина, рибофлавина, цинка сульфата и магния сульфата
Глутаминовая кислота	257±12	457±39*
Аспарагин	33±2	46±3*
Серин	106±10	506±63*
Глутамин	68±3	126±11*
Гистидин	38±5	63±4*
Глицин	157±18	332±21*
Треонин	95±10	737±107*
Аргинин	88±5	62±2*
Таурин	124±10	276±19*

Продолжение таблицы 2

Изучаемый показатель	Контроль	Этионин + композиция, состоящая из таурина, лейцина, рибофлавина, цинка сульфата и магния сульфата
Тирозин	44±3	79±7*
Валин	88±4	175±12*
Фенилаланин	33±3	200±48*
Изолейцин	44±13	75±5*
Лейцин	66±6	142±8*
Лизин	132±23	214±9*

*Статистически значимые различия с контрольными значениями.

Одновременно активность органоспецифических ферментов в плазме крови, свидетельствующих о повреждении ткани печени, отсутствовала (табл. 3).

Таблица 3

Биохимические показатели плазмы крови животных, получавших композицию, состоящую из таурина, лейцина, рибофлавина, цинка сульфата и магния сульфата, и этионин (внутрибрюшинно в течение 3 суток в общей дозе 375 мг/кг), $M \pm m$

Изучаемый показатель	Контроль	Этионин + композиция, состоящая из таурина, лейцина, рибофлавина, цинка сульфата и магния сульфата
Общий белок, г/л	44,7±1,5	44,4±1,19
Аланинаминотрансфераза, ед/л	35±3,5	43,4±3,48
Аспартатаминотрансфераза, ед/л	171,5±11,07	182,7±9,26
Щелочная фосфатаза, ед/л	161,7±14,89	166,6±15,06
Общий билирубин, мкмоль/л	6,6±0,4	6,4±0,32

Таким образом, проведенные исследования доказывают возможность использования заявляемого способа для моделирования выраженной гипераминоацидемии при экспериментальном поражении печени у крыс, при относительно небольшом повышении органоспецифических ферментов, в короткие сроки по сравнению с аналогичными способами.

Источники информации:

1. ДОРОШЕНКО Е.М. Методологические аспекты и трудности анализа свободных (физиологических) аминокислот и родственных соединений в биологических жидкостях и тканях. Республиканская научная конференция по аналитической химии с международным участием "Аналитика РБ - 2010" сборник тезисов докладов. Минск, 2010, 126 с.
2. MIYAZAKI T. et al. Amino acid ratios in plasma and tissues in a rat model of liver cirrhosis before and after exercise. Hepatology Research, 2003, v. 27, p. 230-237.
3. HOLEČEK M. et al. Plasma amino acids in four models of experimental liver injury in rats. Amino Acids, 1996, vol. 10, p. 229-241.
4. FONTANA L. et al. Serum amino acid changes in rats with thioacetamide-induced liver cirrhosis. Toxicology, 1996, vol. 106, p.197-206.