



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **66164** (13) **U**
(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**ОПИС**
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА У МИШЕЙ**

1

2

(21) u201107021

(22) 03.06.2011

(24) 26.12.2011

(46) 26.12.2011, Бюл. № 24, 2011 р.

(72) КИРИК ВІТАЛІЙ МИХАЙЛОВИЧ, КЛИМЕНКО
ПАВЛО ПАВЛОВИЧ, КУЧУК ОЛЬГА ВАЛЕНТИНІВ-
НА, РОМАНЕЦЬ ТЕТЯНА РОМАНІВНА, ШАБЛІЙ
ВОЛОДИМИР АНАТОЛІЙОВИЧ(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ГЕНЕТИ-
ЧНОЇ ТА РЕГЕНЕРАТИВНОЇ МЕДИЦИНИ НАЦІО-
НАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"

(57) Спосіб моделювання пошкодження міокарда у мишей, що включає оперативний доступ до серця та дію температурного фактора на міокард, який **відрізняється** тим, що оперативний доступ здійснюють через абдомінальний розріз, а локальне пошкодження верхівки серця здійснюють через діафрагму металевим зондом, нагрітим до температури 100 °С, протягом 20 секунд.

Корисна модель належить до експериментальної медицини і може використовуватись для моделювання пошкодження міокарда у мишей з метою розробки та порівняння нових методів лікування патології серцево-судинної системи, зокрема - для вивчення регенераторного потенціалу стовбурових клітин різних типів.

Вивчення процесів регенерації при гострих та хронічних пошкодженнях серця є актуальним завданням сучасної медицини та біотехнології. Однак, виникає проблема при виборі об'єктів та методів моделювання пошкодження міокарда, які б були максимально стандартизовані та відтворювані.

Для моделювання пошкоджень міокарда у лабораторних мишей та щурів застосовують кілька підходів. Зокрема, проводять перев'язку гілок коронарних артерій або їх мікроемболізацію через торакальний хірургічний доступ [Pfeffer M., Pfeffer J., Fishbein M. et al. Myocardial infarct size and ventricular function in rats // Circ. Res. - 1979. - vol. 44. - P. 503-512; Medvedev O., Gorodetskaya E. Systemic and regional hemodynamic effects of perindopril in experimental heart failure // Am. Heart. J. - 1993. - vol. 126. - P. 764-769]. Однак, при цих способах необхідна інтубація тварин, використання високовартісного обладнання для штучної вентиляції легень, а зміни, які розвиваються в міокарді, носять ішемічний характер із значним за площею некрозом кардіоміоцитів.

Моделювання токсичного пошкодження міокарда здійснюють за допомогою введення фармакологічних засобів групи антрациклінів, наприклад адріаміцину [Magovern J., Christlieb I., Badylak S.,

Lantz G., Kao R. A model of left ventricular dysfunction caused by intracoronary adriamycin // Ann. Thorac. Surg. - 1992. - vol. 53. - P. 861-863]. Недоліками даного способу є токсичне ураження не лише міокарда, а й інших тканин з розвитком поліорганної недостатності та високою частотою загибелі піддослідних тварин.

Відомі способи моделювання пошкодження міокарда за допомогою введення препаратів катехоламінів (наприклад, ізопроterenол) [Teerlink J., Pfeffer J., Pfeffer M. Progressive ventricular remodeling in response to diffuse isoproterenol-induced myocardial necrosis in rats // Circ. Res. - 1994. - vol. 75. - P. 105-113; Rona G., Chappel C, Balazs T., Gaudry R. An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by isoproterenol in the rat // Am. Med. Assoc. Arch. Pathol. - 1959. - vol. 67. - P. 443-455]. Однак, цей спосіб, крім спричинення дистрофічних змін, супроводжується розвитком гіпертрофії міокарда, яка частково компенсує прояви серцевої недостатності.

За найближчий аналог авторами взятий спосіб моделювання температурного пошкодження міокарда, шляхом хірургічного доступу до серця з розкриттям грудної клітки і порушенням цілісності плевральної порожнини та дією на тканини міокарда температурним фактором за допомогою металевого зонда, охолодженого в рідкому азоті [van den Bos E., Mees B. de Waard M. A novel model of cryoinjury-induced myocardial infarction in the mouse: a comparison with coronary artery ligation // Am J Physiol Heart Circ Physiol. - 2005. - Vol. 289. - P. 1291-1300].

(19) **UA** (11) **66164** (13) **U**

Проте, він має недоліки: необхідність оперативного розкриття грудної клітки з порушенням цілісності плевральної порожнини, що вимагає складної процедури інтубації трахеї та штучної вентиляції легень у тварин. При даному термічному пошкодженні відразу виникає некроз кардіоміоцитів в зоні нанесення, що збільшує ризик загибелі тварин у ранньому післяопераційному періоді та зменшує можливості проведення довготривалих експериментів.

В основу даної корисної моделі поставлена задача розробити надійний та зручний спосіб моделювання пошкодження міокарда у мишей, який би дозволив отримати локальне пошкодження заданої ділянки міокарда, не викликав значного некрозу кардіоміоцитів та не потребував складних хірургічних маніпуляцій і обладнання.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі, що включає оперативний доступ до серця та дію температурного фактора на міокард, згідно з корисною моделлю, оперативний доступ здійснюють через абдомінальний розріз, а локальне пошкодження верхівки серця здійснюють через діафрагму металевим зондом, нагрітим до температури 100 °С, протягом 20 секунд.

Технічний результат, який досягається при застосуванні даного способу, полягає в тому, що при застосуванні оперативного доступу, реалізованого в даному способі, не потрібно розкривати плевральну порожнину, а тому відсутня необхідність інтубації трахеї та штучної вентиляції легень з використанням високоартісного обладнання; зменшується час оперативного втручання та кількість витратних матеріалів. Температура нагрівання зонда (100 °С) та час його контакту з верхівкою серця (20 сек.) забезпечують оптимальні показники глибини пошкодження міокарда верхівки серця без пошкодження його основи протягом тривалого часу та не викликають загибелі експериментальних тварин. Спосіб дозволяє стандартизувати місце, площу та глибину пошкодження міокарда для його наступного гістологічного аналізу. Відсутня потреба у спеціальному обладнанні для зберігання та застосування рідкого азоту.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Під загальною анестезією після обробки операційного поля за допомогою хірургічних інструментів проводять розріз шкіри і м'язів передньої черевної стінки у верхній третині живота по серединній лінії. У створений розріз вводять пластиковий тубус з внутрішнім діаметром 7 мм, який слугує провідником для металевого зонда та захищає від термічного пошкодження оточуючі тканини (печінку, селезінку). Дистальний отвір тубуса проводять під лівий купол діафрагми та візуалізують верхівку серця, яке скорочується. На водяній бані нагрівають до температури 100 °С металевий зонд діаметром 5 мм і проводять його через тубус до діафрагми. Провідником дотикаються до діафрагми в місці прилягання верхівки серця протягом 20 секунд і виводять його з тубуса. Тубус виводять

з рани, м'язи передньої черевної стінки та шкіру ушивають пошарово і обробляють післяопераційне поле.

На запропонованій моделі можна вивчати ефективність трансплантації препаратів стовбурових, прогеніторних та диференційованих клітин для оцінки їх регенераторного потенціалу в динаміці в різні строки після нанесення пошкодження.

Приклад.

Самцям мишей лінії FVB віком 4 міс. було змодельовано пошкодження міокарда запропонованим способом. Через 1 годину після нанесення пошкодження на гістологічних препаратах міокарда верхівки серця виявлено набряк і фрагментацію міофібрил. В саркоплазмі кардіоміоцитів вздовж міофібрил та в цитоплазмі ендотеліоцитів судин виявлено еозинофільні включення, які на світлооптичному рівні мають темно-коричневе забарвлення. Поява цих гранул може свідчити про коагуляцію протеїнів саркотубулярного ретикулюму. Виявлено вакуолізацію ядер кардіоміоцитів та лімфоцитарну інфільтрацію тканини. В ділянці основи серця вказані ознаки відсутні.

Через 14 діб після пошкодження зменшується кількість міковезикул, але зберігається фрагментація міофібрил та їх гіпертрофія. Виявлено макрофагально-лімфоцитарну інфільтрацію тканин та адгезію еритроцитів, спостерігаються ділянки еозинофілі кардіоміоцитів.

На електронограмах в більшості ядер кардіоміоцитів виявлено набряк каріоплазми і конденсацію хроматину. Спостерігалась гомогенізація хроматину і каріорексис. Перинуклеарний простір розширений, саркотубулярна сітка утворювала вакуолі різного діаметру. У деяких мітохондрій кристи гомогенізовані, у інших - відмічалось дихотомічне розгалуження крист. Виявлено мієліноподібні тільця, що свідчить про повну деструкцію мітохондрій. Контакти між кардіоміоцитами зруйновані, утворені порожнини заповненні білковими конгломератами. У просвіті капілярів і в перикапілярному просторі також спостерігались білкові конгломерати. Ендотеліоцити і перицити з набряклою, іноді вакуолізованою цитоплазмою. Плазматична мембрана ендотеліоцитів утворює екструзії. Вказані ознаки характерні для змін при кардіоміопатії.

Через 28 діб після моделювання пошкодження на гістологічних препаратах міокарда тварин зберігалась фрагментація міофібрил. Виявлено еозинофільні кардіоміоцити та міковезикули в них. Вказані ознаки свідчать про збереження проявів кардіоміопатії.

Таким чином, даний спосіб зручний та надійний у проведенні, забезпечує створення локального пошкодження міокарда однакового розміру та глибини, є менш травматичним для дрібних лабораторних тварин, не потребує додаткового обладнання для штучної вентиляції легень і може використовуватись в експериментальній медицині.

