

Изобретение относится к области экспериментальной медицины, а именно к неврологии, и может быть использовано для изучения патофизиологических механизмов развития посттравматической эпилепсии, разработки методов фармакологической профилактики ее развития, а также методов лечения, целенаправленного поиска и испытания новых антиэпилептических препаратов.

Наиболее близким к заявляемому является способ моделирования посттравматической эпилепсии путем механического повреждения ткани мозга и введения фармакологических веществ [1]. Однако данный способ ограничивает общую продолжительность эпилептического синдрома.

В основу изобретения поставлена задача усовершенствования способа моделирования посттравматической эпилепсии, в котором за счет нанесения черепно-мозговой травмы и введения каиновой кислоты в боковые желудочки мозга, повышается воспроизводимость способа и обеспечивается получение адекватной модели посттравматической эпилепсии.

Поставленная задача решается тем, что в способе моделирования посттравматической эпилепсии путем механического повреждения ткани мозга и введения фармакологических средств, согласно изобретению, наносят черепно-мозговую травму падающим грузом массой 45-65 г с высоты 60-70 см, через 60 мин вводят в боковые желудочки мозга каиновую кислоту в дозе 0,005-0,01 мкг в объеме 2 мкл фосфатного буфера с pH = 7,4.

Черепно-мозговая травма использовалась для моделирования непосредственно травмы мозга у животных с последующим изучением ее ранних и отдаленных последствий. Черепно-мозговая травма в виде удара по голове животного грузом с определенной высоты не применялась ранее для создания эпилепсии у животных. В данном изобретении указанный признак (черепно-мозговая травма) был использован в качестве условия, адекватно отражающего патогенетические механизмы посттравматической эпилепсии.

Сущность изобретения заключается в следующем. Ненаркотизированное животное фиксируют на столике для фиксации мелких лабораторных животных за четыре конечности. Голову максимально приводят к столу и фиксируют. Черепно-мозговую травму наносят по неповрежденному черепу в теменно-затылочной области грузом массой 45-65 г, свободно скользящим по полой металлической цилиндрической трубке с высоты 65 см. Через 60 мин после черепно-мозговой травмы крысам, фиксированным в стереотаксическом аппарате, под эфирным рауш-наркозом производят введение по координатам стереотаксического атласа (Paxinos, Watson, 1982) (ар- -0,8, 1-1,5, Н-3,5) в боковые желудочки мозга каиновую кислоту в дозе 0,005-0,01 мкг в объеме 2 мкл фосфатного буферного раствора (pH 7,4) со скоростью 2 мкл/мин. Наблюдают у животных развитие генерализованных судорожных припадков. Эпилептическая активность в условиях применения заявляемого способа воспроизводится у всех животных (100%). По сроку воспроизводимости и продолжительности генерализованного припадка заявляемый способ достоверно отличается от способа-прототипа.

В экспериментальных условиях была определена доза каиновой кислоты, вызывающая развитие генерализованных судорожных реакций в условиях предварительного нанесения животным черепно-мозговой травмы. Было обнаружено, что введение каиновой кислоты в боковой желудочек мозга травмированным животным в дозе 0,005-0,01 мкг привело к развитию генерализованных клонико-тонических судорожных припадков. При этом после введения каиновой кислоты через 3-4 мин у животных отмечался экзофтальм, повышение тонуса хвоста и незначительные миоклонические вздрагивания морды, которые на 7-10 мин охватывали и другие группы мышц передних конечностей, сопровождавшиеся подъемом животных на задние конечности ("поза кенгуру"). Завершающей стадией развития эпилептиформных изменений было возникновение (на 20-30 мин) генерализованного клонико-тонического припадка с падением на бок, вегетативными нарушениями и с постприступной депрессией.

В случае введения каиновой кислоты в дозе 0,001-0,004 мкг травмированным животным (масса груза 45-65 г) не развивалась эпилептизация животных: они свободно передвигались по камере, обнюхивали пол и стены, поднимались на задние лапы.

Введение после черепно-мозговой травмы (груз массой 45-65 г) каиновой кислоты в боковой желудочек мозга в дозе 0,02-2,0 мкг приводило к гибели животных от повторных судорог в течение 5-12 мин с момента введения каиновой кислоты.

В отдельной серии экспериментов были изучены особенности нарастания судорожных проявлений у животных после нанесения им черепно-мозговой травмы грузом массой 30-44 г с последующим введением каиновой кислоты в дозе 0,005-0,01 мкг. Обнаружено у животных судорожных проявлений и только у 1% животных отмечались единичные вздрагивания мышц морды.

Нанесение животным травмы грузом с большей массой (66-80 г) с последующим введением каиновой кислоты в дозах 0,005-0,01 мкг приводило к высокой летальности их непосредственно после нанесения черепно-мозговой травмы (39-55%), также к гибели животных после введения каиновой кислоты (7-12%), что существенно снижало воспроизводимость метода (на 52-67%).

Пример 1. Ненаркотизированную крысу-самца линии Вистар, массой 200 г фиксируют на столике для фиксации мелких лабораторных животных за четыре конечности. Черепно-мозговую травму наносят по неповрежденному черепу в теменно-затылочной области грузом массой 45 г, свободно скользящим по полой металлической цилиндрической трубке с высоты 65 см. Животное освобождают. Затем через 60 мин под эфирным рауш-наркозом животное закрепляют в стереотаксическом аппарате и по координатам стереотаксического атласа (ар- -0,8, 1-1,5, Н-3,5) вводят в правый боковой желудочек мозга 0,005 мкг каиновой кислоты в объеме 2 мкл фосфатного буферного раствора (pH 7,4). при этом введение осуществлялось в течение 2 мин, после чего инъекционная игла находилась в зоне введения еще в течение 1 мин. Сразу после введения эпилептиформные реакции отсутствовали. Через 4 мин у крысы отмечался экзофтальм, периоды замираний, которые чередовались с периодами миоклонических вздрагиваний в течение 10 мин. На 15-18 мину крысы развиваются клонические судороги всего туловища, которые на 20 мин переходят в генерализованные клонико-тонические припадки. Длительность первого припадка - 3,5 мин. Припадок завершился выраженной постприступной депрессией. Таким образом, у крысы воспроизведена модель посттравматической эпилепсии.

Пример 2. Ненаркотизированную крысу-самца линии Вистар, массой 200 г фиксируют на столике для фиксации мелких лабораторных животных за четыре конечности. Черепно-мозговую травму наносят по неповрежденному черепу в теменно-затылочной области грузом массой 65 г, свободно скользящим по полый металлической цилиндрической трубке с высоты 65 см. Животное освобождается. Затем через 60 мин под эфирным наркозом животное закрепляют в стереотаксическом аппарате и по координатам стереотаксического атласа (ар- -0.8,1-1,5, Н-3,5) вводят в правый боковой желудочек мозга в дозе 0,01 мкг в объеме 2 мкл фосфатного буферного раствора (рН 7,4), при этом введение осуществляют в течение 2 мин. После этого микроинъектор находится в зоне введения в течение 1 мин. Наблюдение в течение первых 6 мин после применения каиновой кислоты показывало отсутствие эпилептиформных проявлений. На 7 мин наблюдаются выраженные миоклонусы конечностей, вздрагивания морды, которые продолжались 3 мин. Затем на 10 мин у крысы отмечались клонические судороги всего тела, продолжавшиеся 10 мин. После этого развился генерализованный судорожный припадок длительностью 5,2 мин с последующей выраженной постприступной депрессией. Таким образом, у крысы воспроизведена модель посттравматической эпилепсии.

Таким образом, заявляемый способ позволяет воспроизводить посттравматический эпилептический синдром путем воздействия черепно-мозговой травмы и введения каиновой кислоты в желудочек мозга. Каждое из этих воздействий само по себе не вызывает функциональных сдвигов в организме, что весьма характерно для естественных условий развития эпилепсии.

Проведенные исследования свидетельствуют о важном патогенетическом значении в развитии посттравматической эпилепсии травматического повреждения головного мозга. Каиновая кислота, являясь агонистом возбуждающего медиатора глутамата, участвует в высвобождении возбуждающих аминокислот, играющих важную роль в механизмах возникновения эпилептического синдрома. Необходимо подчеркнуть, что заявляемая модель посттравматической эпилепсии позволяет воспроизвести эпилептические нарушения в день опыта, что значительно экономит время для воспроизведения модели.

Высокая и быстрая воспроизводимость заявляемого способа, простота и надежность, удобство в реализации будут способствовать его широкому распространению в экспериментальных лабораториях, изучающих закономерности деятельности головного мозга в условиях патологии.