



УКРАЇНА

(19) UA (11) 30999 (13) A

(51) 6 G01N1/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ОЦІНКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ГІПОКАМПУ

(21) 98063393

(22) 30.06.1998

(24) 15.12.2000

(33) UA

(46) 15.12.2000, Бюл. № 7, 2000 р.

(72) Туманський Валерій Олексійович, Бовт Валентина Дем'янівна, Єщенко Віталій Андрійович, Кучковський Олег Миколайович, Єщенко Юлія Віталіївна

(73) ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб оцінки функціонального стану гіпокампу, що полягає у приготуванні заморожених зрізів головного мозку, обробці їх забарвником та визначенні інтенсивності нейромедіаторної функції, який відрізняється тим, що зрізи одночасно фіксують та забарвлюють ацетоновим розчином 8-(бензолсульфоніламіно)-хіноліна, досліджують їх в світлі люмінесценції і по зміні інтенсивності світіння нейронів гіпокампу визначають стан його нейромедіаторної функції.

Винахід відноситься до фізіологічних методів досліджень і стосується способів оцінки стану лімбічної системи головного мозку.

Відомий спосіб (Green I.D., Ardelini A.A. Hippocampal electrical activity in arousal // J. Neurophysiol. - 1954. - Vol. 17. - p. 532-536) полягає в тому, що в область гіпокампу вживляють електрод, через який реєструють біоелектричну активність цього відділу головного мозку. Цей метод травматичний і не дозволяє отримати точні дані про стан гіпокампу.

Ознакою, спільною з запропонованим рішенням, є те, що на підставі отриманих даних роблять висновок про функціональний стан (активність) гіпокампу.

Відомий спосіб оцінки функціонального стану гіпокампу шляхом цитохімічного визначення активності ацетилхолінестерази в гіпокампі, прийнятий як прототип (Торская И.В., Курчинская Л.Ф. Локализация ацетилхолинэстеразы в нервных элементах гиппокампа кроликов // Физиол. журнал. - 1969. - Т. 15. № 2. - С. 358-365). Спочатку готуються кріостатні зрізи, на яких проводять цитохімічну реакцію на активність ацетилхолінестерази. По інтенсивності цієї реакції роблять висновок про функціональний стан гіпокампу.

Спільними з прототипом ознаками є: приготування заморожених зрізів головного мозку, їх забарвлення, визначення активності нейронів гіпокампі по інтенсивності цитохімічної реакції. Проте даний спосіб складний, трудомісткий, вимагає наявності кріостату, не дозволяє отримати добре порівняльні результати в зв'язку з тим, що в процесі підготовки препаратів відбувається часткова інактивація ферменту.

В основу винаходу поставлено задачу розробити простий та достовірний спосіб оцінки функціонального стану гіпокампі, який дозволяє, шляхом визначення інтенсивності світіння нейронів гіпокампі, забезпечити оцінку його нейромедіаторної функції.

Суттєвими ознаками способу оцінки функціонального стану гіпокампі є:

- приготування заморожених зрізів головного мозку;
- одночасне фіксування та забарвлення зрізів ацетоновим розчином 8-(бензолсульфоніламіно)-хіноліна;
- дослідження зрізів в світлі люмінесценції;
- оцінка інтенсивності світіння нейронів гіпокампі;
- визначення нейромедіаторної функції гіпокампі.

Ознаками, відмінними від прототипу є:

- одночасне фіксування та забарвлення зрізів ацетоновим розчином 8-(бензолсульфоніламіно)-хіноліна;
- дослідження зрізів в світлі люмінесценції;
- оцінка інтенсивності світіння нейронів гіпокампі.

Спосіб здійснюють таким чином:

- готують заморожений зріз головного мозку;
- на зріз наносять декілька крапель 0,05%-ного ацетонового розчину 8-БСХ; через 30 сек. зріз промивають на протязі 1 хвилини дистильованою водою;
- зріз досліджують під люмінесцентним мікроскопом (світлофільтри ФС-1, ЖС-18).

На забарвленому препараті гіпокамп світиться жовто-зеленим світлом на темному фоні оточуючої його тканини. Інтенсивність реакції оцінюють по

трьохбальній системі: за один бал приймають слабопозитивну, два бали - помірну, три бали – виражену по інтенсивності реакцію.

Приклад 1. Контрольну (інтактну) мишу забивали декапітацією. З головного мозку готовили заморожені зрізи товщиною 30-60 мкм, обробляли їх 0,05%-ним ацетоновим розчином 8-БСХ, через 0,5 хв. промивали 1 хв. дистильованою водою та досліджували під люмінесцентним мікроскопом. Середня інтенсивність жовто-зеленої люмінесценції гіпокампу становила  $2,0 \pm 0,11$ .

Приклад 2. Забивали мишу через 1 год. після підшкірного введення 1 мг/кг пілокарпіну. З головного мозку готовили заморожені зрізи товщиною 30-60 мкм, флуорохромували розчином 8-БСХ і досліджували під люмінесцентним мікроскопом. Інтенсивність реакції 8-БСХ в гіпокампі в середньому становила  $1,3 \pm 0,09$  (р 0,001). Послаблення реакції в порівнянні з нормою можна пояснити посиленням нейромедіаторної функції гіпокампу.

Приклад 3. Через 2 год. після внутрішньовенного введення 0,05 мг/кг адреналіну мишу забивали декапітацією. Заморожені зрізи головного мозку флуорохромували за допомогою 8-БСХ і дослі-

джували під люмінесцентним мікроскопом. Інтенсивність світіння гіпокампу в середньому становила  $2,5 \pm 0,19$  (р 0,01). Посилення люмінесценції гіпокампу можна пояснити пригніченням його нейромедіаторної функції.

Приклад 4. Через 2 год. після внутрішньовенного введення 8-БСХ мишу забивали декапітацією. З головного мозку готовили заморожені зрізи та флуорохромували за допомогою 8-БСХ. Послаблення люмінесценції гіпокампу  $1,6 \pm 0,10$  (р 0,05) пояснюється посиленням його нейромедіаторної функції.

Приклад 5. Миша, яка отримала дев'ятикратно перорально етанол по 2 мл/кг, була забита через 3 доби після останнього введення алкоголю. З головного мозку готовили заморожені зрізи та обробляли 8-БСХ. На препаратах відмічалось слабе світіння гіпокампу  $1,6 \pm 0,08$  (р 0,01), що вказує на порушення його функції, яке виражалось в посиленні алкогольної мотивації.

Порівняльний аналіз запропонованого способу з прототипом показує, що запропонований спосіб відрізняється від відомого простотою та більш високою точністю.

---

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)  
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26  
(044) 295-81-42, 295-61-97

---

Підписано до друку \_\_\_\_\_ 2002 р. Формат 60х84 1/8.  
Обсяг \_\_\_\_\_ обл.-вид. арк. Тираж 35 прим. Зам. \_\_\_\_\_

---

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.  
(044) 268-25-22

---