



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 46651

(13) A

(51) 6 G09B23/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ МОЗКУ

1

2

(21) 2001117850

(22) 16 11 2001

(24) 15 05 2002

(46) 15 05 2002, Бюл. № 5, 2002 р.

(72) Шимків Оксана Дмитрівна

(73) БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКА-
ДЕМІЯ

(57) Спосіб моделювання глобальної ішемії мозку, який відрізняється тим, що оцінюють стан мозкової тканини та розміри ядер нейронів поля СА1 гіпокампа за умови створення кисневого голодування мозку впродовж 3 годин за допомогою накладання затискачів (кліпсів) на обидві спільні сонні артерії з наступною реперфузією 20 хвилин та 24 години

Винахід відносять до медицини, зокрема до патофізіології та неврології і може бути використаний при моделюванні ішемічних пошкоджень головного мозку при медико-біологічних дослідженнях.

Пошкодження мозкової тканини, які виникають в результаті ішемії мозку є однією з причин дорослої інвалідності та смертності, а також перинатальної смертності та розвитку енцефалопатій у дитячому віці. Характер ішемії мозку залежить від численних факторів, зокрема тривалості переривання кровопостачання, ділянки ішемічного впливу тощо. Чисельні дослідження свідчать, що зміни в мозковій тканині після кисневого голодування носять зворотний характер в залежності від тривалості дії ішемії та часу реперфузії. Проте більшість експериментальних досліджень стосуються ішемії окремих ділянок мозку, водночас при клінічних розладах кровопостачання мозку страждає вся тканина.

Метою винаходу є розробка ефективного способу моделювання глобальної ішемії мозку при дослідженнях змін мозкової тканини в результаті ішемічних пошкоджень при різноманітних захворюваннях.

Існують різноманітні методики моделювання глобальної ішемії головного мозку щурів (Барсков І.В., Викторів І.В. Локальний компрессионный инфаркт коры головного мозга крыс как экспериментальная модель фокальной ишемии // Журн. патол. физиол. и эксперим. тер. — 1994 — №1 - 4 — С 57 - 59, Купинский В.И., Усов Л.А., Суфианова Г.З., Суфианов А.А. Защитный эффект интрацеребровентрикулярного введения агонистов при полной ишемии головного мозга // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1994 — Т. 117, № 6 — С. 622 -

624, Плотников М.Б., Ваизова О.Е. Сравнительный анализ двух моделей хронической ишемии головного мозга у крыс // Журн. пат. физ. и эксперим. тер. — 1994 — № 1 - 4 — С. 59 - 60).

Проте всі ці моделі мають ряд суттєвих недоліків. Моделювання ішемії мозку при цьому проводиться шляхом перев'язки загальних сонних артерій або виключання хребтових артерій шляхом коагуляції в криловидних отворах першого шийного хребця з накладанням затискачів (кліпсів) на сонні артерії. Це супроводжується ішемією тільки окремих ділянок мозкової тканини, а також інших тканин голови та суттєво позначається на отриманих результатах. Окрім того, складна техніка виконання процедури не завжди є ефективною та адекватною головній меті - глобальній ішемії мозку.

Нами запропоновано подовжити термін реперфузії до 24 годин, що дає змогу вивчати морфологічні зміни структур головного мозку з використанням світлового мікроскопу і доступних методів забарвлення.

З метою усунення недоліків та збільшення ефективності моделі глобальної ішемії мозку нами запропонована така методика. Під внутрішньочеревинним наркозом етаміналом-натрієм (40 мг на кг ваги тіла) щурам переднім середнім шийним доступом розтинають шкіру і підшкірну клітковину, виділяють обидві спільні сонні артерії. Після цього на обидві спільні сонні артерії накладають кліпси (затискачі). Кліпси знімають через 3 години для здійснення реперфузії головного мозку. Рану зашивають безперервним швом. Частина щурів забивають через 20 хвилин, а частину — через 24 години після зняття затискачів і припинення дії ішемії. Для контролю створення моделі іншій групі

(13) A

(11) 46651

(19) UA

тварин проводять розрізи на шкірі, сепарацію м'язів і виділення судин без їх перетиснення

Забиття тварин здійснюють шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. У щурів виділяють головний мозок, поміщують у 10% розчин нейтрального формаліну для подальшої оцінки патоморфологічних змін у структурах головного мозку, яку здійснюють за допомогою морфологічних і морфометричних досліджень згідно наявних у літературі рекомендацій (Буреш Я, Бурешова О, Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Пер с англ. — М. Высш. шк., 1991 — 399 с, Хампильтон Л.У. Основы анатомии лимбической системы крысы. — М. Изд-во Моск. ун-та, 1984 — 184 с.)

За нашими даними, проведення такої методики у тварин різного віку (інфантильних, молодих та зрілих) після 20-ти хвилинної реперфузії, призводить до розвитку характерної ознаки кисневого голодування мозку - дифузного набряку нервової

тканини з розвитком у корі великих півкуль початкових явищ некрозу, які візуалізуються на гістологічних препаратах за світлової мікроскопії

У інфантильних щурів вже через добу після дії гострої ішемії виявляються вогнищеві некрози у багатьох місцях кори великих півкуль та підкіркових ядрах. Вогнища некрозу найбільш помітні у тих ділянках, що межують з кровоносними судинами. При цьому у нейронах поля СА1 гіпокампа виникають виражені дистрофічні зміни із зменшенням діаметра ядер (табл. 1)

У молодих тварин через 24 години після впливу гострої ішемії виявляються виражені некрози у корі великих півкуль, чисельні вогнища некрозу. При цьому дистрофічні зміни поля СА1 гіпокампа супроводжуються менш вираженим зменшенням розмірів ядер (табл. 1). Водночас у зрілих щурів після гострої ішемії головного мозку та реперфузії 24 год практично не спостерігається деструктивних змін в корі головного мозку та у гіпокампі

Таблиця 1

Діаметр ядер нейронів поля СА1 дорсального гіпокампа щурів після глобальної ішемії

Характер впливу	Інфантильні	Молоді	Зрілі
Контроль (n = 7)	13,82 ± 0,62	13,82 ± 0,63	13,82 ± 0,62
Ішемія 3 год + реперфузія 20 хв (n = 10)	11,45 ± 0,28 p < 0,01	11,45 ± 10,28 p < 0,01	13,82 ± 0,63
Ішемія 3 год + реперфузія 24 год (n = 12)	6,57 ± 0,25 p < 0,01	10,67 ± 0,47 p < 0,01	13,82 ± 0,63

p - ступінь вірогідності різниць при порівнянні з контролем

Тобто, формування глобальної ішемії головного мозку при розробленій нами моделі дозволяє

1) повністю припинити доставку кисню до органу (мозкової тканини),

2) забезпечує створення ішемії, тяжкість якої легко дозувати за часом,

3) забезпечує рівномірність порушення кровотоку в різних відділах мозку, що дозволяє їх ставити в однакові умови та виявляти механізми ішемічних та реперфузійних пошкоджень в різних структурах мозку

Всі вище вказані характеристики способу моделювання глобальної ішемії головного мозку забезпечують даному винаходу відповідність критерію "позитивний ефект"

Відповідність критерію "новизна" даному винаходу забезпечується тим, що вперше показана можливість використання світлового мікроскопу для вивчення морфологічних змін структур голо-

вного мозку вже через 24 години після припинення дії ішемії

Можливість порівняння отриманих результатів дії глобальної ішемії з інтактними тваринами забезпечує відповідність критерію "суттєві відмінності"

Таким чином, розроблений спосіб глобальної ішемії головного мозку забезпечує підвищення об'єктивності і точності визначення впливу гострої кисневого голодування на всю тканину головного мозку з подальшим відокремленням диференціюванням порушень в його окремих відділах як за дії кисневого голодування, так і після відтворення кровопостачання тканин мозку. Це дає можливість вивчити всі зміни в тканинах головного мозку за різних умов кисневого голодування та при його реперфузії з точним дозуванням часу дії ішемії та реперфузії

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 – 32 – 71