



УКРАЇНА

(19) UA (11) 30856 (13) U

(51) МПК (2006)

G09B 23/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ІШЕМІЇ МОЗКУ

1

2

(21) u200713581

(22) 05.12.2007

(24) 11.03.2008

(72) ГРАБОВИЙ ОЛЕКСАНДР МИКОЛАЙОВИЧ,
UA, ВЕРХОГЛЯД ВІРА БОРИСІВНА, UA,
ЯРЕМЕНКО ЛІЛІЯ МИКОЛАЇВНА, UA(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, UA

(56)

(57) Спосіб моделювання ішемії мозку, що
включає емболізацію судин, який відрізняється
тим, що тваринам у сонну артерію вводять
суспензію відмитих еритроцитів птахів у розчині,
що містить 2,8 г/л кальцію хлориду.

Корисна модель, що пропонується відноситься до області фундаментальної медицини, а саме до моделювання патологічних процесів, і може бути використана для дослідження процесів, що відбуваються при ішемії мозку, для дослідження нейропротекторних властивостей лікарських засобів.

Відомі способи [1, 2, 3], згідно яких з метою моделювання ішемічного ушкодження головного мозку здійснювалася закупорка гілок сонної артерії. Основною відзнакою цих способів є механічне перекриття кровотоку по гілках сонної артерії. Такі способи моделювання ішемічного ушкодження мозку характеризувалися тим, що у зв'язку із стійким порушенням кровотоку виникали осередки некрозу у головному мозку експериментальних тварин.

Найбільш близьким за технічною суттю є спосіб моделювання ішемічного ураження головного мозку [4], який передбачає введення у середню мозкову артерію через зовнішню сонну артерію катетер заповнений тромбіном, після чого забирали кров, що швидко перетворювалася на тромб, який вводився у артерію. У басейні середньої мозкової артерії виникає великий інфаркт, а лізування тромбу відбувається за 4 доби. Недоліками способу є утворення ділянки некрозу мозку, продукти розпаду якого надзвичайно сильно впливають на порівняно невелику зону пенумбри, де відбуваються нейродегенеративні, відновлювальні й компенсаторні реакції.

Задачею корисної моделі є створення ішемічного ураження головного мозку, шляхом транзитного порушення мозкового кровообігу в півкулі головного мозку експериментальних

тварин, що надійно відтворюється, і дає можливість різнобічного дослідження нейродегенеративних та відновлювальних процесів з використанням гістологічних, біохімічних, імунологічних та інших методів.

Технічний результат, що отримують в результаті вирішення задачі полягає в створенні моделі ішемічного ураження головного мозку для дослідження дегенеративних та відновлювальних процесів, а також для вивчення ефективності нейропротекторних лікарських засобів.

Поставлена задача досягається тим, що у відомому способі моделювання ішемічного ураження мозку, що включає емболізацію судин, згідно корисної моделі тваринам у сонну артерію вводять суспензію відмитих еритроцитів птахів у розчині, що містить 2,8 г/л кальцію хлориду.

Відмінною особливістю способу, що використовується, є застосування суспензії відмитих еритроцитів птахів (курки) у розчині, що містить кальцію хлорид 2,8 г/л.

Запропонований спосіб моделювання ішемічного ураження головного мозку в експериментальних тварин здійснюють наступним чином:

Тваринам у сонну артерію вводять 0,2 мл розчину, що містить 25 мл відмитих еритроцитів курки, 2,8 мл 10% розчину кальцію хлориду, та 9% розчин натрію хлориду до 100 мл, після чого на артерію накладають лігатуру.

Результат: через 1-3 доби після операції спостерігається звуження очної щілини з боку операції, тонічна флексія контралатеральної передньої лапи та її менший супротив поверхні при пасивному русі назад. Гістологічно в ураженій півкулі через 1 добу можуть зрідка виявлятися

(13) U

(11) 30856

(19) UA

поодинокі пташині еритроцити, ділятка кровоносних судин, периваскулярний набряк. З 3 доби в сенсорній корі виявляються реактивно змінні і дегенеруючі нейрони.

Прикладами конкретного виконання способу, що пропонується, є дослідження модельованого ішемічного ушкодження мозку у щурів. Піддослідні тварини були поділені на дві групи. Оперативні втручання здійснювали під внутрішньочеревним тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Першу групу (контроль) склали 20 щурів, яким в ліву еону артерію вводили 0,2 мл фізіологічного розчину й лігували. Другу групу склали 20 тварин в сонну артерію яким вводили 0,2 мл розчину, що містив 25 мл відмитих еритроцитів курки, 2,8 мл 10% розчину кальцію хлориду, 0,9% розчин натрію хлориду до 100 мл. Матеріал для дослідження, після евтаназії тварин передозуванням наркотичних засобів, забирався через 1, 3, 10 та 30 діб після початку дослід. Мозок щурів фіксували в 10% нейтральному формаліні при 4°C протягом 24 годин та ущільнювали у парафін. Гістологічні парафінові зрізи товщиною 7 мкм забарвлювали азур II-еозином.

Гістологічні препарати вивчали візуально і морфометрично. Визначали питому кількість змінених нейронів у сенсомоторній корі темпоральної долі головного мозку з боку операції та контрлатеральної. Морфометрію проводили за допомогою дослідницького комплексу з мікроскопом Olympus BX51, цифрової камери Olympus C4040ZOOM, комп'ютера із програмним забезпеченням Olympus DP-Soft 3.2. Отримані цифрові дані оброблялися стандартними статистичними методами.

Проведені спостереження показали, що через 1 добу після початку дослід у щурів, яким моделювалася ішемія спостерігається звуження очної щілини з боку операції, тонічна флексія контрлатеральної передньої лапи та її менший супротив поверхні при пасивному руху назад. Гістологічно в ураженій півкулі мозку іноді виявлялися поодинокі пташині еритроцити. Кровоносні судини з боку ураження були розширені. Виявлявся значний периваскулярний набряк.

У щурів контрольної групи спостерігалася звуження очної щілини з боку операції, слабка тонічна флексія контрлатеральної передньої лапи. Гістологічно визначалося розширення помірно окремих мікросудин, іноді незначно виражений периваскулярний набряк.

Кількість змінених нейронів у сенсомоторній корі щурів з модельованою ішемією складала $11,1 \pm 0,5\%$, а у контрольній групі - $8,1 \pm 0,4\%$.

Через 3 доби після початку дослід у щурів, яким моделювалася ішемія спостерігається звуження очної щілини з боку операції, тонічна флексія контрлатеральної передньої лапи та її менший супротив поверхні при пасивному руху назад. Гістологічно в ураженій півкулі мозку виявлялося розширення кровоносних судин з боку ураження, виражені явища периваскулярного набряку. У щурів контрольної групи неврологічна симптоматика обмежувалася звуженням очної щілини з боку операції. З боку перев'язаної артерії

кількість змінених нейронів в корі мозку достовірно не відрізнялася від контрлатеральної півкулі. Спостерігалися інколи помірно розширені кровоносні мікро судини та незначний периваскулярний набряк.

Кількість змінених нейронів у сенсомоторній корі щурів з модельованою ішемією складала $14,7 \pm 0,5\%$, а у контрольній групі - $8,8 \pm 0,5\%$.

Через 10 діб після початку дослід у щурів, яким моделювалася ішемія, спостерігається звуження очної щілини з боку операції, тонічна флексія контрлатеральної передньої лапи та її деяке зменшення супротиву поверхні при пасивному руху назад. В ураженій півкулі мозку зберігається розширення кровоносних судин з боку ураження, периваскулярний набряк зменшується, у порівнянні з попереднім строком спостережень. У щурів контрольної групи зберігалася звуження очної щілини з боку операції. Виявлялися окремі помірно розширені кровоносні мікросудини, периваскулярний набряк практично не визначався.

Кількість змінених нейронів у сенсомоторній корі щурів з модельованою ішемією складала $22,1 \pm 0,9\%$, а у контрольній групі - $9,6 \pm 0,4\%$.

Через 30 діб після початку дослід у щурів, яким моделювалася ішемія, спостерігається звуження очної щілини з боку операції. В ураженій півкулі мозку виявлялися окремі розширені кровоносні судини, незначно виражений навколо них периваскулярний набряк. У 3 з 5 щурів контрольної групи зберігалася звуження очної щілини з боку операції. На гістологічних препаратах з боку операції у корі мозку візуально зміни не визначалися.

Кількість змінених нейронів у сенсомоторній корі щурів з модельованою ішемією складала $16,2 \pm 0,9\%$, а у контрольній групі - $9,1 \pm 0,4\%$.

Таким чином, проведені спостереження показали, що емболізація кровоносних мікросудин еритроцитами курки призводить до розвитку ішемічного ушкодження мозку і розвитку в ньому дифузних нейродегенеративних змін.

Література:

1. Цимбалюк В.І., Бондар Л.В. Спосіб моделювання гострого церебрального ішемічного інсульту у щурів. Патент на винахід № 25489А від 30.10.1998 р.
2. Kogure K., Busto R., Scheinberg P., Reinmuth O.M. Energy metabolites and water content in rat brain during the early stage of development of cerebral infarction // Brain. - 1974. - V. 97. - P. 103-114.
3. Xue D., Slivka A., Buchan A.M. Tirilazad reduces cortical infarction after transient but not permanent focal cerebral ischemia in rats / Stroke. - 1992. - V. 23. - P. 894-899.
4. Zhang Z., Zhang R. L., Jiang Q., Raman S. B., Cantwell L., Chopp M. A new rat model of thrombotic focal cerebral ischemia / J Cereb Blood Flow Metab. - 1997. V. 17, N2. P. - 123-35.
5. Zhang R.L., Zhang L., Jiang Q., Zhang Z.G., Goussev A., Chopp M. Postischemic intracarotid treatment with TNK-tPA reduces infarct volume and improves neurological deficits in embolic stroke in the unanesthetized rat. Brain Res. - 2000. - V. 878, N 1-2.

- P. 64-71.

5

30856

6