



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **34604** (13) **U**
(51) МПК (2006)
G09B 23/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ІШЕМІЧНОГО ПОШКОДЖЕННЯ МОЗКУ**

1

2

(21) u200805453

(22) 25.04.2008

(24) 11.08.2008

(46) 11.08.2008, Бюл.№ 15, 2008 р.

(72) ГРАБОВИЙ ОЛЕКСАНДР МИКОЛАЙОВИЧ,
УА, ЯРЕМЕНКО ЛІЛІЯ МИХАЙЛІВНА, УА, ПАНІ-
ШИНА НАТАЛІЯ ГРИГОРІВНА, УА(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, УА(57) Спосіб моделювання ішемічного пошкодження
мозку, що включає емболізацію судин, який **відрі-**
зняється тим, що тваринам у сонну артерію вво-
дять суспензію ізольованих адипоцитів у розчині,
що містить 2,8г/л кальцію хлориду та 10г/л твіну.

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

Відомі способи [1, 2, 3], згідно яких з метою моделювання ішемічного пошкодження головного мозку здійснювалось припинення кровотоку по гілках сонної артерії. Основною відзнакою цих способів є механічне перекриття кровотоку по гілкам сонної артерії. Такі способи моделювання ішемічного пошкодження 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 формування тромбу різного розміру, досить значне варіювання часу його лізису, можлива його організація і облітерація судин.

Задачею корисної моделі є створення ішемічного ураження головного мозку, шляхом емболізації гілок сонної артерії 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 ізольованих адипоцитів у розчині, що містить 2,8г/л кальцію хлориду та 10г/л твіну.

Відмінною особливістю способу, що використовується, є застосування суспензії ізольованих адипоцитів у розчині, що містить 2,8г/л кальцію хлориду та 10г/л твіну.

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

Тваринам у сонну артерію вводять 0,2мл розчину, що містить 20мл відмитих ізольованих адипоцитів, 2,8мл 10% розчину кальцію хлориду, 10г твіну та 9% розчину натрію хлориду до 100мл, після чого на артерію накладають лігатуру.

Результат: через 1-3 доби після операції спостерігається звуження очної щілини з боку операції, тонічна флексія контрлатеральної передньої лапи та її менший супротив поверхні при пасивному русі назад, рух у контрлатеральний бік при утриманні щура за хвіст, тенденція до спонтанного обертання тварин у контрлатеральну сторону при знаходженні на горизонтальній поверхні. Гістологічно в ураженій півкулі через 1 добу в дрібних ар-

(13) **U**
(11) **34604**
(19) **UA**

теріях виявляються адипоцити, спостерігається дилатація кровоносних мікросудин, периваскулярний набряк. З третьої доби в сенсорній корі виявляються реактивно змінені і дегенеруючі нейроцити. Через 30 діб на верхньо-бічній поверхні ураженої півкулі виявляється дефект тканини або кіста.

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/гк). Першу групу (контроль) склали 20 щурів, яким в ліву сонну артерію вводили 0,2 мл фізіологічного розчину й лігували. Другу групу склали 20 тварин, в сонну артерію яким вводили 0,2 мл розчину, що містить 20 мл відмитих ізольованих адипоцитів, 2,8 мл 10% розчину кальцію хлориду, 10 г твіну та 0,9% розчин натрію хлориду до 100 мл. Матеріал для дослідження, після евтаназії тварин передозуванням наркотичних засобів, забирали через 1, 3, 10 та 30 діб після початку досліду. Мозок щурів фіксували в 10% нейтральному формаліні при 4°C протягом 24 годин та ущільнювали у парафіні. Гістологічні парафінові зрізи товщиною 7 мкм забарвлювали азур II-еозином.

Гістологічні препарати вивчали візуально і морфометрично. Визначали питому кількість змінених нейроцитів 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 досліду в щурів, яким моделювалася ішемія спостерігається звуження очної щілини з боку операції, тонічна флексія контрлатеральної передньої лапи та її менший супротив поверхні при пасивному русі назад, рух у контрлатеральний бік при утриманні щура за хвіст, тенденція до спонтанного обертання тварин у контрлатеральну сторону при знаходженні на горизонтальній поверхні. Гістологічно в ураженій півкулі мозку іноді виявлялися адипоцити. Кровоносні судини з боку ураження були розширені. Виявлявся значний периваскулярний набряк. Відмічалось гіперхромне забарвлення більшої частини нейроцитів.

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

Кількість змінених нейроцитів у сенсомоторній корі щурів з модельованою ішемією складала $87,1 \pm 1,6\%$, а у контрольній групі - $8,1 \pm 0,4\%$.

Через 3 доби після початку досліду в щурів,

яким моделювалася ішемія спостерігається звуження очної щілини з боку операції, тонічна флексія контрлатеральної передньої лапи та її менший супротив поверхні при пасивному русі назад, рух у контрлатеральний бік при утриманні щура за хвіст. Гістологічно в ураженій півкулі мозку виявлялось розширення кровоносних судин з боку ураження, виражені явища периваскулярного набряку. У щурів контрольної групи неврологічна симптоматика обмежувалася звуженням очної щілини з боку операції. Збоку перев'язаної артерії кількість змінених нейроцитів в корі мозку достовірно не відрізнялася від контрлатеральної півкулі. Спостерігалися інколи помірно розширені кровоносні мікросудини та незначний периваскулярний набряк.

Практично усі нейроцити у сенсомоторній корі щурів з модельованою ішемією є зміненими, тоді як у контрольній групі кількість змінених нейронів складає $8,8 \pm 0,5\%$.

Через 10 діб після початку досліду в щурів, яким моделювалася ішемія, спостерігається зменшення виразності неврологічної симптоматики, рух у контрлатеральний бік при утриманні щура за хвіст виражений слабо, спонтанне обертання тварин у контрлатеральну сторону при знаходженні на горизонтальній поверхні практично відсутнє. В ураженій півкулі мозку зберігається розширення кровоносних судин з боку ураження, периваскулярний набряк зменшується у порівнянні з попереднім строком спостережень. У щурів контрольної групи зберігалось звуження очної щілини з боку операції. Виявлялися окремі помірно розширені кровоносні мікросудини, периваскулярний набряк практично не визначався.

Практично всі нейроцити у сенсомоторній корі щурів з модельованою ішемією зазнають некрозу або знаходяться у стані дегенерації, а у контрольній групі - змінені нейроцити складають $9,6 \pm 0,4\%$.

Через 30 діб після початку досліду в щурів, яким моделювалася ішемія, спостерігається звуження очної щілини з боку операції, а інша неврологічна симптоматика є невиразною. В ураженій півкулі мозку виявлялися окремі розширені кровоносні судини, незначно виражений навколо них периваскулярний набряк. На гістологічних препаратах з боку операції у корі мозку візуально у 3 тварин визначається дефект тканин, а у 2 - кісти заповнені рідиною.

Навколо дефекту тканин або кіст у сенсомоторній корі щурів з модельованою ішемією виявляються змінені нейроцити, кількість яких становила $31,7 \pm 1,9\%$, а у контрольній групі - $9,1 \pm 0,4\%$.

Таким чином, проведені спостереження показали, що емболізація дрібних артерій головного мозку ізольованими адипоцитами призводить до розвитку ішемічного ушкодження мозку і розвитку в ньому інфаркту.

Джерела інформації:

1. Цимбалюк В.І., Бондар Л.В. Спосіб моделювання гострого церебрального ішемічного інсульту у щурів. Патент на винахід №25489А від 30.10.1998р.

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, N 2. 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.