



УКРАЇНА

(19) UA (11) 36843 (13) U
(51) МПК (2006)
G09B 23/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ КОМБІНОВАНОГО СУДИННО-ІМУННОГО ПОШКОДЖЕННЯ МОЗКУ

1

2

(21) u200806769

(22) 17.05.2008

(24) 10.11.2008

(46) 10.11.2008, Бюл.№ 21, 2008 р.

(72) ГРАБОВИЙ ОЛЕКСАНДР МИКОЛАЙОВИЧ,
УА, ЯРЕМЕНКО ЛІЛІЯ МИХАЙЛІВНА, УА(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, УА

(57) Спосіб моделювання комбінованого судинно-імунного пошкодження головного мозку, що вклю-

чає: сенсibilізацію тварин 20% водно-сольовим екстрактом гомологічної тканини мозку з вмістом білка 0,33-0,5 мг/мл за методом Лоурі (підшкірно вводять: в 1-й день - 0,5 мл антигену; 2-й день - 1 мл; 3-й день - 1,5 мл антигену), який **відрізняється** тим, що через 12 діб після початку сенсibilізації у сонну артерію вводять суспензію ізольованих гомологічних адипоцитів у розчині, що містить 2,8 г/л кальцію хлориду та 10 г/л твіну.

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

Відомі способи [1, 3, 4, 5], в яких з метою ішемічного пошкодження головного мозку в експериментальних умовах здійснювалось припинення кровотоку по гілках сонної артерії. Основною відзнакою цих способів є закупорка гілок сонної артерії. Такі способи моделювання ішемічного пошкодження мозку характеризуються тим, що у практично здорових тварин судинні ураження мозку супроводжуються мінімальними імунними порушеннями, у той час як у людини порушення мозкового кровотоку виникає на фоні попередньої більшої або меншої сенсibilізації антигенами нервової тканини [2].

Найбільш близьким за технічною суттю є спосіб моделювання ішемічного ураження головного мозку [2], який передбачає після попередньої сенсibilізації тварин 20% водно-сольовим екстрактом гомологічної тканини мозку з вмістом білку 0,33-0,5мг/мл за методом Лоурі (підшкірно вводять: в 1-й день - 0,5мл антигену; 2-й день - 1мл; 3-й день 1,5мл антигену) відтворення ішемії мозку шляхом порушення кровотоку по двох загальних сонних артеріях та одній вертебральній артерії. Недоліками способу є глобальна ішемізація мозку та можливість лише короткотривалих спостережень (від декількох хвилин до декількох діб), що не дозво-

ляло вивчити компенсаторні та відновлювальні процеси.

Задачею корисної моделі є створення комбінованого судинно-імунного ураження головного мозку, шляхом сенсibilізації мозковим антигеном та послідовною емболізацією гілок сонної артерії в півкулі головного мозку експериментальних тварин, що надійно відтворюються, і дає можливість різнобічного дослідження нейродегенеративних, компенсаторних та відновлювальних процесів з використанням гістологічних, біохімічних імунологічних та інших методів.

Технічний результат, що отримують в результаті вирішення задачі полягає в створенні моделі комбінованого судинно-імунного ураження головного мозку для дослідження дегенеративних, компенсаторних та відновлювальних процесів, а також для вивчення ефективних лікарських засобів.

Поставлена задача досягається тим, що у відомому способі моделювання комбінованого судинно-імунного ураження головного мозку, що включає сенсibilізацію тварин 20% водно-сольовим екстрактом гомологічної тканини мозку з вмістом білку 0,33-0,5мг/мл по методу Лоурі (підшкірно вводять: в 1-й день - 0,5мл антигену; 2-й день - 1мл; 3-й день 1,5мл антигену), згідно корисної моделі, через 12 діб після початку сенсibilізації у сонну артерію вводять суспензію ізольованих гомологічних адипоцитів у розчині, що містить 2,8г/л кальцію хлориду та 10г/л твіну.

Відмінною особливістю способу, що заявляється, є поєднання сенсibilізації тварин мозковим антигеном з наступною емболізацією гілок сонної артерії ізольованими адипоцитами.

(13) U
(11) 36843
(19) UA

Запропонований спосіб моделювання комбінованого судинно-імунного ураження головного мозку в експериментальних тварин здійснюють наступним чином:

Проводять сенсibilізацію тварин (щурів) 20% водно-сольовим екстрактом гомологічної тканини мозку з вмістом білку 0,33-0,5мг/мл по методу Лопури: в 1-й день - 0,5мл антигену; 2-й день - 1мл; 3-й день 1,5мл антигену. Через 12 днів після початку сенсibilізації тваринам у сонну артерію вводять 0,2мл розчину, що містить 20мл відмитих ізольованих адипоцитів, 2,8мл 10% розчину кальцію хлориду, 10г твіну та 0,9% розчин натрію хлориду до 100мл, після чого на артерію накладають лігатуру.

Результат: через 1-3 доби після операції спостерігається коматозний або сопорозний стан тварин, звуження очної щілини з боку операції, крововиливи в око 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 тварини у контрлатеральну сторону при знаходженні на горизонтальній поверхні. Гістологічно в ураженій півкулі через 1 добу виявляється набряк, в дрібних артеріях виявляються адипоцити, спостерігається дилатація кровоносних мікросудин та значний переваскулярний набряк, велика кількість реактивно змінених нейроцитів. З 3 доби в сенсорній корі виявляються ознаки інфаркту мозку. Через 30 діб на верхньо-бічній поверхні ураженої півкулі виявляється значний дефект тканини або кіста.

Прикладами конкретного виконання способу, що пропонується, є порівняльне дослідження комбінованого судинно-імунного ураження головного мозку та модельованого ішемічного uszkodження мозку у щурів. Піддослідні тварини були поділені на дві групи. Оперативні втручання здійснювали під внутрішньочеревним тіопенталовим наркозом (50мг/гк). Першу групу (контроль) склали 20 щурів, яким відтворювалася емболізація адипоцитами гілок сонної артерії. Другу групу склали 20 тварин в еону артерію яким емболізація адипоцитами гілок сонної артерії проводилася після попередньої сенсibilізації мозковим антигеном. Матеріал для дослідження, після евтаназії тварин передозуванням наркотичних засобів, забирався через 1, 3, 10 та 30 діб після початку дослідження. Мозок щурів фіксували в 10% нейтральному формаліні при 4°C протягом 24 годин та ущільнювали у парафіні. Гістологічні парафінові зрізи товщиною 7мкм забарвлювали азур II-еозином.

Проведені спостереження показали, що через 1 добу після початку дослідження щури, яким моделювалося комбіноване судинно-імунне ураження головного мозку, знаходилися в стані. Гістологічно в ураженій півкулі через 1 добу виявляється набряк, в дрібних артеріях виявляються адипоцити, спостерігається дилатація кровоносних мікросудин та значний переваскулярний набряк, велика кількість реактивно змінених нейроцитів.

У щурів контрольної групи проявляли дещо обмежену рухову активність, спостерігалися звуження очної щілини з боку операції, тонічна флек-

сія 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 тварини у контрлатеральну сторону при знаходженні на горизонтальній поверхні. Гістологічно в ураженій півкулі мозку в дрібних артеріях виявлялися адипоцити. Кровоносні судини з боку ураження були розширені. Виявлявся значний переваскулярний набряк. Відмічається гіперхромне забарвлення більшої частини нейроцитів.

Через 3 доби після початку дослідження у щурів, яким моделювалося комбіноване судинно-імунне ураження головного мозку, спостерігалось зниження рухової активності, звуження очної щілини та крововиливи в око 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 виявлялося ознаки початку формування осередку інфаркту.

У 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 виявлялося розширення кровоносних судин з боку ураження, виражені явища переваскулярного набряку.

Через 10 діб після початку дослідження у щурів, яким моделювалося комбіноване судинно-імунне ураження головного мозку, спостерігається зменшення виразності неврологічної симптоматики, але вона була більш виразна ніж при ізольованій ішемії мозку. В ураженій півкулі мозку визначався великий осередок інфаркту. У щурів, яким моделювалася ішемія, спостерігається зменшення виразності неврологічної симптоматики, рух у контрлатеральний бік при утриманні щура за хвіст виражений слабо, спонтанне обертання тварини у контрлатеральну сторону при знаходженні на горизонтальній поверхні практично відсутнє. В ураженій півкулі мозку зберігається розширення кровоносних судин з боку ураження, переваскулярний набряк зменшується, у порівнянні з попереднім строком спостережень.

Через 30 діб після початку дослідження у щурів, яким моделювалося комбіноване судинно-імунне ураження головного мозку, спостерігається помірно виражена неврологічна симптоматика. В ураженій півкулі мозку виявлялися формування великого розміру тканинного дефекту або кісти.

Через 30 діб після початку дослідження у 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 переваскулярний набряк. На гістологічних препаратах з боку операції у корі мозку візуально у 3 тварин визначається дефект тканин, а у двох - кісти заповнені рідиною.

Таким чином, проведені спостереження показали, що моделювання комбінованого судинно-

імунного ураження головного мозку призводить до посилення та збільшення розповсюдженості нейродегенеративних процесів.

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. Ганнушкина И.В.: Иммунологические аспекты травмы и сосудистых поражений головного мозга. - М., 1974. - 200 с.

3. 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.

4. 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.

5. 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.

6. 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.