



УКРАЇНА

(19) UA (11) 58384 (13) U
(51) МПК
G01N 33/48 (2011.01)
G09B 23/28 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРFUЗІЙНОГО УРАЖЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ В ЩУРІВ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

1

(21) u201011448

(22) 27.09.2010

(24) 11.04.2011

(46) 11.04.2011, Бюл.№ 7, 2011 р.

(72) ТКАЧУК СВІТЛАНА СЕРГІЄВНА, ЛЕНЬКОВ
ОЛЕКСАНДР МИХАЙЛОВИЧ, ТКАЧУК ОЛЕКСІЙ
ВОЛОДИМИРОВИЧ, ГАВАЛЕСКО ВАСИЛЬ ПЕТ-
РОВИЧ, ГАЛАГДИНА АЛЛА АВЕЛІВНА

(73) БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ

2

(57) Спосіб діагностики ішемічно-реперфузійного ураження головного мозку в щурів при цукровому діабеті, який **відрізняється** тим, що проводиться за умов ішемії-реперфузії головного мозку на тлі тримісячного цукрового діабету з дослідженням лізису колагену в корі лобової частки і гіпокампі головного мозку, що дозволяє встановити критерій оцінки розвитку ішемічно-реперфузійного ураження головного мозку при цукровому діабеті та сприятиме подальшим дослідженням такої поєднаної патології.

Спосіб відноситься до патологічної фізіології і може бути використаний при дослідженні стану мозкової тканини при поєднанні цукрового діабету та церебральної ішемії-реперфузії в експерименті в щурів.

Відомо, що цереброваскулярна патологія є однією з найбільш актуальних проблем сучасної медицини, що зумовлено зростанням розповсюдженості судинних захворювань. Особливу увагу привертають ішемічні пошкодження головного мозку, які становлять більше 2/3 усіх цереброваскулярних хвороб, тому процес ішемії мозку багато в чому є визначальним щодо рівня здоров'я й тривалості життя (Скворцова В. І. 2006 р.). На сьогодні не викликає сумніву існування причинно-наслідкового зв'язку між наявністю цукрового діабету й високим ризиком розвитку розладів мозкового кровообігу, у тому числі дисциркуляторної енцефалопатії та судинної деменції. За визначенням ВООЗ, цукровий діабет останнім часом набуває ознак неінфекційної епідемії. На сьогодні в усьому світі налічується 240 млн. хворих на цукровий діабет, а до 2030 р. ця кількість зросте до 330, а можливо, й до 500 млн. Станом на 01.01.2007 р. в Україні зареєстровано 1048375 хворих на цукровий діабет, що становить 2242,6 випадків на 100

тис. населення. Внаслідок цього надзвичайно гостро стоїть питання зростання поширеності хронічних ускладнень цукрового діабету, вивчення механізмів їх виникнення, діагностичних особливостей та розробки ефективних засобів лікування та профілактики.

Аналогом способу є дослідження L.Garcia-Bonilla, J.Burda, D.Pineiro та співавт. (Calpain-induced proteolysis after transient global cerebral ischemia and ischemic tolerance in a rat model / L. Garcia-Bonilla, J. Burda, D. Pineiro [et al.] // Neurochem. Res. - 2006. - Vol.31, № 12. - P. 1433-1441), які вивчали стан тканинного протеолізу в корі півкуль та гіпокампі головного мозку щурів при його ішемічно-реперфузійному пошкодженні шляхом дослідження вмісту кальпостатину. Встановлено, що в реперфузійному періоді достовірно зростає вміст кальпостатину в зазначених мозкових структурах.

Недоліком способу-аналогу є те, що вивчення стану тканинного протеолізу не охоплює лізис колагену в тканині головного мозку і досліджується за відсутності фонових захворювань.

В основу корисної моделі поставлено задачу вдосконалити діагностику ураження головного мозку при його двобічній каротидній ішемії-

(19) UA (11) 58384 (13) U

реперфузії на тлі тримісячного цукрового діабету за лізисом колагену в корі лобової частки та гіпокампі щурів.

Для вирішення поставленої задачі дослідили лізис колагену в корі лобової частки та полях CA1, CA2 і CA3 гіпокампа головного мозку щурів.

Ознаки корисної моделі: лізис колагену, цукровий діабет, ішемія-реперфузія головного мозку.

Спільними ознаками аналогу та способу, що заявляється є дослідження протеолізу, об'єкт і структури дослідження

Відмінність винаходу від аналогу представлена в таблиці 1.

Таблиця 1

Порівняння винаходу та аналогу за ознаками

Ознака	Спосіб, що заявляється	Аналог
об'єкт дослідження - лабораторні щури з ішемією-реперфузією головного мозку	досліджувалися	досліджувалися
структури, обрані для дослідження: кора півкуль та гіпокамп головного мозку	досліджувалися	досліджувалися
протеоліз у мозковій тканині	досліджувався	досліджувався
лізис колагену в мозковій тканині	досліджувався	не досліджувався
фонова патологія	наявна (цукровий діабет)	відсутня

Визначення термінів, які використовуються при описі винаходу: лізис колагену, цукровий діабет, ішемія-реперфузія.

Теоретичні передумови здійснення способу, що заявляється. Особливості перебігу інсульту визначаються доінсультним (фоновим) станом мозкового метаболізму, його енергетичними потребами та статусом і реактивністю нейроімунно-ендокринної системи організму. Серед фонових захворювань, на тлі яких розвивається ішемія головного мозку, цукровий діабет є одним із найбільш поширених. Цукровий діабет підвищує ризик розвитку ішемічних уражень головного мозку в декілька разів. Особливого значення набувають такі ускладнення цукрового діабету, як коми, що призводять до розвитку неповної глобальної ішемії головного мозку з подальшою реперфузією, яка додатково ускладнює порушення енергетики нейронів та глії. У комплексі місцевих реакцій, які виникають при ішемії-реперфузії, важливу роль відіграють зміни в системах тканинного протеолізу, що є маркером відповіді тканини на стрес. Стан тканинного протеолізу багато в чому визначає патогенез ішемічно-реперфузійних змін, ступінь пошкодження клітин, а також адаптацію і виживання ураженої тканини головного мозку.

Корисна модель здійснюється наступним: цукровий діабет моделювали шляхом одноразового

внутрішньоочеревинного введення стрептозотцину (Sigma, Aldrich) у дозі 60 мг/кг самцям щурів віком два місяці. Тривалість діабету - три місяці. Для виконання двобічної каротидної ішемії-реперфузії під внутрішньоочеревинним наркозом (каліпсол, 75 мг/кг) переднім серединним шийним доступом виділяли обидві загальні сонні артерії, які кліпсували на 20 хв., після чого кліпси знімали для реперфузії упродовж 1 год. Забій тварин здійснювали декапітацією під каліпсоловим наркозом. Після фіксації мозку в рідкому азоті, користуючись атласом стереотаксичних координат забирали для дослідження кору лобової частки та поля CA1, CA2 і CA3 гіпокампа. У гомогенатах вказаних структур вивчали тканинну протеолітичну активність.

Даний спосіб використовується на кафедрі патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету впродовж 2010 р. Дослідження проведено на 11 самцях білих нелінійних щурів чотирьох груп: контрольні тварини, щури, на яких виконано двобічну каротидну ішемію-реперфузію, щури з цукровим діабетом і щури з цукровим діабетом, яким виконано каротидну ішемію-реперфузію.

Приклад використання корисної моделі. Для дослідження протеолітичної активності визначали лізис колагену. Результати способу приведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Вплив ішемії-реперфузії на показники тканинного протеолізу в корі лобової частки та різних полях гіпокампа самців-щурів за умов цукрового діабету ($M \pm m, n=11$)

	Група спостереження	Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)
Кора лобової частки	Контроль	$5,10 \pm 0,131$
	Ішемія-реперфузія	$5,70 \pm 0,151$ $p_1 < 0,01$
	Цукровий діабет	$6,10 \pm 0,533$
	Цукровий діабет та ішемія-реперфузія	$3,89 \pm 0,549$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,01$
Поле СА1	Контроль	$6,06 \pm 0,180$
	Ішемія-реперфузія	$6,58 \pm 0,310$
	Цукровий діабет	$7,33 \pm 0,825$
	Цукровий діабет та ішемія-реперфузія	$4,67 \pm 0,581$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$
Поле СА2	Контроль	$5,71 \pm 0,133$
	Ішемія-реперфузія	$7,92 \pm 0,382$ $p_1 < 0,001$
	Цукровий діабет	$7,76 \pm 0,550$ $p_1 < 0,01$
	Цукровий діабет та ішемія-реперфузія	$5,60 \pm 0,573$ $p_2 < 0,05$ $p_1 < 0,01$
Поле СА3	Контроль	$4,86 \pm 0,126$
	Ішемія-реперфузія	$6,63 \pm 0,112$ $p_1 < 0,001$
	Цукровий діабет	$7,33 \pm 0,642$ $p_1 < 0,01$
	Цукровий діабет та ішемія-реперфузія	$5,04 \pm 0,441$ $p_2 < 0,01$ $p_1 < 0,01$

Примітки: вірогідність різниці порівняно з: p_1 - контролем, p_2 - діабетом, p_3 - ішемією-реперфузією.

Показники усіх структур головного мозку, що вивчалися, реагували на цукровий діабет та двобічну каротидну ішемію-реперфузію односпрямовано або не реагували, тобто були відсутні дискордантні зміни.

Характерною закономірністю змін тканинного протеолізу у відповідь на поєднання двобічної каротидної ішемії-реперфузії та тримісячного цукрового діабету є зниження лізису колагену в усіх досліджених структурах.

Технічний результат: діагностика ішемічно-реперфузійного ураження головного мозку в щурів

при цукровому діабеті проводиться за умов ішемії-реперфузії головного мозку на тлі тримісячного цукрового діабету за лізисом колагену. Двобічна каротидна ішемія-реперфузія на тлі тримісячного цукрового діабету пригнічує лізис колагену в корі лобової частки і гіпокампі головного мозку щурів. Застосування запропонованого способу дозволило встановити критерій оцінки розвитку ішемічно-реперфузійного ураження головного мозку при цукровому діабеті в щурів, що сприятиме подальшим дослідженням стану мозкової тканини за умов такої поєднаної патології.