



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **101571** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)
A61B 17/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2015 01812	(72) Винахідник(и):	Берченко Ольга Григорівна (UA), Тіткова Анна Маратівна (UA)
(22) Дата подання заявки:	02.03.2015	(73) Власник(и):	ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ НЕВРОЛОГІЇ, ПСИХІАТРІЇ ТА НАРКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ",
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	25.09.2015		вул. Академіка Павлова, 46, м. Харків, 61068 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.09.2015, Бюл.№ 18		

(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ ЕКСТРАПІРАМІДНИХ ПОРУШЕНЬ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

(57) Реферат:

Спосіб корекції екстрапірамідних порушень в експерименті включає проведення внутрішньомозкової нейротрансплантації ембріональної тканини, клітини якої є попередниками дофамінсинтезуючих нейронів. Нейротрансплантацію проводять через нюхову транспортну систему у поєднанні з інтраназальним введенням надмалих доз дофаміну, а саме 0,04 мг/кг, що складає $5,3 \times 10^{-8}$ моля на кожну тварину.

UA 101571 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до неврології, та може бути використана для лікування екстрапірамідних порушень, які виникають внаслідок прогресуючої загибелі дофамінергічних нейронів у компактній частині substantia nigra (SN) мозку.

Найближчим аналогом корисної моделі є спосіб корекції екстрапірамідних порушень у експериментальних тварин і хворих на хворобу Паркінсона за допомогою трансплантації ембріональних клітин-попередників дофамінсинтезуючих нейронів (Берченко О.Г. Восстановление экстрапирамидных функций у крыс трансплантацией эмбриональной дофаминсинтезирующей ткани мозга // Экспериментальная і клінічна медицина. - 2012. - № 2 (55). - С. 19-24.). Цей спосіб дозволяє замінити або призупинити дегенерацію дофамінергічних нейронів у нігостріальній системі мозку хворого трансплантованими ембріональними нейрональними клітинами, а також призводять до стимуляції процесів відновлення у пошкодженій нервовій тканині ростовими нейротрофічними факторами, що експресують пересажені нейрони.

Недоліком цього способу є те, що нейротрансплантація ембріональних клітин і тканин мозку не завжди викликає повне відновлення рухів, що зумовлено поступовою дегенерацією трансплантату. Підвищення регенераторних властивостей трансплантату є можливим завдяки екзогенним впливам біологічно активних речовин: факторів росту, цитокінів, нейромедіаторів, рецептори яких знаходяться на клітинах-попередниках. Проте ці речовини мають низьку здатність або неспроможність щодо проникнення через гематоенцефалічний бар'єр мозку внаслідок великої молекулярної маси або гідрофільності.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу корекції екстрапірамідних порушень шляхом внутрішньомозкової трансплантації ембріональних тканин поряд з введенням надмалих доз дофаміну, що забезпечить підвищення регенеративного потенціалу нейротрансплантації внаслідок стимуляції та відновлення активності дофамінергічних нейронів у нігостріальній системі мозку та активності гіпоталамогіпофізарної системи мозку.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб корекції екстрапірамідних порушень в експерименті, що включає проведення внутрішньомозкової нейротрансплантації ембріональної тканини, клітини якої є попередниками дофамінсинтезуючих нейронів, згідно з корисною моделлю, нейротрансплантацію проводять у поєднанні з інтраназальним введенням надмалих доз дофаміну - 0,04 мг/кг, що складає $5,3 \times 10^{-8}$ моля на кожну тварину через нюхову транспортну систему.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Щурам з екстрапірамідними порушеннями, що викликають шляхом однобічного електролітичного пошкодження компактної частини SN, трансплантують у хвостате ядро від 8 до 10 мг ембріональної тканини SN щурят від 20 до 21 днів гестації. Розчин дофаміну вводять інтраназально в надмалій дозі 0,04 мг/кг, що складає $5,3 \times 10^{-8}$ моля на кожну тварину.

Рухову активність тварин оцінюють на 7-й, 14-й, 21-й і 28-й дні після трансплантації та субхронічного інтраназального введення надмалих доз дофаміну. Реєструють латентні періоди виникнення рухів, горизонтальну і вертикальну активність, орієнтовно-дослідницьку та емоційну реакції, індекс активності в тесті "open field", маневрні рухи, індуковані введенням амфетаміну, неврологічні порушення екстрапірамідної системи - тремор, реакцію піднятого хвоста, ригідність м'язів.

Визначають вміст дофаміну, норадреналіну та адреналіну у хвостатому ядрі мозку щурів; активність ацетилхолінестерази (AXE) - у хвостатому ядрі та наднирковій залозі; рівень кортизолу і серотоніну - у плазмі крові.

Щуру на 30-й день після електролітичного пошкодження компактної частини SN трансплантують у хвостате ядро ембріональну тканину мозку, яка містить попередник дофамінсинтезуючих нейронів, а потім на 7-й день після нейротрансплантації вводять інтраназально надмалі дози дофаміну. По закінченню експерименту щурів досліджують, згідно з вищезазначеними методиками.

Таким чином, внутрішньомозкова нейротрансплантація ембріональної тканини, клітини якої є попередниками дофамінсинтезуючих нейронів, та інтраназальне введення надмалих доз дофаміну - 0,04 мг/кг, що складає $5,33 \times 10^{-8}$ моля на кожну тварину сприяють пригніченню тремору, відновленню тонуусу м'язів, рухової активності, що зумовлено стимулюючим впливом на дофамінергічні та холінергічні процеси у хвостатому ядрі та активність гіпоталамогіпофізарної системи.

Приклад.

У щура однобічне електролітичне пошкодження SN електричним струмом силою від 3 до 4 мА протягом 15 с призводило до порушення статокінетичних рефлексів у вигляді повної

асиметрії, тремору голови та реакції піднятого хвоста. Тварина була загальмованою, нерішучою щодо здійснення рухового акту. Під час спостереження протягом 30 днів порушення статичної поведінки посилювалися, виникала ригідність м'язів. Латентний період виникнення руху під час пересічення першого квадрату (за даними тесту "open field") підвищувався до 8 с проти 1 с інтактних щурів; горизонтальна активність зменшувалася: тварина перетинала 6 квадратів за 5 хв проти 40 квадратів у інтактних щурів (тест "open field"); коефіцієнт активності знижувався на 80 % на відміну від інтактних тварин. Маневрні рухи, індуковані введенням амфетаміну, досягали 25-30 обертів за 1 хв.

Концентрація дофаміну у хвостатому ядрі головного мозку складала 2412,0 нг/г тканини, тоді як у інтактного щура - 4338,0 нг/г; рівень норадреналіну - 327,0 нг/г тканини проти 340,0 нг/г інтактних щурів; рівень адреналіну зменшився до 83,6 нг/г тканини проти 115,0 нг/г у інтактних щурів. Ці дані свідчать про порушення нейротрансмісії дофаміну в нігрозстріальній системі мозку.

Вміст серотоніну і кортизолу в плазмі крові щурів складав 8,4 і 24,6 нмоль/л відповідно на відміну від 10,2 і 7,3 нмоль/л інтактних тварин. Активність АХЕ у хвостатому ядрі складала 27,7 нмоль/мг білка за хвилину, а у наднирковій залозі - 55,5 нмоль/мг білка за хвилину на відміну від показників інтактних щурів - 25,4 і 15,4 нмоль/мг білка за хвилину відповідно.

Після нейротрансплантації у хвостатому ядрі ембріональної тканини, що містить клітини-попередники дофамінсинтезуючих нейронів, щурят від 20 до 21 днів гестації, масою 8 мг та інтраназального введення за 7 днів після нейротрансплантації розчину дофаміну у надмалій дозі 0,04 мг/кг, тобто $5,3 \times 10^{-8}$ моля, відзначають наступне:

1. Регрес рухових порушень проявлявся у повному пригніченні тремору, починаючи від 7-го та майже до 30-го дня після впливів. Реакція піднятого хвоста знижувалася з різким її гальмуванням. Ригідність м'язів відзначалася протягом 14 днів, потім відбувалося відновлення м'язового тону.

2. Горизонтальна активність в тесті "open field" зростала, починаючи від 14-го дня поєднаних впливів нейротрансплантації та інтраназального введення надмалих доз дофаміну, і складала 23 пересічення квадратів за 5 хв. Коефіцієнт активності підвищувався у 2 рази на відміну від щурів з електролітичним пошкодженням SN. Кількість обертів знизилася до 2,5 за хв.

3. Концентрація дофаміну у хвостатому ядрі головного мозку складала 8360,0 нг/г, норадреналіну - 599,0 нг/г, адреналіну - 127,3 нг/г. Тобто нейро-трансплантація та інтраназальне введення надмалих доз дофаміну активує процеси синтезу та обміну дофаміну у хвостатому ядрі, що сприяє покращенню рухової активності у щурів та відновленню неврологічного дефіциту.

4. Активність АХЕ у хвостатому ядрі зросла до 48,3 нмоль/мг білка за хвилину, а у наднирковій залозі знизилася до 37,5 нмоль/мг білка за хвилину порівняно із щурами з екстрапірамідними порушеннями, що свідчить про посилення інтенсивності центральних механізмів регуляції холінергічних процесів у забезпеченні рухової активності.

5. Вміст серотоніну у плазмі крові практично не відрізнявся від показників щурів з електролітичним пошкодженням SN і складав 8,8 нмоль/л. Відзначалася нормалізація секреції кортизолу, рівень якого у плазмі крові складав 4,6 нмоль/л, тобто нейротрансплантація поєднано з інтраназальним введенням надмалих доз дофаміну спричиняла антистресорну дію.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб корекції екстрапірамідних порушень в експерименті, що включає проведення внутрішньомозкової нейротрансплантації ембріональної тканини, клітини якої є попередниками дофамінсинтезуючих нейронів, який **відрізняється** тим, нейротрансплантацію проводять у поєднанні з інтраназальним введенням надмалих доз дофаміну, а саме 0,04 мг/кг, що складає $5,3 \times 10^{-8}$ моля на кожну тварину через нюхову транспортну систему.

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601