



УКРАЇНА

(19) UA (11) 39735 (13) A

(51) 7 G09B23/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ГОСТРОГО ГЕМОРАГІЧНОГО ІНСУЛЬТУ У БІЛИХ МИШЕЙ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ІМУНОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

(21) 2001010515

(22) 23.01.2001

(24) 15.06.2001

(46) 15.06.2001, Бюл. № 5, 2001 р.

(72) Макаренко Олександр Миколайович, Максимов Юрій Миколайович, Аркад'єв Вячеслав Георгійович, Григор'єва Тетяна Іванівна, Новік Людмила Василівна

(73) ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

(57) 1. Спосіб моделювання гострого геморагічного інсульту у білих мишей для проведення імунологічних досліджень шляхом стереотаксичного вживлення ін'єкційних голки і введення аутокрові, який відрізняється тим, що попередньо травмують ділянку мозку і вводять аутокров в кількості відповідно 0,05 - 0,08 мл в обидві півкулі протягом 0,5 хв.

2. Спосіб по п.1, який відрізняється тим, що травмування ділянки мозку проводять коловими рухами зігнутого мандрена.

Винахід відноситься до експериментальної медицини і може бути використаний для вивчення патофізіології геморагічного інсульту, а також для експериментальної фармакотерапії і імунології. Спосіб дозволяє підвищити відтворюваність моделі. Для цього в головний мозок по стереотаксичним координатам білатерально вживляють тупі ін'єкційні голки, в які вводять зігнуті мандрени. 4 - 6 круговими рухами мандрену травмують тканину мозку білих мишей і судини, що проходять в ній, після чого в утворені ділянки деструкції і мікрокрововиливів додатково вводять 0,05 - 0,08 мл аутокрові тварини.

Відомі способи моделювання геморагічного інсульту шляхом впливу звуку, введення крові в різні структури головного мозку.

Найбільш близьким до даного є спосіб моделювання геморагічного інсульту шляхом введення 1,2 - 1,5 мл аутокрові, змішаної з 0,2 мл гепарину під тиском (120 - 150 мм рт.ст.) у внутрішню капсулу однієї з півкуль мозку кішок через голку, яка вживлена по стереотаксичним координатам.

Але відомий спосіб має наступні недоліки: висока летальність тварин (80%) в ранні періоди розвитку інсульту в результаті прориву крові в шлуночки або наростаючої компресії мозку при ушкодженні найближчих зон ураження великих судин введеною кров'ю, що не відповідає вимогам хронічного дослідження. Невизначеність ушкодження структур мозку в результаті приєднання загально-мозкових симптомів, що виникають при ретроградному проникненні залишку крові впродовж голки під мозкові оболонки, є неприйнятним в експе-

риментальній нейрофармакології і невропатології. Виникнення геморагій є небажаним, але вони є наслідком гепаринізації крові. Невисока і надійність методу при похибках в техніці моделювання монолатеральних крововиливів. Крім того, в усіх відомих моделях інсульту використовуються великі лабораторні тварини (коти, кролі, мінісвині), або щури, що не тільки удорожує дослідження при невеликих вибірках тварин і є причиною статистичної недостовірності отриманих результатів. Ці тварини не можуть бути використані в експериментальній імунології і нейроімунології в разі необхідності дослідження показників клітинного та гуморального імунітету.

Метою нашого винаходу є підвищення відтворюваності моделі гострого геморагічного інсульту у дрібних лабораторних тварин - білих мишей.

Поставлена мета досягається тим, що у тварини попередньо травмують ділянку мозку з наступним (через 2-3 хв) введенням аутокрові в кількості 0,05 - 0,08 мл на протязі 0,5 хв.

Досліди були виконані на 118 нелінійних білих мишах обох статей масою 18 - 22 г, у яких експериментально моделювали геморагічний інсульт різного ступеню важкості.

Дослідним тваринам проводили загальну анестезію дітиловим ефіром (aether pro narcosi), після чого вони були поділені на 3 групи. У анестезованих тварин (ст. III.1 - ст. III.2) проводили сагітальний розріз покривних тканин в лобній, тім'яній і потиличній областях, видалення надкостниці з відповідних кісток черепа, висвердлювали 2 отвори (проекція capsula interna - C.I.) правої та лівої

півкуль мозку. При цьому раньову поверхню осушували від крові та цереброспинальної рідини.

У тварин I групи моделювання геморагічного мозкового інсульту здійснювали у відповідності з раніше розробленою методикою за допомогою ділянки металічного мандрена, девіантно виступаючого з попередньо підготовленої ін'єкційної голки, удосконаленої гумовим фіксатором для обмеження глибини його проникнення в мозок тварин.

Травматизація тканин мозку досягалась здійснюваними за годинниковою стрілкою 4 - 6 круговими рухами мандрена і, таким чином, "конусоподібного" підсилення тканини мозку з ураженням судин в ділянці СІ [1]. Тваринам наступної експериментальної серії додатково (у фронтальній площині) прямим мандреном травмували центральну частину підсиленого тканинкового "конусу", а також вищеразташованих ділянок обох півкуль.

Білим мишам, що входять в III (головну) дослідну групу (важка форма ГНМК) указані ділянки тканинного детриту обох півкуль додатково вводили за допомогою шприца 0,05 - 0,08 мл аутокрові. Потім краї рани зашивали і цю ділянку обробляли антисептиком - 1% спиртовим розчином йоду.

Співставлений аналіз ршення, що заявляється, з прототипом показує, що вперше біпівкульний геморагічний інсульт моделюється шляхом попереднього механічного травмування локальних судин мозку 4 - 6- коловими рухами мандрена, введених у білатерально вживлені в СІ голки, з наступним через 2-3 хв введенням 0,05 - 0,08 мл аутокрові тварини на протязі 0,5 хв.

Таким чином, спосіб, що заявляється, відповідає критерію "новизна".

Відомі способи моделювання біпівкульного геморагічного інсульту звуковою травмою. Разом з тим, спосіб, що пропонується, відрізняється від відомого тим, що вперше геморагічний інсульт моделюється шляхом попереднього травмування тканини і судин мозку коловими рухами мандрена, проведеного через стереотаксично вживлені першу і другу ін'єкційні голки з наступними через 2 - 3 хв ін'єкціями аутокрові тварини по 0,05 - 0,08 мл на протязі 0,5 хв.

Це дозволяє зробити висновок про відповідність способу, що заявляється, за критерієм "суттєвої відмінності".

Аналіз результатів, отриманих в ході досліджень, свідчить про те, що найбільш адекватною поставленій меті відтворення моделі геморагічного інсульту є модель відтворена у тварин III дослідної групи. Конкретні приклади виконання моделювання також свідчать про те, що мета була досягнута.

Приклад 1. Біла миша масою 20 г, самець, анестезована діетиловим ефіром. Голова тварини фіксована в стереотаксичному апараті. Скальпелем проведений розріз м'яких покривних тканин черепа в сагітальному напрямку. По передній і латеральній координатах АР 0,7, L 2,2 знайдено зони, в яких бормашиною просвердлено отвори. Через них в обидві півкулі мозку введені тупі голки на глибину Н 2,2 мм, що відповідає розташуванню внутрішньої капсули. Голки фіксовані гумовим фіксатором, закріпленням на черепі. Шприцем з 0,05 мл гепарину взято 0,35 мл венозної крові тварини і

введено через голки, які вживлені в обидві внутрішні капсули. Через 1 год - прогресуюче зниження частоти дихання до 8/хв. Загибель миші зафіксовано через 40 хв після відтворення геморагічного інсульту.

На макропрепаратах мозку - масивний крововилив в обидві гемісфери мозку з проникненням крові в бокові шлуночки.

Приклад 2. Біла миша масою 20 г, самець, анестезована діетиловим ефіром. Голова тварини фіксована в стереотаксичному апараті. Скальпелем проведений розтин м'яких покривних тканин черепа в сагітальному напрямку. По передній і латеральній координатах АР 0,7, L 2,2 праворуч та лворуч знайдено точки, в яких бормашиною просвердлено отвори. Через них білатерально введені тупі голки на глибину Н 2,2 мм. Голки фіксовані фіксатором, закріпленням на черепі тварини.

В голки введені зігнуті мандрени і 4 - 6 круговими рухами травмовані ділянки внутрішніх капсул мозку і судини, що проходять в них. Через 0,5 хв після додаткової деструкції в цій зоні правої і лівої півкуль введено по 0,08 мл аутокрові тварини.

В наступну добу - тварина адинамічна, рухається повільно, знижена чутливість по типу тетраанестезії. Нормалізація стану на протязі 3 діб. Тварина виведена з експерименту. При вивченні макропрепарату мозку зареєстровані білатеральні ділянки крововиливів в зонах обох внутрішніх капсул.

Приклад 3. Біла миша масою 18 г, самець, анестезована діетиловим ефіром. Голова тварини фіксована в стереотаксичному апараті. Скальпелем проведений розтин покривних м'яких тканин черепа в сагітальному напрямку. По передньо-задній і латеральній координатах АР 0,7, L 2,2 праворуч та лворуч знайдено точки, в яких бормашиною були просвердлені отвори. Через них білатерально введені тупі голки на глибину Н 2,2 мм. Голки фіксовані фіксатором, закріпленням на черепі. В голки введені зігнуті мандрени і 4 - 6 круговими рухами травмовані ділянки правої та лівої внутрішніх капсул мозку і судини, що в них проходять. Через 0,5 хв після додаткового травмування через голки в утворені ділянки деструкції введено по 0,05 мл аутокрові тварини. Нормалізація дихання через 19 хв.

З перших годин після експериментального моделювання тварина самостійно рухається. Дихання та пульс стабілізувались в межах норми. На 5 добу - задовільне відновлення рухових функцій. Тварина виведена з експерименту. На макропрепаратах мозку - білатеральні ділянки крововиливів в обидві внутрішні капсули.

Моделювання геморагічного інсульту методом, що заявляється, дозволяє одержати характерну для крововиливу у внутрішню капсулу мозку неврологічну симптоматику, віддалити загибель тварин для задоволення вимог хронічного дослідження по нейроімунології і підвищити відтворюваність методу до 93,3 %.

Перелік посилань

1. Ас № 17675118 А1 от 08.06.92 / Косицин М.С., Карпенко С.В., Мишина В.А., Макаренко А.Н. Способ моделирования геморрагического инсульта.

39735

Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»
Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03
