



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **96521** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)
A61B 10/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2014 09193	(72) Винахідник(и): Макаренко Олександр Миколайович (UA), Бібікова Вікторія Миколаївна (UA), Терещенко Наталя Миколаївна (UA), Васільсва Ірина Георгіївна (UA), Довгий Роман Сергійович (UA)
(22) Дата подання заявки: 15.08.2014	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.02.2015	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.02.2015, Бюл.№ 3	(73) Власник(и): Макаренко Олександр Миколайович, вул. Предславинська, 14, кв. 27, м. Київ, 03150 (UA)

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ КЛІТИННИХ УТВОРЕНЬ СЕКЦІЙНОГО ЗРАЗКА ГОЛОВНОГО МОЗКУ

(57) Реферат:

Спосіб оцінки клітинних утворень секційного зразка головного мозку включає дослідження зразка за станом нейронно-трофічного апарата окремої області мозку із визначенням кількості нейронів та гліальних клітин і відповідно гліальної формули. Додатково оцінюють співвідношення кількості гліальних клітин окремих субпопуляцій на одиницю площі за допомогою гліального індексу кількісного (ГІК): астроцитів до мікрогліоцитів (ГІК1=A/M), олігодендроцитів до мікрогліоцитів (ГІК2=O/M) та астроцитів до олігодендроцитів (ГІК3=A/O). При відхиленні отриманих результатів співвідношень за межі нормальних роблять висновок про патологічні зміни головного мозку.

UA 96521 U

Корисна модель належить до області медицини, зокрема до експериментальної біології та фармакології, і може бути використана для оцінки різних структур і клітинних утворень головного мозку в нормі та при експериментальному відтворенні нозологій головного мозку.

Відомий спосіб оцінки нейрогліального індексу (Ишуніна Т.А. Нейроглияльный индекс в ядрах переднебазального мозга и гипоталамуса при болезни Альцгеймера и сосудистой деменции. "Человек и его здоровье". 2012. - №1. С. 20-24). Нейрогліальний індекс (нейрогліальна формула) визначається як відношення кількості гліальних клітин до кількості нейронів в одному і тому ж об'ємі мозкової речовини.

Недоліком відомого способу оцінки нейрогліального індексу є те, що у ньому оцінюється відношення гліальних клітин до нейронів, без оцінки співвідношення окремих субпопуляцій гліальних клітин.

Найбільш близьким за сукупністю ознак є спосіб оцінки клітинних утворень секційного зразка головного мозку (Патент України № 89318, МПК А61В 10/00, заявл. 16.12.2013; опубл. 10.04.2014, Бюл. № 7), що включає дослідження зразка за станом нейронно-трофічного апарата окремої області мозку із визначенням кількості нейронів та гліальних клітин і відповідно гліальної формули. Також визначають щільність нейронів та гліальних клітин, довжини капілярів та капілярного індексу. На основі цього визначають статеві відмінності.

Гліальні клітини різних субпопуляцій виконують різні функції, тому розвиток патологій головного мозку може супроводжуватися, наприклад, збільшенням кількості мікрогліоцитів і зменшенням кількості олігодендроцитів, при цьому сумарна кількість гліальних клітин змінюватиметься не настільки суттєво. Оскільки відсоток субпопуляцій гліальних клітин може коливатися у зв'язку з індивідуальними особливостями різних організмів, доцільною є оцінка співвідношень кількості гліальних клітин різних субпопуляцій між собою.

В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалення способу оцінки клітинних утворень головного мозку шляхом визначення співвідношення кількостей гліальних клітин різних субпопуляцій між собою, що дасть змогу виявити та оцінити патологічні зміни головного мозку.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі оцінки клітинних утворень секційного зразка головного мозку, що включає дослідження зразка за станом нейронно-трофічного апарата окремої області мозку із визначенням кількості нейронів та гліальних клітин і відповідно гліальної формули, згідно з корисною моделлю, додатково оцінюють співвідношення кількості гліальних клітин окремих субпопуляцій на одиницю площі за допомогою гліального індексу кількісного (ГІК): астроцитів до мікрогліоцитів ($ГІК_1=A/M$), олігодендроцитів до мікрогліоцитів ($ГІК_2=O/M$) та астроцитів до олігодендроцитів ($ГІК_3=A/O$) і при відхиленні отриманих результатів співвідношень за межі нормальних роблять висновок про патологічні зміни головного мозку.

Перевагами нового способу є те, що завдяки визначенню відсоткового вмісту окремих субпопуляцій гліальних клітин: астроцитів, мікрогліоцитів та олігодендроцитів, а також визначення співвідношення кількостей гліальних клітин цих субпопуляцій між собою, дає змогу виявити та оцінити патологічні зміни головного мозку при різного роду патологіях головного мозку, які виражаються у порушеннях кількості та співвідношення окремих субпопуляцій гліальних клітин. Спосіб дозволяє проводити кількісно-якісну оцінку не лише в окремих відділах мозку, але навіть в різних шарах цереброкортексу і клітинних утвореннях різних відділів мозку і підвищити достовірність досліджень мозку в цілому.

Пропонований спосіб оцінки клітинних утворень секційного зразка головного мозку виконується наступним чином. На першому етапі досліджують і кількісно оцінюють клітинний склад окремої структури мозку. Виготовляють мікропрепарати досліджуваної ділянки мозку. Зафарбовують гематоксиліном та еозином. Визначають кількість різних субпопуляцій гліальних клітин (астроцитів, олігодендроцитів і мікрогліоцитів) за допомогою світлової мікроскопії, і загальну кількість гліальних клітин в окремо виділеному полі зору (від 5 до 10). На основі отриманих даних для порівняння вмісту гліальних клітин окремих субпопуляцій у полях зору різної площі визначають гліальну формулу клітинної структури мозку у відсотках - $ГФ=A+O+M=100\%$, де А - відсоток астроцитів на одиницю площі, О - відсоток олігодендроцитів на одиницю площі, М - відсоток мікрогліоцитів на одиницю площі. На другому етапі проводять кількісно-якісний аналіз за допомогою гліального індексу кількісного (ГІК). Визначають відношення загальної кількості астроцитів до загальної кількості мікрогліоцитів $ГІК_1=A/M$, олігодендроцитів до мікрогліоцитів $ГІК_2=O/M$ і астроцитів до олігодендроцитів - $ГІК_3=A/O$. За нормативні показники приймають значення, отримані у інтактних тварин. Таким чином, норма гліальної формули у щурів: $17,44\pm 1,7\%+53,04\pm 4,7\%+29,52\pm 3\%=100\%$. Гліальний індекс кількісний в нормі має наступні значення: $ГІК_1=0,6029\pm 0,1188$; $ГІК_2=1,835\pm 0,345$;

ГІКЗ=0,3289±0,0617. На основі відхилення отриманих результатів за межі норми роблять висновок про патологічні зміни головного мозку у щурів.

Приклад.

Виготовили мікропрепарати досліджуваної ділянки мозку щурів трьох груп: котрі перехворіли на первинний геморагічний інсульт, котрі перехворіли на повторний інсульт, та інтактних щурів.

Підраховували кількість клітин у полі зору площею 0,689 мм². Отримані результати гліальної формули та гліального індексу кількісного для дослідних груп тварин зведені відповідно в Таблицю 1 та Таблицю 2.

Таблиця 1

Гліальна формула у інтактних щурів та щурів, які перенесли первинний та повторний інсульт

		Гліальна формула
Інтактні щурі		17,44 % + 53,04 % + 29,52 % = 100 %
Щурі, які перенесли первинний інсульт	Контралатеральна півкуля	18,47 % + 45,47 % + 36,06 % = 100 %
	Іпсілатеральна півкуля	11,34 % + 36,75 % + 51,91 % = 100 %
Щурі, які перенесли повторний інсульт	Контралатеральна півкуля	28,47 % + 35,58 % + 35,95 % = 100 %
	Іпсілатеральна півкуля	8,57 % + 41,8 % + 49,63 % = 100 %

Таблиця 2

Гліальний індекс кількісний у інтактних щурів та щурів, які перенесли первинний та повторний інсульт

	Інтактні щурі	Щурі, які перенесли первинний інсульт		Щурі, які перенесли повторний інсульт	
		Контралатеральна півкуля	Іпсілатеральна півкуля	Контралатеральна півкуля	Іпсілатеральна півкуля
ГІК ₁	0,5909	0,5121	0,2185	0,7919	0,1726
ГІК ₂	1,7967	1,2609	0,7079	0,9897	0,8422
ГІК ₃	0,3289	0,4061	0,3087	0,8002	0,2049

На основі отриманих даних, у щурів, які перенесли первинний геморагічний інсульт, спостерігалось зниження показників ГІК₁, ГІК₂ у дослідній іпсілатеральній півкулі у порівнянні з відповідними показниками контралатеральної півкулі та обох півкуль мозку інтактних щурів. Більше того, показник ГІК₂ виявилися зниженими у контралатеральній півкулі мозку щурів, які перенесли інсульт, у порівнянні з відповідними показниками обох півкуль мозку інтактних щурів.

Подібно до первинного інсульту, при повторному інсульті також спостерігалось зниження показників ГІК₁, ГІК₂ у дослідній іпсілатеральній півкулі у порівнянні з відповідними показниками контралатеральної півкулі та обох півкуль мозку інтактних щурів, а також знижується показник ГІК₃. При первинному та повторному інсульті спостерігаються вищі значення ГІК₃ у контралатеральній півкулі дослідних щурів у порівнянні з інтактними. Найбільш значимими критеріями первинного та повторного інсульту є зменшення відсоткового вмісту астроцитів, олігодендроцитів, ГІК₁ та ГІК₂ нижче норми, та збільшення відсоткового вмісту мікрогліоцитів вище норми.

Таким чином, запропонований спосіб оцінки клітинних утворень секційного зразка головного мозку дає можливість більш чітко оцінити стан гомеостазу мозку при різних патологічних станах головного мозку, зокрема при первинному та повторному інсульті, вплив препаратів і особливості протікання запального процесу.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб оцінки клітинних утворень секційного зразка головного мозку, що включає дослідження зразка за станом нейронно-трофічного апарата окремої області мозку із визначенням кількості нейронів та гліальних клітин і відповідно гліальної формули, який **відрізняється** тим, що
- 10 додатково оцінюють співвідношення кількості гліальних клітин окремих субпопуляцій на одиницю площі за допомогою гліального індексу кількісного (ГІК): астроцитів до мікрогліоцитів ($ГІК1=A/M$), олігодендроцитів до мікрогліоцитів ($ГІК2=O/M$) та астроцитів до олігодендроцитів ($ГІК3=A/O$) і при відхиленні отриманих результатів співвідношень за межі нормальних роблять висновок про патологічні зміни головного мозку.

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

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

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