

**ОПИСАНИЕ  
ИЗОБРЕТЕНИЯ  
К ПАТЕНТУ**

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ  
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **22951**

(13) **С1**

(46) **2020.04.30**

(51) МПК

**G 09B 23/28** (2006.01)

(54)

**СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ  
ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

(21) Номер заявки: а 20170461

(22) 2017.12.11

(43) 2019.08.30

(71) Заявители: Бонь Елизавета Игоревна; Максимович Наталия Евгеньевна (ВУ)

(72) Авторы: Бонь Елизавета Игоревна; Максимович Наталия Евгеньевна (ВУ)

(73) Патентообладатели: Бонь Елизавета Игоревна; Максимович Наталия Евгеньевна (ВУ)

(56) BASK D.B. et al. Journal of Neuroinflammation, 2017, v. 14:216 [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5679180>]. HOSSMANN K.-A. Cardiovascular Research, 1998. - V. 39. - Is. 1. - P. 106-120. ВУ 21236 С1, 2017.

(57)

Способ моделирования ишемического повреждения головного мозга, включающий перевязку общих сонных артерий у крысы, **отличающийся** тем, что сначала перевязывают одну общую сонную артерию, а через 7 суток - вторую.

Изобретение относится к экспериментальной медицине и биологии и может быть использовано для моделирования ишемических повреждений головного мозга, связанных с атеросклеротической обтурацией сонных артерий, при хирургических операциях с применением искусственного кровообращения, что послужит фундаментальной основой для усовершенствования способов диагностики, лечения и профилактики последствий ишемии, а также для углубления понимания патогенеза данной патологии.

До настоящего времени в литературе отсутствуют стандартные, эталонные модели ишемии головного мозга, и исследователи применяют различные подходы в моделировании данной патологии.

Известны различные способы моделирования ишемии головного мозга (ИГМ), в том числе полная (тотальная) ишемия, неполная (субтотальная) ишемия и некоторые другие [1]. Многие из этих методов, предполагающих окклюзию дистальных ветвей виллизиевого круга, сложны, травматичны, требуют специальной дорогостоящей аппаратуры.

Известен способ моделирования тотальной ишемии головного мозга у крыс путем окклюзии четырех магистральных артерий, кровоснабжающих головной мозг [2].

Недостатками данного способа являются: частичная ишемия вертебро-базиллярного бассейна, сохраняющаяся в период рециркуляции крови по сонным артериям, труднодоступность позвоночных артерий, риск повреждения ствола мозга при коагуляции позвоночной артерии. Последующие модификации данного способа моделирования глобальной ишемии головного мозга не устранили эти его существенные недостатки [2, 3].

Известен способ моделирования субтотальной ишемии головного мозга, заключающийся во введении монофиламентного волокна через разрез бифуркации аорты во внутреннюю сонную артерию, а затем интракраниально [4].

Однако этот метод является достаточно сложным в исполнении, травматичным для экспериментальных животных и отличается высокой себестоимостью.

Известен способ моделирования ишемии головного мозга, заключающийся в лигировании общих сонных и подключичных артерий дистальнее отхождения внутренних грудных артерий и проксимальнее отхождения позвоночных артерий [5].

Данный метод наиболее прост в использовании, обладает низкой себестоимостью. Главным его недостатком является возникновение ишемии не только в бассейне средней мозговой артерии, но и в других отделах головного мозга.

Наиболее близким к предлагаемому является способ моделирования, включающий окклюзию средней мозговой артерии с одномоментной двусторонней окклюзией обеих сонных артерий (ОСА) [6].

Однако одномоментная двухсторонняя перевязка общих сонных артерий, несущих до 90 % крови к головному мозгу, приводит к быстрой смерти животных.

Для детального изучения механизмов развития повреждений и адаптации в головном мозге необходима разработка адекватной модели ИГМ, которая бы позволяла увеличить продолжительность их жизни после операции.

Задачей изобретения является разработка способа моделирования ИГМ, позволяющего изучать динамику повреждений и адаптационные механизмы головного мозга и не вызывающего быстрой гибели животных.

Поставленная задача решается путем перевязки общих сонных артерий у крыс, при этом отличительным моментом является то, что сначала перевязывают одну ОСА, а через 7 суток - вторую.

Способ осуществляют следующим образом. Сначала у экспериментальной крысы перевязывают одну ОСА, моделируя при этом частичную ИГМ. Затем через 7 суток перевязывают вторую ОСА, моделируя субтотальную ИГМ.

Эксперименты выполнены на беспородных белых крысах-самках ( $n = 28$ ) массой 220-240 г. Длительность акклиматизационного периода для всех животных составляла 14 дней. Животные содержались на свободном потреблении корма (стандартный рацион для лабораторных крыс) и имели свободный доступ к воде. Эксперименты на животных проведены в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [7]. Выбор экспериментальных животных был обусловлен сходством ангиоархитектоники головного мозга крыс и человека.

На первом этапе моделировали частичную ИГМ путем перевязки одной ОСА. В условиях внутривенного тиопенталового наркоза (40-50 мг/кг) по средней линии вентральной поверхности шеи делают разрез, выделяют, а затем лигируют левую ОСА. Односторонняя перевязка сонной артерии приводит лишь к снижению кровообращения головного мозга ввиду замкнутого виллизиева круга у крыс.

На втором этапе (через 7 суток - время, необходимое для адаптации ткани головного мозга к снижению кровообращения) [8]) моделируют субтотальную ИГМ путем перевязки второй (правой) ОСА. Те животные, которым осуществляют одномоментную перевязку обеих ОСА (одномоментная субтотальная ИГМ), погибают в течение 2 ч. Ложнооперированные животные контрольной группы (без перевязки ОСА) не погибали.

Итак, моделирование ИГМ путем неодномоментной (ступенчатой) перевязки ОСА способствовало выживанию животных в отличие от крыс с одновременной перевязкой (модель субтотальной ИГМ).

Для оценки тяжести ишемического повреждения головного мозга использовался ряд поведенческих методик - тест "Мышечная сила" и "плавательная проба", а также изучали

эмоциональное состояние и двигательную активность в тесте "открытое поле" [9, 10]. Исследования проводили у крыс с частичной ИГМ (ЧИГМ) после перевязки левой сонной артерии ( $n = 6$ ) и у крыс со ступенчатой субтотальной ИГМ после второй перевязки ОСА ( $n = 6$ ). Крысам контрольной группы проводили аналогичное оперативное вмешательство, но без наложения лигатур на сосуды ( $n = 6$ ). Выполнение проб осуществляли через 5 суток после операционного вмешательства. У животных одномоментной перевязкой обеих общих сонных артерий с субтотальной ИГМ проведение тестов не представлялось возможным, так как животные были угнетены и не проявляли активности до их гибели в ближайшие несколько часов.

Мышечная сила оценивалась путем помещения крысы на горизонтально расположенную металлическую сетку длиной 60 см с нанесенной сантиметровой шкалой делений и определения времени удержания животного после поворота сетки (на  $90^\circ$ ) вертикально. Для проведения "плавательной пробы" животных помещали в стеклянный резервуар с водой ( $21^\circ\text{C}$ ) и определяли время удержания животного на поверхности воды. Тест "открытое поле" проводился по общепринятой методике путем оценки таких показателей, как число пересеченных квадратов (двигательная активность), умываний (груминг), стоек (реакция оглядывания) и число актов дефекации и мочеиспускания (эмоциональность) [1, 9].

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программы "Statistica 10". После проверки данных на нормальность распределения по критерию Манна-Уитни использовали непараметрические методы статистики, рассчитывали медиану, межквартильный интервал (25-й и 75-й процентиля). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

В результате проведенных исследований установлено, что животные с ЧИГМ обладали более высокой мышечной силой (время удержания на сетке составило 5 (4,7; 5,9) мин), чем животные со ступенчатой субтотальной ИГМ. Время их удержания на сетке составляло 1 (0,45; 1,2) мин, ( $p < 0,05$ ). Время удержания на сетке животных контрольной группы составило 20 (15; 24) мин.

Также они были более устойчивы к гипоксии нагрузки в тесте "плавательная проба". При проведении плавательной пробы время удержания крыс с ЧИГМ на воде составило 12 (10,5; 12,3) мин, в то время как у животных со ступенчатой субтотальной ИГМ оно составило 5,3 (4,5; 5,7) мин ( $p < 0,05$ ). Время плавания животных контрольной группы составило 21 (18; 23) мин.

При проведении теста "открытое поле" было установлено следующее: у крыс с ЧИГМ число пересеченных квадратов составило 54 (52; 59), умываний 4 (3,5; 4,3), стоек 6 (5,8; 6,4), число актов дефекации и мочеиспускания 3 (2,5; 3,6). В то же время у животных со ступенчатой субтотальной ИГМ число пересеченных квадратов составило 24 (22; 28), умываний 2 (1,6; 2,4), стоек 3 (2,6; 3,2), число актов дефекации и мочеиспускания 2 (1,2; 2,3). У животных контрольной группы число пересеченных квадратов составило 67 (64; 72), умываний 6 (5,1; 7,2), стоек 9 (8; 9,4), число актов дефекации и мочеиспускания 5 (4,6; 6,5), ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, предлагаемый способ моделирования субтотальной ИГМ путем ступенчатой (неодномоментной) перевязки обеих общих сонных артерий обладает преимуществом перед прототипом, так как не приводит к гибели экспериментальных животных, способствует удлинению их жизни после операции, что позволяет проводить изучение последствий тяжелой ишемии головного мозга и патогенеза ишемических повреждений на головной мозг в динамике, осуществлять разработку корригирующих мероприятий.

При осуществлении предлагаемого способа отсутствует необходимость в использовании специальной аппаратуры в период проведения хирургического вмешательства, он прост в исполнении, обладает низкой себестоимостью.

## Источники информации:

1. Carmichael S.T. Rodent model of stroke: size, mechanism and purpose // *Neuro.* - 2005. - V. 2. - P. 396-409.
2. Yamaguchi M. et al. One-stage anterior approach for four-vessel occlusion in rat // *Stroke.* - 2005. - V.36. - P. 2212- 2214.
3. Pulsinelli W.A., Brierley J.B. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat // *Stroke.* - 1979. - V. 10. - P. 267-272.
4. Smrcka M., Ogilvy C., Koroshetz W. Smrcka M. Small aneurysms as a cause of thromboembolic stroke // *Bratisl Lek Listy.* - 2002. - V. 103(8) - P. 250-253.
5. Розвадовский В.Д., Тренин С.О., Тельпухов В.И. Микрохирургическая модель ишемии головного мозга // *Журнал патологической физиологии и общей патологии.* - 1985. - № 2 - С. 42-47.
6. Back D.B. et al. Chronic cerebral hypoperfusion induces post-stroke dementia following acute ischemic stroke in rats // *Journal of Neuroinflammation.* - 2017. - V. 14. - P. 212.
7. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // *ETS № 123.* - Strasbourg. - 1986. - P. 34-42.
8. Бутин А.А. Структурно-функциональное изменение микрососудистой сети головного мозга белых крыс в постишемическом периоде и их коррекция перфтораном: Автореф. дис. канд. медицинских наук / 14.01.08. - Омск, 2005. - С. 9-11.
9. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. - М.: Высшая школа, 1991. - С. 167-174.