

ОПИСАНИЕ
ИЗОБРЕТЕНИЯ
К ПАТЕНТУ
(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) ВУ (11) 24401

(13) С1

(45) 2024.10.20

(51) МПК

G 09B 23/28 (2006.01)

(54) СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЦИРКУЛЯТОРНОЙ ГИПОКСИИ
ГОЛОВНОГО МОЗГА

(21) Номер заявки: а 20230154

(22) 2023.06.26

(71) Заявитель: Учреждение образования
"Гродненский государственный ме-
дицинский университет" (ВУ)

(72) Авторы: Василевич Мария Викто-
ровна; Ходосовский Михаил Нико-
лаевич; Бонь Елизавета Игоревна;
Максимович Наталья Евгеньевна
(ВУ)

(73) Патентообладатель: Учреждение обра-
зования "Гродненский государственный
медицинский университет" (ВУ)

(56) ВУ 22951 С1, 2020.

RU 2003120390 А, 2005.

RU 2240604 С1, 2004.

KZ 11665 А, 2002.

МОРГУН А.В. и др. Способы экспери-
ментального моделирования перина-
тального гипоксически-ишемического
поражения головного мозга in vivo. Во-
просы современной педиатрии, 2014,
т. 13, № 5, с. 31-36.

БОНЬ Е.И. и др. Сравнительный ана-
лиз морфологических нарушений
нейронов теменной коры и гиппокампа
крыс при различных видах экспери-
ментальной ишемии головного мозга.
Оренбургский медицинский вестник,
т. IX, № 2 (34), с. 29-37.

(57)

Способ моделирования циркуляторной гипоксии головного мозга, заключающийся в том, что лабораторной крысе подкожно вводят изопреналин в дозе 80 мг/кг дважды с интервалом 24 ч.

Изобретение относится к области экспериментальной медицины и биологии и может быть использовано для моделирования циркуляторной гипоксии головного мозга (ЦГГМ), что послужит фундаментальной основой для усовершенствования способов диагностики, лечения и профилактики последствий гипоксии, а также для углубления понимания патогенеза данной патологии.

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

Важным условием такой модели является снижение травматичности, материальных затрат, а также гуманное отношение к лабораторным животным (крысам).

Известен способ воспроизведения гипоксии мозга посредством моделирования 7-минутной клинической смерти путем интраторакального пережатия сосудистого пучка сердца под наркозом. Реанимация проводилась с помощью наружного массажа сердца и искусственной вентиляции легких [1].

ВУ 24401 С1 2024.10.20

Однако данный метод является достаточно сложным в исполнении, травматичным для экспериментальных животных, а также требует специальной дорогостоящей аппаратуры.

Известен способ моделирования гипоксии головного мозга (ГГМ) путем создания кровопотери в объеме 30 % от объема циркулирующей крови [2]. Данный метод наиболее прост в использовании, обладает низкой себестоимостью.

Недостатком данного способа является централизация кровообращения, что мешает возникновению ишемии головного мозга.

Известен способ моделирования острой циркуляторной ГГМ путем двусторонней перевязки общих сонных артерий [3].

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

В результате просмотра доступной литературы нам не удалось обнаружить источник, который мог бы служить прототипом заявляемого изобретения.

Задачей изобретения является расширение арсенала способов моделирования циркуляторной ГГМ, позволяющих изучать динамику повреждений и адаптационные механизмы головного мозга и не вызывающих быстрой гибели животных.

Поставленная задача решается путем подкожного введения лабораторной крысе изопrenalина в дозе 80 мг/кг дважды с интервалом 24 ч.

Способ осуществляют следующим образом. Лабораторной крысе подкожно вводят изопrenalин (L-изопротеренола гидрохлорид) в дозе 80 мг/кг дважды с интервалом 24 ч. Циркуляторная ГГМ развивается спустя 48 ч от момента первого введения изопrenalина.

Эксперименты выполнены на беспородных белых крысах-самцах ($n = 24$) массой 240 ± 20 г. Животные были разделены на две группы по 12 в каждой: I группа - контроль; II группа "Изопrenalин 80" - подкожное введение изопrenalина в дозе 80 мг/кг дважды с интервалом 24 ч. В контрольной группе животным вводили физиологический раствор натрия хлорида в эквивалентных объемах. Забор материала осуществлялся после декапитации спустя 48 ч от момента первого введения изопrenalина.

Длительность акклиматизационного периода для всех крыс 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 [4]. Выбор лабораторных крыс в качестве экспериментальных животных был обусловлен сходством ангиоархитектоники головного мозга крыс и человека.

Для оценки гипоксического повреждения головного мозга использовался ряд поведенческих методик - тест "Мышечная сила", а также изучали двигательную активность в тесте "Открытое поле" [5]. Выполнение проб осуществляли спустя 48 ч от момента первого введения изопrenalина.

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°) вертикально. Тест "Открытое поле" проводился по общепринятой методике путем оценки таких показателей, как число пересеченных квадратов (двигательная активность), умываний (груминг), стоек (реакция оглядывания).

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 контрольной группы обладали более высокой мышечной силой (время удержания на сетке составило

6 (4,53; 6,54) мин), чем животные опытной группы. Время их удержания на сетке составляло 2 (1,01; 4,03) мин ($p < 0,05$).

При проведении теста "Открытое поле" было установлено следующее: у крыс с ЦГГМ число пересеченных квадратов составило (3; 7), умываний - 2 (1; 3), стоек - 3 (1; 3). У животных контрольной группы число пересеченных квадратов составило 26 (12; 33), умываний - 4 (2; 7), стоек - 22 (7; 16) ($p < 0,05$).

Морфологическому исследованию на предмет выявления ЦГГМ подвергнута теменная кора мозга крысы.

В результате проведенных исследований получены морфологические доказательства развития ЦГГМ у крыс.

Гистологически (окраска 0,1 % толудиновым синим по методу Ниссля, ув. $\times 40$) у II группы животных (фиг. 1, 2) отмечалось уменьшение в размерах нейронов теменной коры - на 3,3 % по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Форма нейронов незначительно менялась - они становились более вытянутыми (на 6,4 %) ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, в то время как форм-фактор (показатель округлости перикарионов) снизился на 5,5 % ($p < 0,05$). Количество нормохромных нейронов уменьшилось на 8 % ($p < 0,05$), в то время как количество гиперхромных нейронов возрастало в 2 раза по сравнению с контролем. Появились гиперхромные сморщенные нейроны, их количество составляло 4,5 % от количества всех нейронов.

На фиг. 1 показаны нейроны пятого слоя фронтальной коры до введения изопrenalина (преобладание нормохромных нейронов).

На фиг. 2 показаны нейроны пятого слоя фронтальной коры после введения изопrenalина (преобладание гиперхромных и гиперхромных сморщенных нейронов).

Полученные результаты свидетельствуют о развитии ЦГГМ у опытных животных. Дефицит кислорода в головном мозге крыс приводит к структурным перестройкам нейронов ткани головного мозга. Появление сморщенных гиперхромных нейронов в условиях гипоксии является универсальной и наиболее тяжелой формой реактивных и патологических изменений нейронов, сопровождающихся изменением скорости метаболизма, тинкториальных свойств цитоплазмы, кариоплазмы клеток и различной степенью ультраструктурных изменений цитоплазматических органелл клетки [6].

Преимуществами предложенного метода являются:

относительно низкая смертность животных (18 %);

малая инвазивность вмешательства;

простота и короткое время проведения операции;

отсутствие системного действия препарата и продолжительного наркоза.

Предлагаемый способ моделирования циркуляторной ГГМ не приводит к гибели экспериментальных животных, способствует удлинению их жизни после эксперимента, что позволяет проводить изучение последствий циркуляторной гипоксии головного мозга и патогенеза гипоксических повреждений на головной мозг в динамике, осуществлять разработку корректирующих 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. КОРПАЧЕВ В.Г. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс. Патол. физиология и эксперим. терапия, 1982, № 3, с. 78-80.

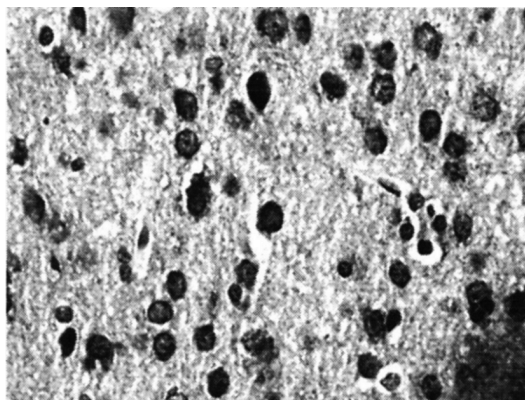
2. RU 2240604, 2004.

3. МАРКИНА Л.Д. и др., Морфофункциональные особенности пиальных артерий зон смежного кровоснабжения головного мозга в условиях острой циркуляторной гипоксии. ТМЖ, 2015, № 1 (59).

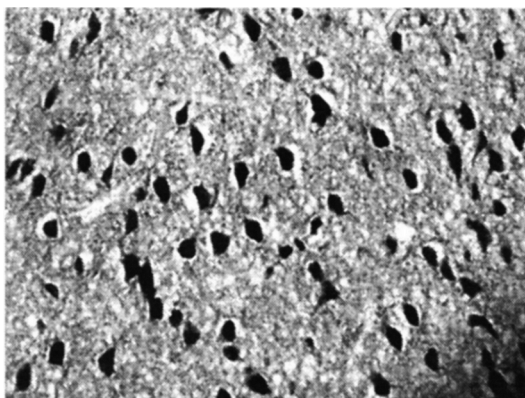
4. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. ETS № 123, Strasbourg, 1986, p. 34-42.

5. БУРЕШ Я. и др. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Москва: Высшая школа, 1991, с. 167-174.

6. СЕМЧЕНКО В.В. и др. Постаноксическая энцефалопатия. Омск, 1999, с. 182-184.



Фиг. 1



Фиг. 2