

# ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ  
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **10107**

(13) **С1**

(46) **2007.12.30**

(51) МПК (2006)  
**G 01N 33/48**

## (54) СПОСОБ ИССЛЕДОВАНИЯ ОКИСЛЕНИЯ ЭТАНОЛА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ЖИВОТНЫХ

(21) Номер заявки: а 20050672

(22) 2005.07.05

(43) 2007.04.30

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

(72) Авторы: Зиматкин Сергей Михай-  
лович; Бубен Александр Леонидо-  
вич (ВУ)

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

(56) ВУ 5490 С1, 2003.  
RU 2203678 С1, 2003.

(57)

Способ исследования окисления этанола в головном мозге животного, включающий газохроматографическое определение убыли этанола и накопление ацетальдегида в пробе, **отличающийся** тем, что в качестве пробы используют перфузат, который собирают прижизненно из большой цистерны мозга наркотизированного животного после стереотаксического введения ему этанолсодержащего перфузионного раствора в боковой желудочек мозга.

Изобретение относится к области биохимии, а именно к аналитической биохимии, и может использоваться для оценки интенсивности и динамики прижизненного метаболизма этанола в головном мозгу лабораторных животных.

Наиболее близким к заявляемому является способ определения окисления этанола в гомогенатах головного мозга крыс (Патент РБ 5490, МПК G 01N 33/48, 2003). Сущность способа заключается в газохроматографическом определении убыли этанола и накоплении ацетальдегида в исследуемых образцах, получаемых путем перфузии мозга, гомогенизации его образцов, преинкубации и добавления этанола. Недостатками этого метода являются: 1) только посмертное определение окисления этанола в мозгу (in vitro); 2) невозможность многократного исследования окисления этанола у одного животного (в динамике).

Задача изобретения - обеспечить возможность определения интенсивности и динамики прижизненного окисления этанола в головном мозгу животных.

Поставленная задача решается путем газохроматографического определения убыли этанола и накопления ацетальдегида в исследуемых образцах. При этом отличительным моментом является то, что образцами являются пробы перфузата, получаемые прижизненно из большой цистерны мозга наркотизированного животного после стереотаксического введения ему этанолсодержащего перфузионного раствора в боковой желудочек мозга.

Способ осуществляют следующим образом. Под общим наркозом животных (лабораторные крысы) помещают в стереотаксический аппарат, делают надрез мягких тканей головы, с помощью портативной бормашины просверливают черепную коробку, следуя

координатам стереотаксического атласа мозга крысы. Через отверстие в боковой желудочек мозга вводят иглу, соединенную с фторопластовой трубкой, через которую с помощью шприца и микронасоса с постоянной скоростью вводят раствор этанола нужной концентрации в 0,9 % растворе NaCl. Вторую иглу вводят в большую цистерну мозга, а соединенную с ней фторопластовую трубку помещают в эппендорфовскую пробирку для сбора проб перфузата таким образом, чтобы конец трубки был погружен в ацетальдегид-связывающий охлажденный раствор, предварительно налитый в пробирки. Каждую пробу собирают в течение 5 мин. Длительность исследования 60-90 мин или более, при необходимости. Точное количество перфузата в каждой пробе высчитывают по разнице в весе пробирки до и после взятия пробы. Содержание этанола и ацетальдегида в перфузате определяют газохроматографически. В каждой пробе определяют разницу между уровнем этанола и ацетальдегида в исходном (до начала перфузии) и конечном (после прохождения через мозг) перфузионном растворе. Полученные показатели позволяют объективно судить о процессах метаболической переработки этанола и ацетальдегида в головном мозге.

Для иллюстрации полученных результатов приводим данные по содержанию этанола и ацетальдегида в перфузате в динамике в течение 90 мин, при исходной концентрации этанола в перфузионном растворе ~100 мМ и скорости перфузии 12 микролитров/мин.

## Содержание этанола и ацетальдегида в перфузионной жидкости при прижизненной вентрикуло-цистернальной перфузии мозга крысы.

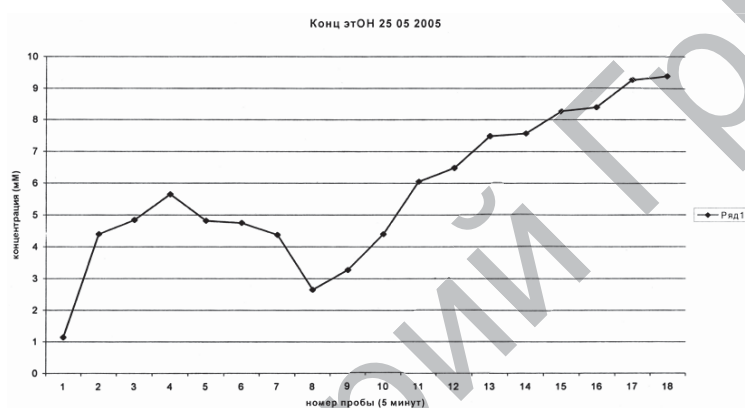
| № пробы п/п (временной интервал 5 минут) | Содержание этанола в перфузионной жидкости (мМ) | Содержание ацетальдегида в перфузионной жидкости (мкМ) |
|------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| К                                        | 129,6985714                                     | 0                                                      |
| 1                                        | 1,14                                            | 20,94                                                  |
| 2                                        | 4,4                                             | 28,78181818                                            |
| 3                                        | 4,842105263                                     | 32,88421053                                            |
| 4                                        | 5,647058824                                     | 37,68235294                                            |
| 5                                        | 4,817272727                                     | 37,7113                                                |
| 6                                        | 4,751764706                                     | 40                                                     |
| 7                                        | 4,374418605                                     | 38,00521                                               |
| 8                                        | 2,647567568                                     | 34,26486486                                            |
| 9                                        | 3,268421053                                     | 35,58947368                                            |
| 10                                       | 4,399090909                                     | 35,22356                                               |
| 11                                       | 6,049333333                                     | 35                                                     |
| 12                                       | 6,482790698                                     | 35,712111                                              |
| 13                                       | 7,482857143                                     | 36                                                     |
| 14                                       | 7,56625                                         | 35,6625                                                |
| 15                                       | 8,266666667                                     | 30,93333333                                            |
| 16                                       | 8,4                                             | 31,53333333                                            |
| 17                                       | 9,259090909                                     | 34,40454545                                            |
| 18                                       | 9,386666667                                     | 33,94666667                                            |

На фиг.1 показано содержание этанола в пробах перфузионной жидкости, полученных с временным интервалом 5 мин. На фиг. 2 показано содержание ацетальдегида в тех же пробах.

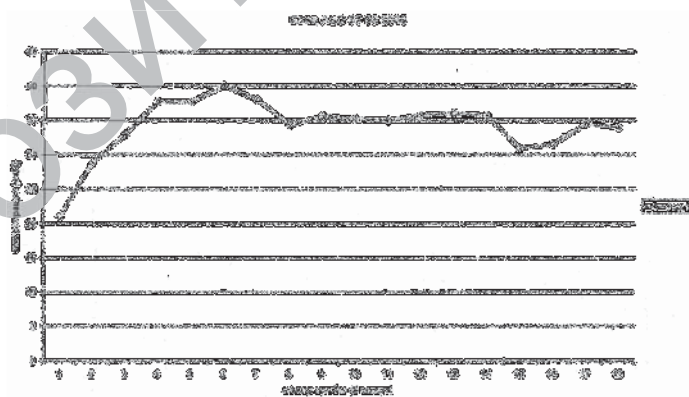
Из таблицы видно, что оттекающая из мозга крысы перфузионная жидкость действительно содержит ацетальдегид, что свидетельствует о его образовании там, а также содержит значительно сниженное (по сравнению с контролем) количество этанола, что также свидетельствует о его активной переработке и метаболическом превращении.

Таким образом, предлагаемый способ действительно позволяет определять интенсивность прижизненного окисления этанола в мозгу, не нанося значительных повреждений головному мозгу и исключая, таким образом, привнесение сторонних факторов, могущих оказать существенное влияние на исследование метаболизма. Многократное в течение длительного времени взятие проб перфузата позволяет изучать процесс прижизненного окисления этанола в мозгу в динамике. Это позволяет более полно и объективно судить о тонкостях метаболической переработки этанола в головном мозге и изучать динамику окисления этанола как единственного фактора воздействия, так и в комплексе с другими метаболически активными соединениями.

Способ достаточно надежен и хорошо воспроизводим. Он может быть использован в любой биохимической лаборатории, оснащенной газовым хроматографом, стереотаксическим аппаратом и микронасосом.



Фиг. 1



Фиг. 2