



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **145038** (13) **U**  
(51) МПК (2020.01)  
**A61B 17/00**  
**G09B 23/28** (2006.01)  
**G01N 33/48** (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО  
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ"

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2020 04394</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>14.07.2020</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: <b>11.11.2020</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: <b>10.11.2020, Бюл.№ 21</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Семененко Святослав Ігорович (UA), Ходаківський Олексій Анатолійович (UA), Семененко Андрій Ігорович (UA), Семененко Наталія Олександрівна (UA), Столярчук Олександр Володимирович (UA)</b></p> <p>(73) Володілець (володільці): <b>ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018 (UA)</b></p>
---	---

**(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ РІЗНИХ ЗА СТУПЕНЕМ ВАЖКОСТІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВИХ ТРАВМ У ЩУРІВ ЗА АКТИВНІСТЮ НЕЙРОН-СПЕЦИФІЧНОЇ ЕНОЛАЗИ**

**(57) Реферат:**

Спосіб моделювання різних за ступенем важкості експериментальних черепно-мозкових травм у щурів за активністю нейрон-специфічної енолази, який полягає в тому, що за допомогою потоку вуглекислого газу під тиском 7,4-7,5 Дж із використанням газобалонного пневматичного пістолета, 10 пострілами з інтервалом 5 хв., з відстані 0 см до 1 см наносять черепно-мозкову травму щурам, які перебувають в пропофоловому наркозі, далі визначають концентрацію нейрон-специфічної енолази у сироватці крові щурів і встановлюють ступінь важкості черепно-мозкової травми при 2,209 нг/мл - важкий, 0,812 нг/мл - середній, 0,670 - легкий.

UA 145038 U



Корисна модель належить до декількох галузей медицини, а саме нейропатології та фармакології і стосується моделювання черепно-мозкової травми різного ступеня важкості з метою подальшого вивчення можливостей застосування нових лікувальних схем на фоні змодельованої черепно-мозкової травми.

5 Інвалідність внаслідок черепно-мозкової травми (ЧМТ), як правило, є тривалою, і в 30-35 % випадків встановлюється безстроково. Розробка та впровадження в практику лікарів невідкладної неврології та нейрохірургічної практики нових препаратів, котрі здатні впливати на вторинне пошкодження нейронів у хворих з різними ступенями важкості ЧМТ, дозволила суттєво впливати на відновлення таких пацієнтів, зменшувати тривалість перебування у відділеннях інтенсивної терапії, знижувати летальність, покращити реабілітацію та відновлення когнітивних функцій. Великі сподівання сучасної медицини на нейропротекторну терапію, стимулювали науковців всього світу на активний пошук нових ефективних засобів впливу на патологіологічні каскади розвитку нейронального пошкодження. Дисбаланс нейромедіаторів на сьогоднішній день залишається найперспективнішою мішенню для фармакологічного впливу на вторинне ушкодження нейронів. Дослідити вплив різного ступеня сили ушкоджуючих факторів на головний мозок щурів на моделі ЧМТ можливо за динамікою активності нейрон-специфічної енолази (NSE). Цінність моніторингу динаміки нейрональних маркерів (активність NSE) в умовах травматичного пошкодження головного мозку дозволяє не тільки дослідити глибину та ступінь пошкодження головного мозку, а й оцінити ефективність терапії [Нейронспецифические белки - маркеры энцефалопатии при тяжелой сочетанной травме /Е.В. Григорьев, Г.В. Вавин, Т.Г. Гришанова [и др.] //Медицина неотложных состояний. - 2010. - № 2 (27). - С. 72-76.].

20 Оцінка впливу експериментальної терапії адемолом на інтенсивність перебігу деструктивних змін в мембранах нейронів у монгольських піщанок в умовах гострої церебральної ішемії /О.А. Ходаківський //Вісник морфології. - 2011. - Т. 17, № 1. - С. 62-65.].

25 В основу корисної моделі "Способи моделювання різних за ступенем важкості експериментальних черепно-мозкових травм у щурів за активністю нейрон-специфічної енолази" поставлено задачу розробити та апробувати адекватні, репрезентативні моделі черепно-мозкової травми у щурів, при яких як уражуючий елемент було задіяно силу потоку вуглекислого газу під тиском при холостому пострілі із пневматичного пістолету в умовах пропофолового наркозу.

30 Це досягається способом, який полягає в тому, що шляхом дії потоку вуглекислого газу під тиском, що створювали із використанням газобалонного пневматичного пістолету марки "Байкал МР-654К" (РФ, Іжевськ, № сертифікату РОСС RU МЖ03.В02518) та балонів вуглекислого газу (маса зрідженого CO<sub>2</sub>-12 г) під тиском (Crosman, США, № серії 456739). Постійність тиску CO<sub>2</sub> на рівні дульного зрізу контролювали шляхом попередньої реєстрації швидкості польоту сферичної сталевий кульки (Кросман, США, № серії 03675482), калібром 4,5 мм масою 0,3 г на відстані 1 см від внутрішнього дульного отвору через індукційний наддульний хронометр Х 741 (Україна). При цьому було встановлено, що при використанні балонів вуглекислого газу (t повітря = 19 °С, P<sub>атм</sub> = 720-755 мм. рт.ст.) однакової серії № 03675482, при здійсненні наступних 10 пострілів з інтервалом 5 хв. після перших 5 пробних, швидкість польоту кульки була сталою, без достовірних коливань і складала 110-105 м/с. При таких швидкісних характеристиках, на рівні дульного зрізу тиск вуглекислого газу був однаково незмінним і дорівнював 7,4-7,5 Дж, що дозволяє відтворювати черепно-мозкову травму в однакових умовах у всіх серіях при використанні балона вуглекислого газу, не більш ніж як у 10 експериментальних пострілах. Для уніфікованого підходу при створенні ЧМТ різного ступеня тяжкості, відстань дії уражуючого агента (вуглекислий газ під тиском) послідовно змінювали від 0 до 1 см (постріл впритул, з відстані 0,5 см та 1 см). Активність NSE у сироватці крові (нг/мл) вимірювали методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням набору NSE EIA KIT (DAI, США). Всі маніпуляції у щурів відбувались в умовах пропофолового наркозу. Результати обробляли за допомогою статистичної програми StatPlus 2009. Використовували параметричний критерій t Ст'юдента, непараметричний критерій W Уайта, парний критерій Т Вілкоксона - для визначення значущих змін у динаміці всередині групи. Зв'язок між окремими показниками оцінювали за коефіцієнтом кореляції Пірсона. Відмінності вважали статистично значущими при p<0,05. Результати дослідження представлено в таблиці 1.

55 Хід експерименту

Як видно із представлених даних в таблиці 1, при холостому (лише вуглекислий газ під тиском) пострілі із пневматичного пістолету впритул до центру трепанаційного отвору у правій півкулі мозку в місці проекції середньої мозкової артерії, в умовах пропофолового наркозу, на 24 год. після моделювання патології, активність маркера мембранної цілісності нейронів NSE, вірогідно (p<0,05) підвищилась відносно значень у псевдооперованих тварин у середньому в

17,5 рази (група контрольної патології № 1). Подібне зростання активності NSE, вказує на розвиток суттєвої деструкції нейронів головного мозку, яке відбувається по типу некробіозу.

Таблиця 1

Зміни маркерної активності нейрон-специфічної енолази у сироватці крові щурів при моделюванні черепно-мозкової травми, викликаної шляхом холостих пострілів з різної відстані до центру трепанаційного отвору в черепі тварин на 24 год. в умовах наркозу експерименту (M±m, n=10)

Дослідні групи	Рівень активності NSE, нг/мл
Псевдооперовані тварини + 0,9 % р-н NaCl (2 мл/кг)	0,126±0,012
ЧМТ (0 см - впритул) (контрольна патологія № 1)	2,209±0,045*
ЧМТ (0,5 см) (контрольна патологія № 2)	0,812±0,024 <sup>*1</sup>
ЧМТ (1 см) (контрольна патологія № 3)	0,670±0,03 <sup>*1;2</sup>

Примітки:

1. NSE - нейрон-специфічна енолаза;
2. ЧМТ - черепно-мозкова травма;
3. \* - p<0,05 відносно псевдооперованих тварин;
4. <sup>1</sup> - p<0,05 відносно контрольної патології № 1;
5. <sup>2</sup> - p<0,05 відносно контрольної патології № 2;

- 5 Як видно із даних, представлених у таблиці 1, при холостому пострілі на фіксованій відстані 0,5 см до центру трепанаційного отвору, через 24 год. після моделювання патології, активність маркера мембранної цілісності нейронів вірогідно підвищилась відносно початкових значень в середньому у 6,4 рази, що в середньому на 63,2 % (p<0,05) менше ніж при пострілі впритул. Подібне зростання активності NSE, як і у попередній серії (табл. 1), також вказує на розвиток
- 10 нейродеструкції, хоча ці зміни є менш виразними ніж у першому випадку, p<0,05. Отже, подовження відстані пострілу на 5 мм (від 0 до 0,5 см), знайшло своє закономірне віддзеркалення у послабленні нейродеструктивних змін в мозку, які, попри це, зберігають статистично вірогідні критерії, вказуючи тим самим на адекватність даної моделі для формування ЧМТ.
- 15 Якщо взяти за основу класифікації інтенсивності дегенеративних явищ при контузії мозку рівень та активність маркерів в залежності від відстані пострілу (відстані дії вуглекислого газу під тиском), то варіант моделювання контузії при пострілі впритул, в умовах наркозу, можна віднести до важкого ступеня тяжкості.

Таблиця 2

Дослідні групи	Рівень активності NSE (нг/мл)	Ступінь важкості
Псевдооперовані тварини + 0,9 % р-н NaCl (2 мл/кг)	0,126±0,012	-
ЧМТ (0 см - впритул) (контрольна патологія № 1)	2,209±0,045	Тяжкий
ЧМТ (0,5 см) (контрольна патологія № 2)	0,812±0,024	Середній
ЧМТ (1 см) (контрольна патологія № 3)	0,670±0,03	Легкий

- 20 Спосіб моделювання різних за ступенем важкості експериментальних черепно-мозкових травм у щурів за активністю нейрон-специфічної енолази, здійснюють за допомогою потоку вуглекислого газу під тиском 7,4-7,5 Дж із використанням газобалонного пневматичного пістолету, 10 пострілами з інтервалом 5 хв., з відстані 0 см до 1 см наносять черепно-мозкову
- 25 травму щурам, які перебувають в пропופолому наркозі, далі визначають концентрацію нейрон-специфічної енолази у сироватці крові щурів і встановлюють ступінь важкості черепно-мозкової травми при 2,209 нг/мл - важкий, 0,812 нг/мл - середній, 0,670 - легкий.

- 30 Варіант моделі при пострілі з відстані 0,5 см, що наведений вище відповідає середньому ступеню важкості ЧМТ. Відповідно до цього, дані таблиці, є діагностичними критеріями різних варіантів перебігу модельної ЧМТ у щурів, а саме активність NSE в межах 2,209±0,045 та 0,812±0,024 нг/мл, окреслює ЧМТ важкого та середнього ступеня важкості. Отримані результати

активності нейромаркерів при збільшенні відстані пострілу від 0 см до 1,0 см, наведено далі. Як видно із даних, представлених у табл. 2, збільшення фіксованої відстані ще на 5 мм (від 0,5 до 1,0 см) до центру трепанаційного отвору, через 24 год. після моделювання патології, активність маркера мембранної цілісності нейронів вірогідно ( $p < 0,05$ ) підвищилась відносно початкових значень в середньому у 5,3 рази, що в середньому на 69,7 % ( $p < 0,05$ ) менше ніж при пострілі з відстані 0,5 см (табл. 2). Відповідно до цього, активність енолази в цій групі при такому дизайні експерименту становить в середньому  $0,670 \pm 0,03$  і відповідає ЧМТ легкого ступеня важкості. Всі перераховані маніпуляції відбувались в умовах пропофолового наркозу.

Таким чином, класифікація ЧМТ в залежності від відстані пострілу до центру трепанаційного отвору в черепі щурів, виглядає як представлено в таблиці 2.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб моделювання різних за ступенем важкості експериментальних черепно-мозкових травм у щурів за активністю нейрон-специфічної енолази, який полягає в тому, що за допомогою потоку вуглекислого газу під тиском 7,4-7,5 Дж із використанням газобалонного пневматичного пістолета, 10 пострілами з інтервалом 5 хв., з відстані 0 см до 1 см наносять черепно-мозкову травму щурам, які перебувають в пропофоловому наркозі, далі визначають концентрацію нейрон-специфічної енолази у сироватці крові щурів і встановлюють ступінь важкості черепно-мозкової травми при 2,209 нг/мл - важкий, 0,812 нг/мл - середній, 0,670 - легкий.