

Оригінальна стаття

УДК 616-089.855

Новиков Р.Р.

Кафедра нейрохірургії, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця МОЗ України, Київ, Україна

Оптимізація моделі локального механічного ушкодження півкуль великого мозку

Мета. Розробити, проаналізувати та впровадити оптимізовану модель локального механічного пошкодження півкуль великого мозку для вивчення стійких неврологічних вогнищевих симптомів.

Матеріали і методи. У тварин двох груп моделювали пошкодження півкуль великого мозку. У тварин групи 1 наносили відкриту проникаючу локальну травму головного мозку (ГМ) через сформований трепанаційний отвір. Після тестових (beam-walking test) спостережень та виявлення недоліків модель оптимізована. Тваринам групи 2 наносили відкриту проникаючу локальну травму ГМ через сформоване трепанаційне вікно з візуалізацією зони ураження.

Результати. В отриманій моделі менша ймовірність виникнення геморагічних ускладнень, наявність широкого трепанаційного вікна обмежує негативні наслідки післятравматичного набряку ураженої ділянки ГМ.

Висновки. Розроблена нова модель пошкодження ГМ. Встановлена низька варіативність функціонального дефіциту у тварин експериментальної групи 2.

Ключові слова: ушкодження півкуль великого мозку, модель, оптимізація, фрезовий отвір, експеримент.

Укр. нейрохірург. журн. — 2014. — №3. — С. 30-33.

Надійшла до редакції 05.03.14. Прийнята до публікації 17.06.14.

Адреса для листування: Новиков Руслан Романович, Кафедра нейрохірургії, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, вул. Платона Майбороди, 32, Київ, Україна, 04050, e-mail: ruslandok1@mail.ru

Вступ. Запропоновані численні експериментальні моделі черепно-мозкової травми (ЧМТ), кожна з яких тою чи іншою мірою відтворює основні патофізіологічні механізми цього стану ГМ. Проте, жодну з них не можна вважати ідеальною: прагнення якомога більш повного відтворення механізму травми тканини ГМ ускладнює протокол моделювання, зменшує однорідність отриманого неврологічного дефіциту, суттєво підвищує летальність експериментальних тварин. У зв'язку з цим часто моделювання здійснюють шляхом відтворення дії одного компонента гострого впливу ЧМТ на ГМ. Крім того, використання таких моделей практично безальтернативне при відтворенні дефекту тканини ГМ для вивчення відновного впливу тканинних трансплантатів. Передусім, це стосується моделей локального прямого ураження тканини ГМ.

Отже, успішність моделі ЧМТ визначається наявністю стійкого (вираженого протягом певного часу дослідження) вогнищевого неврологічного дефіциту, що відображає ступінь деструкції (дефіциту тканини) певних ділянок ГМ. Прикладами моделей такого типу є відкрите проникаюче ураження кори великого мозку щура спеціальним гачкоподібним інструментом через сформоване трепанаційне вікно [1]; відкрите проникаюче ураження кори великого мозку шляхом динамічної вакуумної деформації в проекції рухової зони кори [2]. Недоліком першої моделі, незважаючи на технічну простоту основного етапу моделювання, є значна варіативність неврологічного дефіциту, причиною якої слід вважати неможливість візуалізації зони ураження, що на тлі індивідуальної анатомічної

варіабельності експериментальних тварин [3] зумовлює суттєву похибку щодо локалізації вогнища травми. Крім того, очевидно є неможливість візуалізації судинного компоненту у зоні ураження, що зумовлює високу ймовірність його ненавмисного травмування під час моделювання, збільшує летальність експериментальних тварин, розширює варіативність неврологічного дефіциту.

Мета дослідження: оптимізувати модель локального проникаючого механічного пошкодження півкуль великого мозку в експерименті.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях, маса тіла 350 г, вік 5,5 міс з виводку віварію Інституту нейрохірургії імені акад. А.П. Ромоданова НАМН України з дотриманням норм біоетики.

Сформовані 2 групи експериментальних тварин: група 1 — тваринам наносили відкриту проникаючу локальну травму ГМ через сформований трепанаційний отвір (n=20);

група 2 — тваринам наносили відкриту проникаючу локальну травму ГМ через сформоване трепанаційне вікно з візуалізацією зони ураження (n=20).

Оперативні втручання у тварин обох груп здійснювали під загальним знеболенням шляхом внутрішньоочеревинного введення суміші розчинів ксилазину (Sedazin, Biowet, Польща) з розрахунку 15 мг/кг маси тіла і кетаміну (Calypsol, Гедеон Ріхтер А.О., Угорщина) з розрахунку 70 мг/кг маси тіла тварини.

У тварин групи 1 після гоління волоссяного покриву голови в конвексимальній частині черепа розрізали

Стаття містить рисунки, які відображаються в друкованій версії — у відтинках сірого, в електронній — у кольорі.

шкіру та підлеглі тканини паралельно сагітальному шву, електромеханічним стоматологічним бором накладали фрезований отвір. Зовнішнім скелетотопічним орієнтиром для фрезового отвору була ділянка, що у передньо-задньому напрямку є центральною частиною умовної лінії, проведеної через центр лобово-носового шва кпереду і лобово-тім'яного — кзаду. Відстань від лобово-тім'яного і лобово-носового швів до фрезового отвору 4,5 мм, від сагітального — 3 мм. За допомогою спеціального пристрою (зігнута на кінці голка з довжиною перпендикулярного до осі плеча 2,5 мм) проколювали тверду оболонку ГМ (ТОГМ), травмуючи кінець голки заглиблювали у речовину мозку на 2 мм і повертали на 180°. Після аутогенного припинення кровотечі м'які тканини та шкіру в зоні доступу зашивали крученими поліамідними хірургічними нитками (умовні номери «0», «1», Київське ПО «Хімволокно»), накладали два ряди вузлових швів. Ділянку рани обробляли 5% спиртовим розчином йоду. Тварин протягом 2–4 год утримували в приміщенні з підвищеною температурою повітря (30–33°C), після чого поміщали у клітки по 3–6 особин при середній температурі приміщення 21–24°C, з періодичним вентиляванням.

У тварин групи 2 протокол оперативного втручання суттєво різнився. Після гоління волосяного покриву голови в конвексимальній частині черепа шкіру та підлеглі тканини розрізали паралельно сагітальному шву, стоматологічним бором накладали фрезований отвір у точці, що в передньо-задньому напрямку є центральною частиною умовної лінії, проведеної через центр лобово-носового шва кпереду та лобово-тім'яного — кзаду. Відстань від лобово-тім'яного і лобово-носового швів до фрезового отвору 4,5 мм, від сагітального — 3 мм. Після тріфінанції фрезований отвір розширювали шляхом резекції луски лобової кістки до розмірів 1,0×0,5 см. ТОГМ розсікали дугоподібно. З використанням операційного мікроскопа (×12; Carl Zeiss, Німеччина) візуалізували пре- та постцентральні звивини кори правої півкулі великого мозку, аналогічним травмуючим пристроєм в центрі трепанаційного вікна наносили травму, формуючи зону ураження розмірами 2,0×2,2×2,0 мм в задньо-лобово-тім'яній ділянці, в проекції первинної рухової зони (рис. 1). Завершальний етап операції та перебіг післяопераційного періоду у тварин групи 2 не відрізнявся від такого у щурів групи 1.

В обох групах дефіцит рухової сфери оцінювали у 1-шу, на 7, 14, 30-ту добу за тестом «ходьби по бруску» — beam-walking test (BWT) [5]. Використовували брусок шириною 2 см, довжиною 122 см, встановлений під кутом 18°. На кінці бруска монтували закриту освітлену комірку з їжею. Перед початком експерименту протягом 2 тиж тварин навчали правильно проходити дистанцію без проступів та завалювання. Тренування проводили через кожні 3 доби в один і той самий час, для кожної тварини — по 3 сеанси. Проходження дистанції реєстрували за

допомогою аналогової відеокамери SONY CCD-TRV 408E (Sony Co, Японія). Результати тесту оцінювали за шкалою (табл. 1).

Результати та їх обговорення. Основні результати дослідження рухової сфери з використанням BWT в обох групах тварин наведені в табл. 2, 3. Найбільш частим варіантом розладу рухової сфери був монопарез задньої кінцівки на протилежному до вогнища травми боці або контралатеральний геміпарез, що спричиняло реєстровані порушення виконання BWT.

У групі 1 неврологічні вогнищеві симптоми (монопарез, легкий геміпарез) спостерігали в усіх тварин, повний регрес відзначений до 7-ї доби. Протягом усього періоду спостереження померли 3 тварини внаслідок значного підвищення внутрішньочерепного

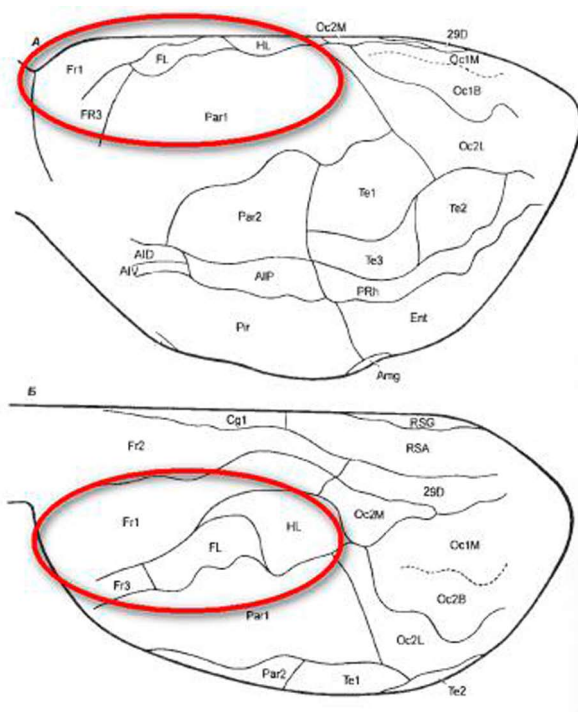


Рис. 1. Цитоархітектонічна карта кори півкулі великого мозку статевозрілого щура (наведено за: А.Д. Ноздрачев [4] з модифікацією). А — бічна, Б — задня поверхня. Рухова кора об'єднує поля Fr1, Fr3, а також ділянки представництва передньої (forelimb, FL) та задньої (hindlimb, HL) кінцівок.

Таблиця 1. Шкала для оцінки результату BWT

Кількість балів	Характеристика
7	Тварина менше 2 разів оступається при проходженні всієї дистанції
6	При проходженні всієї дистанції тварина оступається менш ніж у 50% кроків
5	При проходженні всієї дистанції тварина оступається більш ніж у 50% кроків
4	При проходженні всієї дистанції тварина оступається і хоча б один раз повністю зісковзує з бруска задніми кінцівками, проте, утримавшись передніми кінцівками, вибирається на брусок і продовжує рух
3	Тварина пересувається повзком, на черевці
2	Тварина не може пересуватися по бруску, при посадці на брусок охоплює його кінцівками, тримаючись спиною кверху, сидить майже нерухомо, проте, не падає, протягом тривалого часу утримує рівновагу
1	Тварина не може ні пересуватися по бруску, ані утримувати тривалий час рівновагу, падаючи одразу ж після посадки на брусок

Таблиця 2. Результати BWT у тварин групи 1 у різні строки спостереження

Тривалість спостереження, діб	Результат виконання BWT, балів							
	1	2	3	4	5	6	7	померли
1	—	—	—	—	5	4	9	2
7	—	—	—	—	—	—	17	1
14	—	—	—	—	—	—	16	—
30	—	—	—	—	—	—	16	—

Таблиця 3. Результати BWT у тварин групи 2 у різні строки спостереження

Тривалість спостереження, діб	Результат виконання BWT, балів							
	1	2	3	4	5	6	7	померли
1	—	7	13	—	—	—	—	—
7	—	—	10	5	3	2	—	—
14	—	—	—	—	2	14	4	—
30	—	—	—	—	—	1	19	—

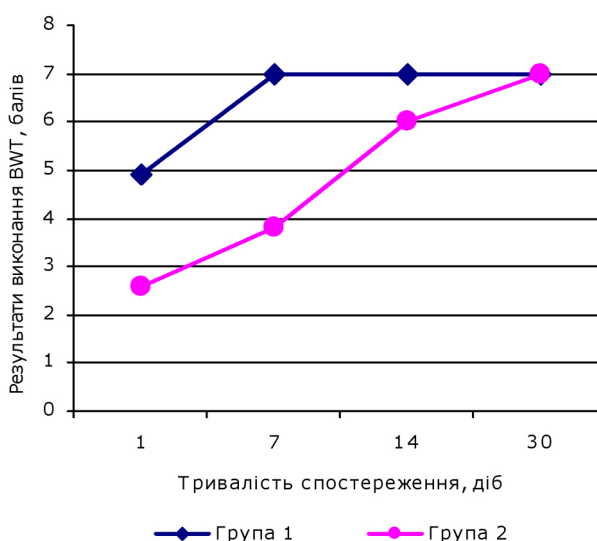
тиску через формування внутрішньомозкової (у 2) або субдуральної (в 1) великої гематоми у ділянці тріфнаційного вікна, збільшення дислокації каудальних відділів мозочка та формування компресійно-дислокаційного синдрому.

Отримані дані свідчать про суттєві недоліки моделі, застосованої у групі 1, що проявляється, передусім, відсутністю відтвореного у експериментальних тварин стійкого дефіциту рухової сфери, ускладненим перебігом модельованої травми та вигляді супутньої внутрішньочерепної кровотечі, що спричинило загибель значної кількості тварин. Використана у групі 1 модель не дозволяє попередити таке ускладнення.

Спектр, вираженість та тривалість дефіциту рухової функції у тварин групи 2 суттєво різнилися (**рис. 2**). Одразу ж після виходу тварин з стану наркотичного сну відзначали стійкий контралатеральний геміпарез, від помірно вираженого до глибокого з майже повним регресом протягом 3–4-го тижня спостереження. Наявність стійкого геміпарезу визначала низьку результативність виконання BWT (**див. табл. 3**). При цьому протягом усього періоду експерименту тварини групи 2 живі.

Наведені результати моніторингу стану рухової сфери свідчать, що використана у групі 2 модель ушкодження тканини ГМ дозволяє отримувати легко відтворюваний, однорідний у тварин експериментальної групи неврологічний дефіцит з суттєвим зниженням летальності.

Патоморфологічним субстратом модельованого неврологічного дефіциту є окреслена у просторі зона деструкції конвексимальної частини півкулі великого мозку, що відкриває можливість для вивчення на базі

**Рис. 2.** Середня по групі результативність виконання BWT протягом періоду спостереження.

цієї моделі ефективності використання трансплантації фрагментів нативної тканини чи штучно створеного тканинного матриксу, асоційованого з клітинною фракцією. Передумовою переваг апробованої у групі 2 моделі є можливість достатньої інтраопераційної візуалізації вогнища ураження, калібрування і чіткого відтворення глибини механічного ушкодження тканини ГМ, можливість контролю стану судинного русла у зоні оперативного доступу.

Ці особливості моделі забезпечують суттєве зменшення ймовірності виникнення геморагічних ускладнень, наявність широкого трепанаційного вікна обмежує негативні наслідки післятравматичного набряку ушкодженої ділянки ГМ, і, як наслідок, зменшення ризику формування компресійно-дислокаційного синдрому, тобто, загибелі експериментальних тварин [6].

Висновки. 1. Запропонована альтернативна модель локального відкритого проникаючого механічного ураження ГМ є оптимальною для вивчення ефективності тканинної нейротрансплантації при ЧМТ.

2. В апробованій моделі відтворені виражені вогнищеві неврологічні симптоми, низька варіативність функціонального дефіциту у тварин експериментальної групи, можливо квантифікувати неврологічний дефіцит і достовірно оцінити ефективність будь-якого досліджуваного з її використанням лікувального впливу на перебіг ЧМТ.

3. Використання мікрохірургічної техніки і широкої візуалізації судинного русла в зоні травми є суттєвою позитивною ознакою апробованої моделі, що забезпечує зниження післяопераційної летальності експериментальних тварин, зменшення витрат на проведення експериментального дослідження.

Список літератури

1. Енглезі А.П. Комплексний вплив фізичних чинників сумісно з фармакологічними та біологічними засобами лікування на головний мозок при його вогнищевому травматичному пошкодженні (експериментальне дослідження): автореф. дис. ... д-ра мед. наук: спец. 14.01.05 — нейрохірургія / А.П. Енглезі; Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України. — К., 2010. — 36 с.

2. Байбаков С.Е. Закономерности постнатального морфогенеза головного мозга и черепа человека по данным магнитно-резонансной томографии: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: спец. 14.00.02 — анатомия человека / С.Е. Байбаков; Воронеж. гос. мед. акад. им. Н.Н. Бурденко. — СПб., 2008. — 25 с.
3. Experimental investigation of cerebral contusion: Histopathological and immunohistochemical evaluation of dynamic cortical deformation / D.I. Shreiber, A.C. Bain, D.T. Ross, D.H. Smith, T.A. Gennarelli, T.K. McIntosh, D.F. Meaney // J. Neuropath. Exp. Neurol. — 1999. — V.58. — P.153–164.
4. Ноздрачев А.Д. Анатомия крысы (лабораторные животные) / А.Д. Ноздрачев, Е.Л. Полякова. — СПб.: Лань, 2001. — 464 с.
5. Goldstein L. Beam-walking in rats: Studies towards developing an animal model of functional recovery after brain injury / L. Goldstein, J. Davis // J. Neurosci. Methods. — 1990. — V.31. — P.101–107.
6. Лебедев В.В. Руководство по неотложной нейрохирургии: к изучению дисциплины / В.В. Лебедев, Л.Д. Быковников. — М.: Медицина, 2008. — 336 с.

Новиков Р.Р.

Кафедра нейрохирургии, Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца МЗ Украины, Киев, Украина

Оптимизация модели локального механического повреждения полушарий большого мозга

Цель. Разработать, проанализировать и внедрить оптимизированную модель локального механического повреждения полушарий большого мозга для изучения стойкости очаговых неврологических симптомов.

Материалы и методы. У животных двух групп моделировали повреждение полушарий большого мозга. Животным группы 1 наносили открытую проникающую локальную травму головного мозга (ГМ) через сформированное трепанационное отверстие. После тестовых (beam-walking test) наблюдений, выявления недостатков модель оптимизирована. Животным группы 2 наносили открытую проникающую локальную травму ГМ через сформированное трепанационное окно с визуализацией зоны повреждения.

Результаты. В полученной модели уменьшение вероятности возникновения геморрагических осложнений, наличие широкого трепанационного окна ограничивает негативные последствия посттравматического отека поврежденного участка ГМ.

Выводы. Разработана новая модель повреждения ГМ. Установлена низкая вариативность функционального дефицита у животных группы 2.

Ключевые слова: повреждение полушарий большого мозга, модель, оптимизация, фрезевое отверстие, эксперимент.

Укр. нейрохірург. журн. — 2014. — №3. — С. 30-33.

Поступила в редакцию 05.03.14. Принята к публикации 17.06.14.

Адрес для переписки: Новиков Руслан Романович, Кафедра нейрохирургии, Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, ул. Платона Майбороды, 32, Киев, Украина, 04050, e-mail: ruslandok1@mail.ru

Novikov R.R.

Department of Neurosurgery, Bogomolets National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Kiev, Ukraine

Optimization of model of local mechanical injury of brain hemispheres

The purpose. To develop, analyze and implement optimized model of local mechanical injury of brain hemispheres for focal neurological symptoms study.

Materials and methods. In two groups of animals brain hemispheres injury was modeled. Animals in the 1st group were injured (open penetrating local brain injury) through the burr hole. After beam-walking test and lacks revealing the model was optimized. In animals of the 2nd group open penetrating local brain injury was modeled through the burr hole with visualization.

Results. In the resulting model decrease of bleeding probability, wide burr hole limit negative effects of posttraumatic edema of the injured brain area.

Conclusions. A new model of brain injury was developed. A low variability of functional deficits in animals of group 2 was found.

Key words: brain hemispheres injury, model, optimization, burr hole, experiment.

Ukr Neyrokhir Zh. 2014; 3: 30-3.

Received, March 5, 2014. Accepted, June 17, 2014.

Address for correspondence: Ruslan Novikov, Department of Neurosurgery, Bogomolets National Medical University, 32 Platona Mayborody St., Kiev, Ukraine, 04050, e-mail: ruslandok1@mail.ru