

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ИШЕМИЧЕСКИХ ОЧАГОВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА ВЕНОЗНОГО ХАРАКТЕРА

*И.А. Васильев¹, В.В. Ступак¹, Е.В. Половников¹,
А.Г. Самохин¹, Е.Я. Шевела², Е.Р. Черных²*

¹ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии
и ортопедии» Минздравсоцразвития России (г. Новосибирск)

²НИИ клинической иммунологии СО РАМН (г. Новосибирск)

В работе представлены данные по разработке подхода к моделированию очаговой ишемии головного мозга, обусловленной нарушением венозного кровотока. Пересечение верхнего сагиттального синуса в средней трети с последующей коагуляцией корковых вен мозга в теменно-височной области ведет у животного к возникновению грубого диффузного отека головного мозга и формированию выраженных очаговых неврологических расстройств. Предполагается, что данная оригинальная экспериментальная модель достаточно точно отражает изменения, происходящие в головном мозге человека при нарушениях венозного кровотока. В дальнейшем ее можно использовать для изучения патогенеза и эффективности методов терапии данной патологии.

Ключевые слова: экспериментальная модель, отек мозга, нарушения венозного оттока, неврологический дефицит.

Ступак Вячеслав Владимирович — доктор медицинских наук, профессор, нейрохирург, врач высшей категории, заведующий отделением ФГБУ ННИИТО Минздравсоцразвития России, телефон рабочий: 8 (383) 224-47-13, e-mail: IVasilev@niito.ru

Васильев Игорь Анатольевич — врач-нейрохирург, аспирант ФГБУ ННИИТО Минздравсоцразвития России, телефон рабочий: 8 (383) 224-47-13, e-mail: IVasilev@niito.ru

Половников Евгений Владимирович — врач-нейрохирург, аспирант ФГБУ ННИИТО Минздравсоцразвития России, телефон рабочий: 8 (383) 224-47-13, e-mail: IVasilev@niito.ru

Самохин Александр Геннадьевич — старший научный сотрудник, руководитель функциональной группы экспериментальной хирургии ФГБУ ННИИТО Минздравсоцразвития России, рабочий телефон: 8 (383) 224-45-58, email: asamohin@niito.ru

Шевела Екатерина Яковлевна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии НИИ клинической иммунологии СО РАМН, телефон рабочий: 8 (383) 236-03-29, e-mail: shevelak@mail.ru

Черных Елена Рэмовна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии, заместитель директора НИИ клинической иммунологии СО РАМН, телефон рабочий: 8 (383) 236-03-29, e-mail: ct_lab@mail.ru

Введение. Сосудистые заболевания головного мозга являются глобальной медицинской и социальной проблемой в связи с высокими показателями заболеваемости, смертности и инвалидизации [1]. Среди них ишемические инсульты формируют наиболее многочисленный и тяжелый контингент неврологических больных [1, 2]. Особую группу представляют острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), возникающие вследствие нарушений венозного оттока [3]. Данные процессы могут возникнуть после удаления опухолей головного мозга различной локализации и морфологии. Так, резекция парасагиттальных менингиом, особенно в средней трети верхнего сагиттального синуса, нередко сопровождается травматизацией крупных венозных коллекторов, что ведет к развитию венозного инфаркта мозга и, как следствие, — выраженному неврологическому дефициту в виде парезов и параличей в конечностях [4]. Разработка эффективных подходов к коррекции неврологических расстройств у таких больных значительно затруднена отсутствием соответствующих экспериментальных моделей очаговой ишемии головного мозга «венозного» генеза.

Исходя из вышеизложенного, **целью настоящего исследования** явилась разработка экспериментальной модели очаговой ишемии головного мозга вследствие нарушения венозного кровотока.

Материалы и методы. Исследуемую группу животных составили 32 крысы линии Вистар (самцы и самки в равном соотношении) со средней массой 220 г. Содержание животных в пред- и послеоперационном периодах осуществлялось в условиях вивария ФГБУ ННИИТО Минздравсоцразвития России в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», согласно приказу Минздрава РФ № 755 от 12 августа 1977 г. Все исследования выполнялись с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. Операции по моделированию очаговых ишемических повреждений головного мозга венозного генеза проводили в условиях экспериментальной операционной с соблюдением правил асептики и антисептики. При выполнении операций использовали микрохирургический инструментарий и операционную оптику с увеличением 5,0 (бинокулярная лупа, Carl Zeiss, Germany).

Операцию проводили при анестезиологической поддержке с использованием раствора кетамина внутримышечно. Первоначально выполняли резекционную трепанацию в левой теменно-височной области с заходом за среднюю линию и обнажением верхнего сагиттального синуса в средней его трети. Дальнейшие манипуляции различались в зависимости от конкретной модели формирования очаговой венозной ишемии головного мозга в трех группах животных.

В первой группе ($n = 8$) выполнялось пересечение верхнего сагиттального синуса в верхней его трети с помощью монополярной коагуляции. Подобный подход позволял получить выраженный диффузный отек головного мозга непосредственно после выполнения вышеуказанной манипуляции и развитие ишемических нарушений головного

мозга венозного характера. У животных второй группы ($n = 8$) также с помощью монополярной коагуляции выполнялась только прецизионная коагуляция венозных корковых сосудов теменно-височной области на площади $0,8-1 \text{ см}^2$, при которой формировался умеренно выраженный отек головного мозга в зоне трепанационного дефекта.

В третьей группе ($n = 16$) формирование очага венозной ишемии проводилось по разработанному нами методу [5] путем пересечения верхнего сагиттального синуса в средней его трети и последующей прецизионной коагуляцией венозных корковых сосудов в левой теменно-височной области на площади $0,8-1 \text{ см}^2$. Подобный подход приводил к развитию грубого диффузного отека головного мозга.

Кормление крыс до момента восстановления способности к самостоятельному приему пищи осуществлялось с использованием питания «Нутрикомп» через пипетку. Животные, неспособные к приему пищи через пипетку, получали инъекции физиологического раствора и 10 % раствора глюкозы внутримышечно в дозе 3-4 мл/сут.

Состояние животных анализировали с помощью модифицированной нами шкалы оценки тяжести неврологических нарушений (ОТНН) [6], согласно которой выраженный неврологический дефицит соответствовал 20–26 баллам, умеренный — 10–19, легкий — 1–9 баллам. Анализ тяжести неврологического дефицита проводили на 1-е, 7-е, 14-е сутки.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение. Морфологическими исследованиями было установлено, что после постановки эксперимента у животных всех трех серий в головном мозге происходило формирование очаговых некрозов (инфаркт) без какой-либо фоновой патологии, что и определяло чистоту эксперимента. Формирующиеся инфаркты мозга по распространенности и выраженности в изучаемых группах значительно отличались. Но все они независимо от вида сопровождались геморрагическим компонентом (кровоизлиянием, венозным полнокровием, стазами), степень выраженности которого позволила часть из них отнести к белым (73 %), красным (9 %) и смешанным (18 %) инфарктам при остальных типичных морфологических признаках, характеризующих инфаркт в разных стадиях развития. К таковым признакам относятся некробиотические изменения нервных клеток в виде цитолиза и острого набухания, лейкостазы с миграцией полиморфноядерных лейкоцитов, перифокальный отек, площадь которого определяла и усугубляла существующую в этой зоне аноксию и гипоксию, дальнейшее формирование глиомезодермального рубца или кисты, сроки организации которых зависели от размеров некроза и активности мезодермальных элементов.

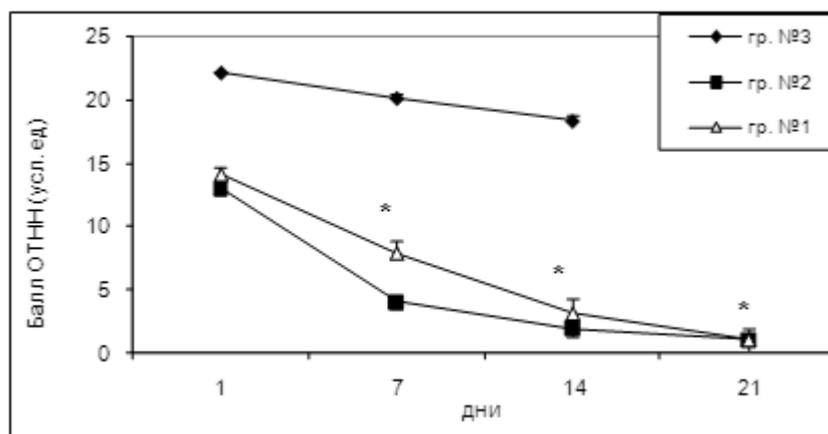
Анализ результатов оперативного вмешательства в группе 1 показал, что подобное хирургическое воздействие характеризовалось для крыс удовлетворительной переносимостью. Все оперированные животные в этой группе выживали и, начиная с первых суток послеоперационного периода, самостоятельно принимали пищу и воду, что в совокупности с данными неврологического статуса позволяло оценить их состояние как относительно удовлетворительное.

Оценка степени неврологического дефицита у животных 1-й группы показала, что в первые сутки после проведения эксперимента у всех особей развивались неврологические нарушения, проявляющиеся в виде легкого тетрапареза, пареза в лапах и атаксии. При этом сумма баллов по модифицированной шкале ОТНН составила $13,0 \pm 0,67$, что свидетельствовало об умеренной выраженности неврологического дефицита.

К 7-м суткам очаговость неврологических нарушений существенно снижалась до $4,0 \pm 0,69$ балла, соответствуя легкой степени выраженности. В дальнейшем (на 14-е и 21-е сутки) у животных неврологический дефицит практически полностью регрессировал, при этом средние показатели значений неврологических выпадений составили соответственно $1,9 \pm 0,22$ и $1,0 \pm 0,1$ балла (см. рис.).

Во 2-й группе у животных в раннем послеоперационном периоде развивалась очаговая неврологическая симптоматика, которая проявлялась в виде легкого правостороннего гемипареза, гиперестезии и неспособности к самостоятельному приему пищи в течение первых суток. Исходный суммарный балл неврологического дефицита был аналогичен таковому в первой группе ($14,1 \pm 0,35$). Оценка выраженности неврологических расстройств в динамике наблюдения выявила снижение выраженности неврологической симптоматики вплоть до ее исчезновения. Так, уже на 7-е сутки суммарный балл по шкале ОТНН уменьшался до $7,8 \pm 0,35$, к 14-м суткам — до $3,1 \pm 1,07$ балла. Спустя три недели после операции он составлял минимальные значения — $1,0 \pm 0,09$ балла.

В 3-й группе оперативное вмешательство приводило к тяжелому состоянию животных и возникновению грубых неврологических нарушений. Из 16-ти экспериментальных животных погибло 6 крыс (38 %). Два животных погибло во время проведения эксперимента после формирования очага ишемии, четыре — в первые сутки после операции.



Выраженность неврологических нарушений в моделях очаговой венозной ишемии головного мозга в различные сроки наблюдения. По шкале абсцисс — сумма баллов неврологического дефицита по модифицированной шкале ОТНН; по шкале ординат — дни наблюдения; * — $P < 0,05$ — достоверность различий между группами 3 и 1, 3 и 2

В послеоперационном периоде состояние животных было тяжелым: у всех крыс наблюдался тетрапарез в конечностях, значительно более выраженный на контрлатеральной стороне с повышением тонуса мышц в паретических конечностях и хвосте. Эта симптоматика сочеталась с развитием гипестезии в них и грубым нарушением координации движений. Наряду с очаговой, у крыс имелась выраженная общемозговая неврологическая симптоматика — крысы были очень вялые, сонливые, самостоятельно не могли принимать пищу. Суммарный балл неврологических нарушений по шкале ОТНН в 1-е сутки в этой группе животных значительно превышал аналогичный показатель у животных первых двух групп, составляя $22,2 \pm 0,13$ балла, что свидетельствовало о наличии тяжелой степени неврологического дефицита. Общее состояние всех животных 3-й группы на протяжении первой недели послеоперационного периода оставалось тяжелым, что требовало проведения принудительного кормления.

Дальнейшее наблюдение за животными 3-й группы и оценка неврологической симптоматики не выявило положительной динамики. Выраженный неврологический дефицит регистрировался через неделю с момента проведения операции ($21,0 \pm 0,1$ балла), сохраняясь до 14-ти суток наблюдения ($19,0 \pm 0,1$ балла). Спустя 2 недели со времени постановки эксперимента состояние животных не улучшалось, напротив, они становились еще более вялыми, адинамичными и истощенными. Это явилось основанием для выведения их из дальнейшего эксперимента на 16–17-е сутки.

Заключение. Полученные в данном исследовании результаты свидетельствуют о том, что в эксперименте создана оригинальная модель локального очагового поражения головного мозга, обусловленного нарушением венозного кровотока, приводящая к развитию тяжелого стойкого неврологического дефицита. Подобная модель может достаточно точно отражать изменения, возникающие после удаления парасагиттальных менингиом головного мозга в средней трети верхнего сагиттального синуса у человека с повреждением крупных венозных коллекторов, впадающих в верхний сагиттальный синус. Все это открывает перспективы дальнейшего изучения патогенеза очаговых ишемических поражений головного мозга венозного характера и методов их коррекции.

Список литературы

1. Одинак М. М. Сосудистые заболевания головного мозга / А. А. Михайленко, Ю. С Иванов [и др.]. — СПб. : Гиппократ, 1998. — 160 с.
2. Скворцова В. И. Ишемия головного мозга / В. И. Скворцова. — М. : Медицина, 2001. — 326 с.
3. Бердичевский М. Я. Венозная дисциркуляторная патология головного мозга / М. Я. Бердичевский. — М. : Медицина, 1989. — 224 с.
4. Тиглиев Г. С. Хирургическое лечение менингиом верхнего сагиттального синуса (тактика и техника операций) / Г. С. Тиглиев, С. В. Можаяев, В. Е. Олюшин // Вопр. нейрохирургии. — 1994. — № 3. — С. 19–22.
5. Патент 2 432 619 Российская Федерация : G09B 23/28, A61N 1/32. Способ моделирования ишемического повреждения головного мозга / Ступак В.В., Васильев И.А., Самохин А.Г. ; заявитель и патентообладатель ФГУ Новосибирский науч.-ислед. ин-т травматологии и ортопедии Минздравсоцразвития России. — № 2009143265/14 ; заявл. 23.11.2009 ; опубл. 27.10.2011, Бюл № 30 — 4 с.
6. Черных Е. Р. Мезенхимальные клетки в коррекции неврологического дефицита, индуцированного нарушением венозного кровотока головного мозга у крыс / Е. Р. Черных, В. В. Ступак, И. А. Васильев, Е. Я. Шевела, А. А. Останин, А. Г. Самохин // Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2011. — № 2. — С. 77–83.

EXPERIMENTAL MODELLING OF ISCHEMIC FOCAL BRAIN DAMAGES OF VENOUS CHARACTER

*I.A. Vasilev¹, V.V. Stupak¹, E.V. Polovnikov¹,
A.G. Samokhin¹, E.Y. Shevela², E.R. Chernykh²*

¹*FSBE Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics
of Minhealthsocdevelopment of Russia (Novosibirsk c.)*

²*RI of clinical immunology SB RAMS (Novosibirsk c.)*

The approach data of creating the modeling of focal brain ischemia caused by disturbance of venous blood flow is presented in work. Crossing of top sagittal sinus in middle third with the subsequent coagulation of cortical veins of brain in parietotemporal area conducts to occurrence of rasping diffusive wet brain and formation of the expressed focal neurologic disorders at the animal. It is supposed that the given original experimental model sufficiently reflects the changes that are occurring in brain of the person with disturbances of venous blood flow. In further it can be used for studying of pathogenesis and efficiency of therapeutic methods of the given pathology.

Keywords: experimental model, wet brain, disturbances of venous outflow, neurologic deficiency.

About authors:

Stupak Vyacheslav Vladimirovich — doctor of medical sciences, professor, neurosurgeon, doctor of higher category head of unit a FSBE Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics of Minhealthsocdevelopment of Russia, office phone: 8(383) 224-47-13, e-mail: IVasilev@niito.ru

Vasiliev Igor Anatolievich — neurosurgeon, post-graduate student of FSBE Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics of Minhealthsocdevelopment of Russia, office phone: 8(383) 224-47-13, e-mail: IVasilev@niito.ru

Polovnikov Evgeny Vladimirovich — neurosurgeon, post-graduate student of FSBE Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics of Minhealthsocdevelopment of Russia, office phone: 8(383) 224-47-13, e-mail: IVasilev@niito.ru

Samokhin Alexander Gennadevich — the senior research assistant, principal of experimental surgery functional group of FSBE Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics of Minhealthsocdevelopment of Russia, office phone: 8(383) 224-45-58, email: asamohin@niito.ru

Shevela Ekaterina Jakovlevna — candidate of medical sciences, the senior research assistant of laboratory of cellular immunotherapy of RI of clinical immunology SB RAMS, office phone: 8(383) 236-03-29, e-mail: shevelak@mail.ru

Chernykh Elena Removna — doctor of medical sciences, professor, head of laboratory of cellular immunotherapy, deputy director of RI of clinical immunology SB RAMS, office phone: 8(383) 236-03-29, e-mail: ct_lab@mail.ru

List of the Literature:

1. Odinak M. M. Vascular diseases of brain / A. A. Mikhaylenko, Y. S. Ivanov [etc.]. — SPb.: Hippocrates, 1998. — 160 P.
2. Skvortsova V. I. brain ischemia / V. I. Skvortsova. — M: Medicine, 2001. — 326 P.
3. Berdichevsky M. Y. Phleboid dyscirculatory brain pathology / M. Y. Berdichevsky. — M: Medicine, 1989. — 224 P.
4. Tigliev G. S. Surgical treatment of meningiomas top sagittal sinus (tactics and technics of operations) / G. S. Tigliev, S. V. Mozhaev, V. E. Olyushin // Issues of Neurosurgery. — 1994. — № 3. — P. 19–22.

5. Patent 2 432 619 The Russian Federation: G09B 23/28, A61N 1/32. Way of modeling of ischemic damage of brain / Stupak V. V, Vasilev I. A., Samokhin A. G.; the applicant and patentee FSE Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedy of *Minhealthsocdevelopment* of Russia. — № 2009143265/14; app. 11/23/2009; pub. 10/27/2011, Bul № 30 — 4 P.
6. Chernykh E. R. Mesenchymal cells in correction of neurologic deficiency induced by disturbance of venous blood flow of brain at rats / E. R. Chernykh, V. V. Stupak, I. A. Vasiliev, E. Y. Shevela, A. A. Ostanin, A. G. Samokhin// Cellular technologies in biology and medicine. — 2011. — № 2. — P. 77–83. *ИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ*. — 2011. — № 2. — with. 77–83.