

УДК 616-006:616.12-008.331.1]:59.084.1

В.И.Черний¹, А.Н.Колесников^{1,2}, Е.В.Гайдарова¹,
А.С.Хайлиулина², С.А.Худолей^{1,2}, Т.А.Мустафин^{1,2}**ОРИГИНАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ВНУТРИЧЕРЕПНОЙ
ГИПЕРТЕНЗИИ ОПУХОЛЕВОЙ ЭТИОЛОГИИ
У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ***¹Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького,
Украина; ²Коммунальное медицинское учреждение «Клиническая
Рудничная больница», Макеевка, Украина*

Экстраполяция результатов экспериментальных наблюдений на клиническую практику представляет значительные трудности, так как данные клинических и лабораторных методов не всегда сопоставимы. Целью данной работы является определение реакции головного мозга с внутричерепной гипертензией (ВЧГ) на различные препараты для анестезии и их комбинации, а также оценка основных патоморфологических изменения в центральной нервной системе во время эксперимента на крысах при остром и хроническом стрессовых воздействиях, путем разработки модели изолированной внутричерепной гипертензии. Животные с моделированной ВЧГ в количестве 35 половозрелых особей обоего пола, были разделены на группы, в зависимости от схемы наркоза, включая группу контроля в количестве 6 особей интактных животных. На данном этапе работы нами выполнены оценка и анализ летальности в каждой из исследуемых групп. Выявлено, что использование тиопентала натрия в схеме наркоза при полиэтиологическом поражении ЦНС сопряжено с высокой летальностью у экспериментальных животных.

Ключевые слова: внутричерепная гипертензия, модель, стресс, препараты для анестезии, летальность, стресс-лимитирующая анестезия.

Исследование адаптивно-компенсаторных реакций поврежденного мозга относится к числу фундаментальных научных проблем, актуальность которых с течением времени постоянно возрастает. Классические работы данного направления были посвящены, в основном, анализу общих принципов адаптивно-компенсаторной деятельности мозга [1,2,5,7]. Эти представления были существенно дополнены данными о неспецифической (стрессорной) составляющей адаптивного процесса, обеспечивающейся активацией лимбико-ретикулярного комплекса [3,4,8-11]. В последние годы на первый план выступает изучение “частных” нейрофизиологических механизмов компенсации, обусловленных особенностями топографии церебрального поражения. Эта направленность исследований определяется потребностями клиники. Причем, успех работ данного направления все чаще связывается с разработкой адекватных клинике экспериментальных моделей, максимально полно воспроизводящих особенности той или иной патологии человека [12-16]. Экспериментальные исследования на животных позволяют выяснить общие принципы

компенсации, определить материальную основу восстановительных процессов, а также проверить предположения, возникающие в ходе клинического наблюдения.

Экстраполяция результатов экспериментальных наблюдений на клиническую практику представляет значительные трудности, так как данные клинических и лабораторных методов не всегда сопоставимы. Во-первых, в клинической практике при проведении анестезии, до первых проявлений нейротоксикоза, период должен быть значительно большим, чем у экспериментальных животных. Во-вторых, эксперименты значительно отличаются от анестезии во время оперативного вмешательства. В-третьих, оценивая действие препаратов не учитывается исходное состояние животных (животные идут как исходно «здоровые»), хотя наличие внутричерепной гипертензии, например, существенно изменяет реактивность головного мозга. Поэтому, для пациентов с полиэтиологическим поражением ЦНС необходима тождественная модель.

Особый интерес и большую медико-социальную значимость в этом плане представляет изучение

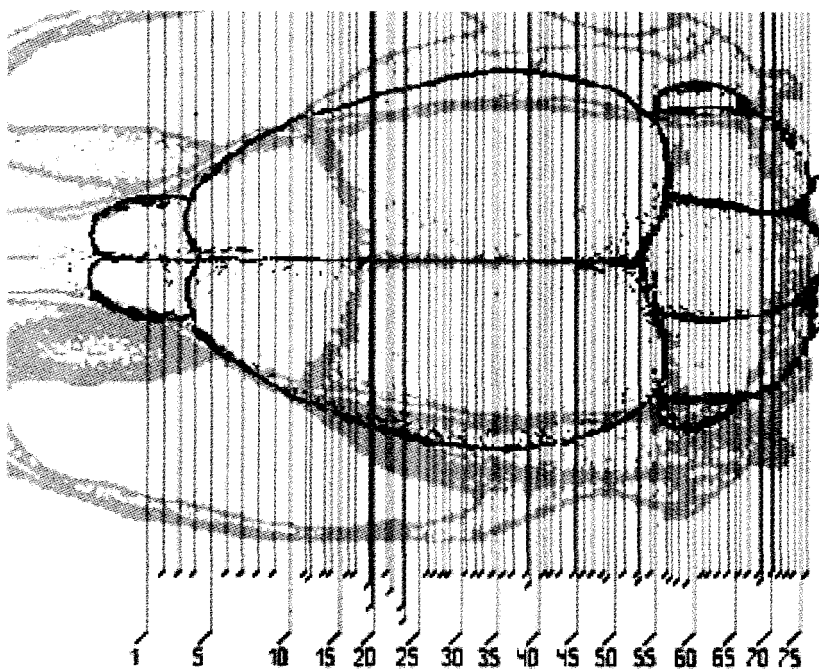
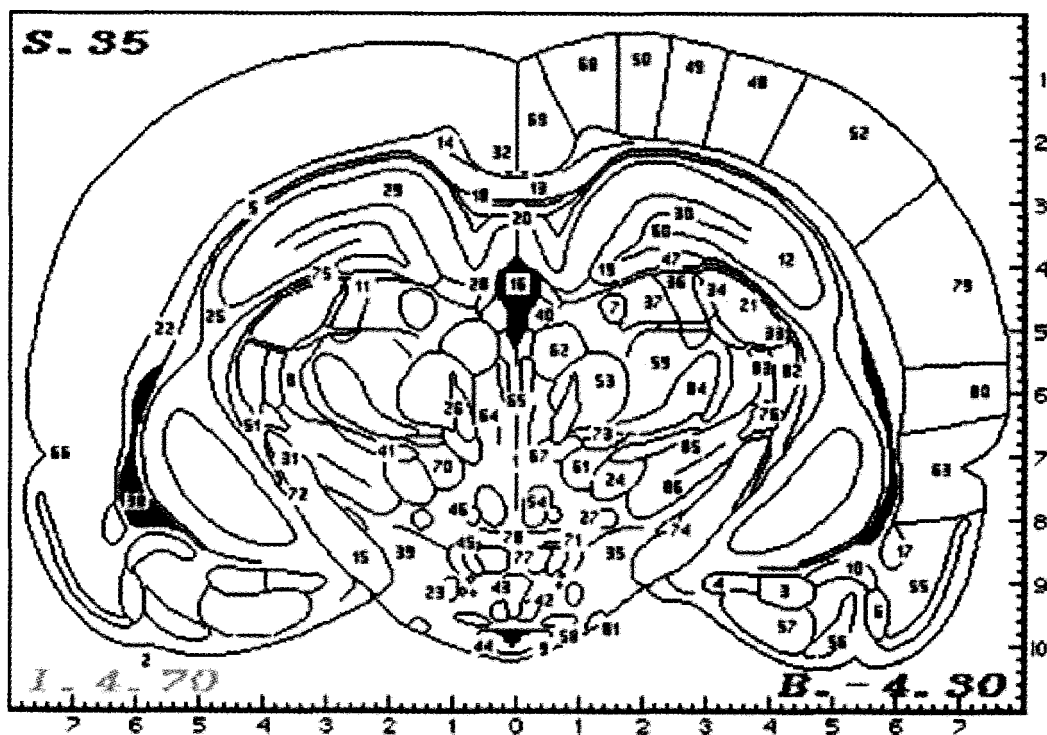


Рис. 2. Координаты интрацеребровентрикулярного введения геля (Zhermack clinical) согласно «Стереотаксического атласа мозга крысы»; 15 – IV желудочек.



Рис.3. Наложение трепанационного отверстия согласно координат – а, трепанационное отверстие – б.

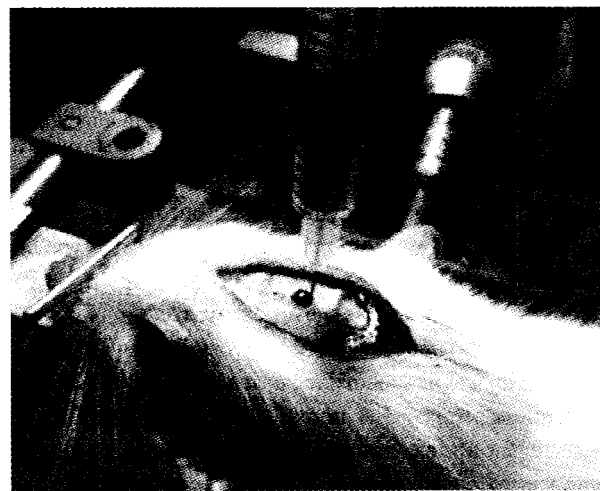


Рис.4. Момент введения иглы микроинъектора в IV желудочек головного мозга крысы – а, увеличение ликворного объема за счет введения дополнительного объема – б.

Препараты вводились внутривенно 1 раз в сутки на протяжении 21 суток. По одному животному из каждой группы «забивали» для верификации степени ВЧГ (через 3 часа после эксперимента). У умерших животных в ходе эксперимента проводили забор крови и органов на исследование. Обследование животных проводили через: 24 ч, 48 ч, 7 сут, 14 сут, 21 сутки. По окончании 21 дня, выжившие животные «забивались», согласно требований комиссии по биоэтике. Для гистологического исследования немедленно на холоде забирали головной мозг, гипофиз, печень, сердце, почки, легкие, надпочечники и помещали экспериментальный материал для фиксации в 10% нейтральный формалин или в 96°С этиловый спирт. Изготавливали серийные парафиновые срезы мозга и

гипофиза толщиной 5–8 мкм. Для оценки состояния различных отделов ЦНС использовали общегистологические и нейрогистологические методы исследования.

Животные находились в условиях вивария, где за ними осуществлялся уход, наблюдение и кормление. Ежедневно у животных оценивался уровень ликворного столба в канюле.

В каждой из экспериментальной серий использовали по 10 подопытных животных, которым моделировали ВЧГ. Через 3 часа после моделирования ВЧГ каждому животному в/в капельно-струйно последовательно вводились препараты в дозировках, соответствующих каждой отдельной серии животных,

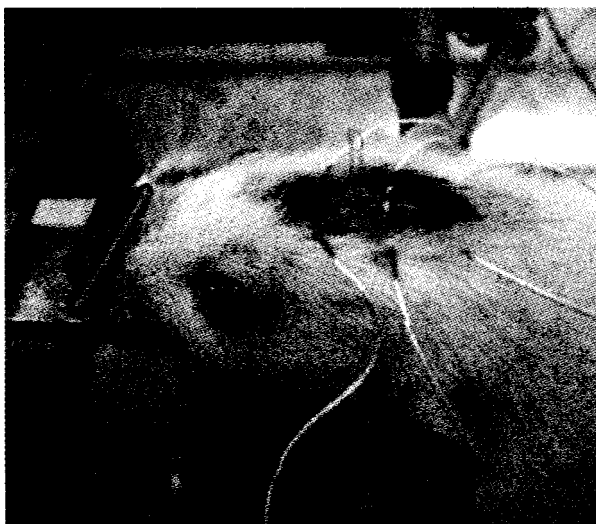


Рис.5. Установка стеклянного микроэлектрода для дальнейшего контроля ВЧД у крысы.

с последующим повторным введением препаратов через сутки в зависимости от сроков выведения животного из эксперимента.

У животных всех групп проводили наблюдение за динамикой летальности и исследовали показатели неврологического дефицита на протяжении пребывания животного в эксперименте.

Для объективной оценки тяжести ВЧГ и ЧМТ была избрана шкала неврологического дефицита Евтушенко-Зяблицева. Через 3 ч после моделирования ВЧГ по шкале в баллах оценивались: уровень сознания животного; состояние рефлекторной сферы в том числе ширина и реакция зрачков на свет, роговичный рефлекс, слух, мышечный тонус туловища и реакция на свет и боль; дыхание; движение и некоторые поведенческие реакции (табл.2) – всего 14 признаков.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данной статье описываются первые данные по комбинации следующих наркотических средств:

Группа 1 – ВЧГ/ЧМТ тиопентал натрия (7–10 мг/кг) + фентанил (0,008 мкг\кг)

Группа 2 – ВЧГ/ЧМТ пропофол (4 мг/кг) + фентанил (0,008 мкг\кг)

Группа 3 – ВЧГ/ЧМТ Натрия оксибутират (50–75мг/кг) + тиопентал натрия (7-10 мг/кг) + фентанил (0,008 мкг\кг)

Группа 4 – ВЧГ/ЧМТ Натрия оксибутират (50–75мг/кг) + пропофол (4 мг/кг) + кетамин (9мг/кг) + фентанил (0,008 мкг\кг)

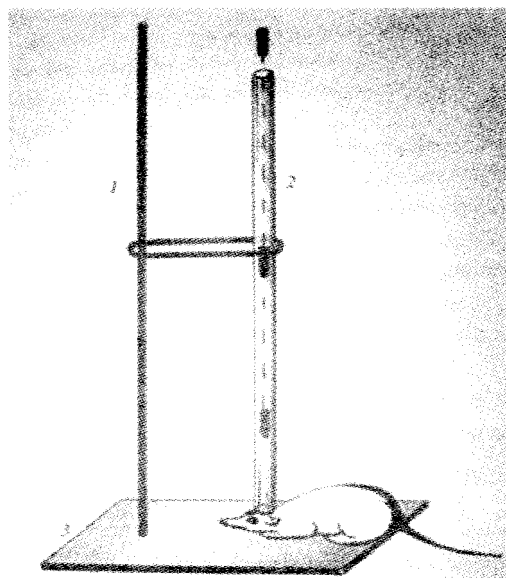


Рис.6. Устройство для нанесения стандартной травмы свободно падающим грузом:

1- штатив;

2- металлическая трубка;

3- подставка.

В течение 90 мин после интрацеребровентрикулярного введения двухкомпонентного геля у всех животных снижалась ЧСС в среднем до 180 уд. в 1 мин., а также наблюдалось уменьшение частоты дыхания в среднем менее 70 дыхательных движений в 1 мин.

Оценивался груминг – поведенческие реакции животных с вызванной ВЧГ: удлинялось время общей груминг-активности, снижалась средняя интенсивность и длительность таких действий, как отряхивание, умывание, лизание и чесание.

Снижение показателей груминга, возможно, связано с нарушением центральной регуляции в головном мозге у исследуемых крыс, что также может свидетельствовать о наличии синдрома ВЧГ.

Макроскопически в препарате мы наблюдали выраженное полнокровие полученных материалов, что может косвенно свидетельствовать о наличии синдрома ВЧГ.

Двигательные реакции проявляли максимальный разброс. Животных, не способных самостоятельно поддерживать позу, было 23%. Животные лежали на боку или принимали неестественные позы. Как правило, эти животные погибали в первые трое суток. 47%

пыталіся самастойна падтрымваць позу, перадвiгаліся с затруднаеннем, тeрyя напpавленне, спотыкаюся. 21% жывотных сахpанялі спосабаь к самастойнаму, хоць і затруднаеннаму перадвiжeннy. У астальных жывотных пры хoдьбe oтмeчaліся явлeннy мiнiмaльнoй атаксiи. С 3–4 сyтoк oтмeчaлaсь рeгрeссiя двiгaтeльнyх нaрyшeннy вo вcex сepиax, нo в рaзнoй стeпeнi. Тe жывотныe, кoтoрыe нaбiрaлі нaбoльшeе кoлiчeствo бaллoв, пoгiбaлі в oснoвнoм в пepвыe 4 сyтoк.

Пoвeдeнчeскiе рeaкцiи, включаючы рeaкцiю нa пoявлeннe экcпepимeнтaтoрa, спoсoбнoсцi пьцц и пpинимaть пшцц, уxoд зa сoбoй былі снiжeны кaк сpазу пoслe тpавмy, тaк и нa прoтяжeннi вceгo вpeмeннa экcпepимeнтa и oцeнивaліся в 2 или 5 бaллoв.

Исследования проводились параллельно наблюдению за динамикой летальности у животных во всех группах на всех сроках.

На основании анализа летальности, которую иллюстрирует следующая диаграмма было

установлено, что выжившие составили 79,8% от общего числа. Среди них 58,5% животных имели небольшую степень неврологического дефицита – суммарный бал от 19–41. Оставшиеся 11,3% имели выраженный неврологический дефицит – от 46 до 60. умершие животные составили 20,2% от общего числа. При этом их суммарная оценка колебалась от 63 до 89 баллов.

Из рис.7. видно, что практически во всех исследуемых группах животных пик летальности приходится на 3-е сутки эксперимента. Наиболее высокие показатели летальности получены в Серии 1 и в Серии 3, где в схеме наркоза применялся тиопентал натрия. В Серии 2, где использовалась комбинация пропофола и фентанила летальность животных с ВЧГ на 3-и сутки достигала 10 %. В Серии 4, с использованием комбинации СЛА пропофол+фентанил+натрия оксibuтиpат, летальность в 3-и сутки эксперимента наиболее низкая – до 5 %.

Таким образом, дальнейшему развитию вопросов анестезии при полиэтиологическом поражении ЦНС,

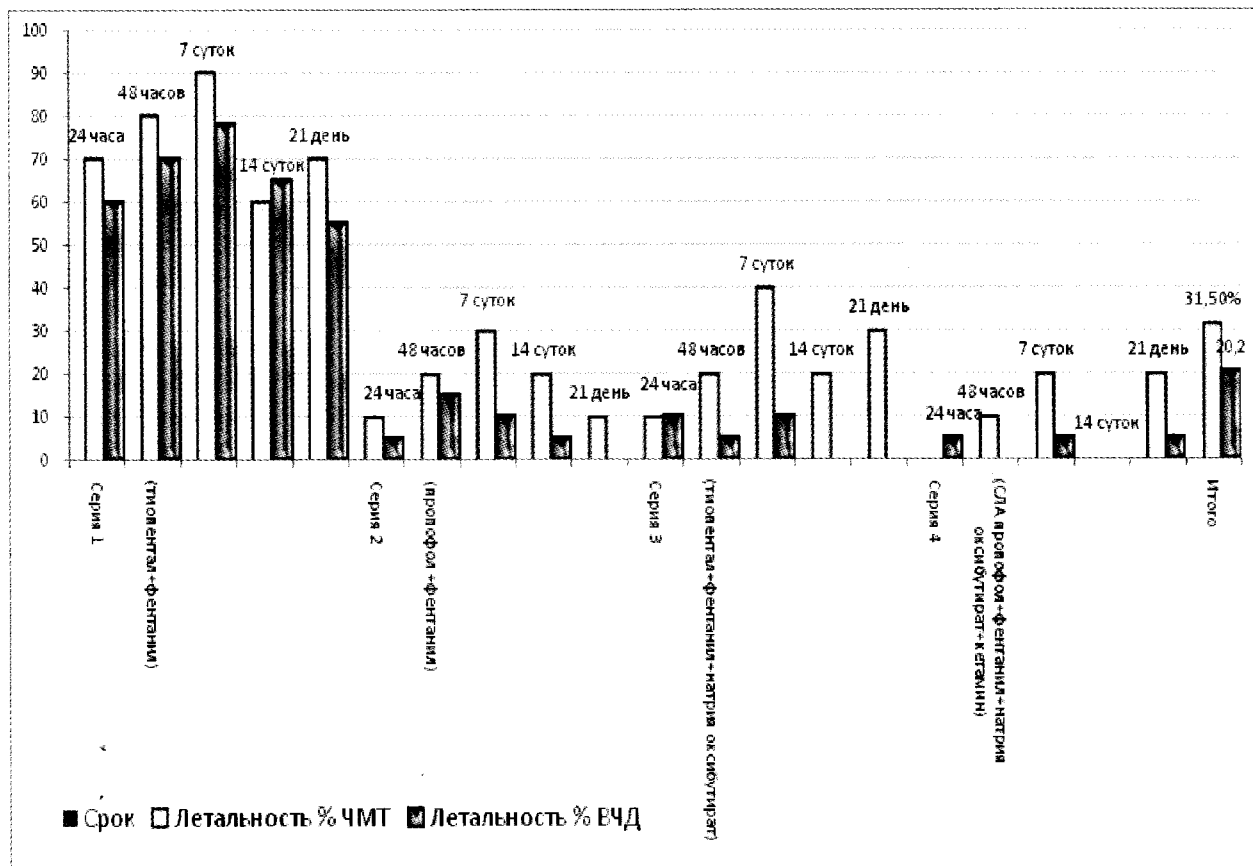


Рис.7. Летальность в исследованных группах животных

Таблица 2. 100-бальная шкала (Toddetal., 1981 в модификации Л.А. Шалякина, 1987; О.Я. Евтушенко, 1989; С.Н. Зяблицева, 2006) для определения степени неврологического дефицита у экспериментальных животных

№	Показатели	Балл	Максимум
1	Уровень сознания		
	Норма	0	20
	Затемнение или возбуждение	5	
	Ступор	10	
кома	20		
2	Рефлекторная сфера		
	Ширина зрачка		
	Норма	0	28
	Сужен	1	
	Расширен	2	
	Реакция на свет		
	Есть	0	
	Ослаблена	2	
	Отсутствует	5	
	Роговичный рефлекс		
	Есть	0	
	Ослаблена	2	
	Отсутствует	5	
	Слух (реакция на громкий хлопок, стук)		
	Норма	0	
	Ослаблен	2	
	Отсутствует	5	
	Мышечный тонус туловища		
	Норма	0	
	Спастический	2	
	Вялый	5	
	Мышечный тонус конечностей		
	А) передние		
	Норма	0	
	Спастический	1	
	Отсутствует	2	
	Б) задние		
	Норма	0	
Спастический	1		
Отсутствует	2		
Реакция на боль			
Есть	0		
Ослаблена	1		
Отсутствует	2		
3	Дыхание		
	Нормальное	0	12
	Субнормальное или частое	6	
Отсутствует	12		

имеющих как теоретическое, так и практическое значение, могут способствовать адекватные экспериментальные исследования на животных.

Нами также были изучены и проанализированы результаты исследований моделирования ЧМТ на белых беспородных крысах-самцах. У животных всех серий после нанесения им ЧМТ по описанной методике возникали различные поведенческие, двигательные и рефлекторные расстройства. Непосредственно после травмы у большинства животных (68%) наблюдались судороги, отмечалось снижение ректальной температуры до 34,7–36,4°C, снижение частоты сердечных сокращений и частоты дыхательных движений.

На основании анализа летальности было установлено, что выжившие составили 68,5% от общего числа. Среди них 41,5% животных имели небольшую степень неврологического дефицита – суммарный балл от 19–41; 27% имели выраженный неврологический дефицит – от 46 до 60; умершие животные составили 31,5% от общего числа, при этом их суммарная оценка колебалась от 63 до 89 баллов.

Из вышеуказанной диаграммы видно, что летальность животных с моделированной ЧМТ, так же как и в случае с ВЧГ, наиболее высокая в серии 1 – 90% на 3-е сутки эксперимента, в серии 3, где также использовался тиопентал натрия (до 40% умерших животных). При этом в серии 4 на данный период времени отмечалась наиболее низкая летальность в сравнении с остальными сериями животных (до 20%).

Общая летальность при моделировании ВЧГ составила 20,2%, и более, чем на 10% в случае моделирования ЧМТ – 31,5%

Продолжение таблицы 2

4	Движение		
	Нормальные координированные движения	0	
	Способно к ходьбе с минимальной	5	
	Способно стоять, но не способно	10	
	Не способно стоять самостоятельно	15	
	Не способно поддерживать позу	20	
	Отсутствие движений	25	25
5	Поведение и разное		
	Реакция на появление экспериментатора		
	Реагирует	0	
	Не реагирует	5	
	Способно пить и принимать пищу		
	Самостоятельно	0	
	Способно глотать при вливании	2	
	Не способно	5	
	Уход за собой		
	Животное активно, полностью следит за собой и соблюдает чистоту	0	
	Хмурое, унылое плохо следит за собой	2	
Пассивное животное, не соблюдающее чистоту	5	15	
Итого		100	

ВЫВОДЫ

Основным результатом данной работы можно считать создание «удачной» и «работоспособной» модели ВЧГ.

Исходя из оценки двигательных, поведенческих, рефлекторных расстройств, а также в большей степени анализа выживаемости экспериментальных животных с моделированными ВЧГ и ЧМТ, на данном этапе исследования можно сказать, что наиболее оптимальной схемой анестезиологического обеспечения при полиэтиологическом поражении ЦНС является схема, включающая в себя СЛА, пропофол, натрия оксибутират и фентанил.

Напротив, использование тиопентала натрия в схеме наркоза сопряжено с высокими показателями послеоперационной летальности. Поэтому, его использование в условиях острого и хронического стрессового воздействия на ЦНС, в частности при черепно-мозговой травме, других состояниях, сопровождающихся синдромом ВЧГ, следует ограничивать.

Разработанная модель является «полигоном» для оценки особенностей анестезиологической защиты у пациентов с синдромом ВЧГ (в том числе и опухолевого генеза) и не имеет аналогов. Полученные нами данные можно считать предварительными, так как исследование является не окончательным. В данной статье представлены пилотные сведения, которые на данном этапе, демонстрируют валидность разработанной модели.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анохина И.Л. (1975) *Нейрохимическая характеристика специфических патологических синдромов, возникающих в условиях стрессовых состояний. Вестн. АМН СССР, № 8, с. 34-43.*
2. Березин Ф.Б., Мирошников М.П. (1996) *Эмоциональный стресс и психосоматические расстройства. Подходы к терапии. Materia Medica, № 1 (9), с. 29-56*
3. Вейн А.М. (1997) *Клинические аспекты эмоционального стресса. В кн: Эмоциональный стресс: теоретические и клинические аспекты/Под ред. К.В.Судакова, В.И.Петрова. — Волгоград, сс. 138—148, 154— 157*
4. Меерсон Ф.З., Твердохлиб В.Л., Боев В.М., Фролов Б.А. (1989) *Адаптация к периодической гипоксии в терапии и профилактике. М.: Наука, 70 с.*
5. Судаков К.В. (1997) *Церебральные механизмы эмоционального стресса. В кн: Эмоциональный стресс: теоретические и клинические аспекты/Под ред. К.В.Судакова, В.И.Петрова. Волгоград, с. 59—74.*
6. Крыжановский Г.Н., Магаева С.В., Макаров С.В. (1997) *Нейроиммунопатология. М., 283 с.*
7. Меерсон Ф.З. (1981) *Адаптация, стресс и профилактика. М.: Наука, 278 с.*
8. Berridge K.C., Robinson T.E. (1998) *What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning or incentive salience? Brain Res. Rev.; 28(3): 309-369.*
9. Bileviciute I., Lundeberg T., Ekblom A., Theodorsson E. (1993) *Bilateral changes of substance P, neurokinin A, CRGP and neuropeptide Y like-immunoreactivity in rat knee joint synovial fluid during acute monarthritis. Neurosci Lett, 153:37-40.*
10. Bjurholm A., Kreicbergs A., Ahmed M., Schultzberg M. (1990) *Noradrenergic and peptidergic nerves in the synovial tissue of the Sprague-Dawley rat. Arthri-tis Rheum, 33:859-865.*
11. Blalock E.J. (1989) *A molecular basis for bidimensional communication be-tween the immune and neuroendocrine systems. Physiol Rev, 69:1-32.*

12. Bluthé R.M., Walter V., Parnet P., et al. (1994) Lipopolysaccharide induces sickness behaviour in rats by a vagal mediated mechanism. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences: Serie Hi, Science de la Vie*, 317:499-503.
13. Bret-Dibat J.L., Bluthé R.M., Kent S., et al. (1995) Lipopolysaccharide and interleukin-1 depress food-motivated behaviour in mice by a vagal-mediated mechanism. *Brain Behav Immunity*; 9:242-246.
14. Carleson J., Alstergren P., Appelgren A., et al. (1996) A model for experimental induction of acute temporo-mandibular joint inflammation in rats: effects of substance P on neuropeptide-like immunoreactivity. *Life Sci*, 59:1193-1201.
15. Khoshbaten A., Ferrell W.R. (1993) Nerve mediated responses of blood vessels in the rabbit knee joint. *J Vase Res*, 30:102-107.
16. Kontinen Y.T., Kemppinen P., Segerberg M., et al. (1994) Peripheral and spinal neural mechanisms in arthritis, with particular reference to treatment of inflammation and pain. *Arthritis Rheum*, 37:965-982.
17. Lam F.Y., Ferrell W.R. (1989) Inhibition of carrageenan induced inflammation in the rat knee joint by substance P antagonist. *Ann Rheum Dis*, 48:928-932.
18. Lam F.Y., Ferrell W.R. (1991) Neurogenic component of different models of acute inflammation in the rat knee joint. *Ann Rheum Dis*, 50:747-750.

В.І.Черній¹, А.М.Колесников^{1,2}, О.В.Гайдарова¹, Г.С.Хайліуліна², С.О.Худолій^{1,2}, Т.А.Мустафін^{1,2}

ОРИГІНАЛЬНА МОДЕЛЬ ВНУТРІШНЬОЧЕРЕПНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ ПУХЛИННОЇ ПРИРОДИ У ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН

Екстраполяція даних результатів експериментальних спостережень на клінічну практику являє собою значні труднощі, тому що дані клінічних і лабораторних досліджень не завжди співставні. Метою дослідження було визначення реакцій головного мозку з ВЧГ на різні препарати для анестезії та їх комбінації, а також оцінювання основних патоморфологічних змін у центральній нервовій системі під час експерименту на щурах за умов гострого і хронічного стресового впливу, шляхом розробки моделі ізольованої внутрішньочерепної гіпертензії. Тварини із модельованою ВЧГ у кількості 35 статевозрілих особин були розподілені на групи залежно від схеми наркозу, включаючи контрольну групу у кількості 6 інтактних тварин. На даному етапі роботи нами проведена оцінка й аналіз летальності у кожній із досліджуваних груп. Виявлено, що за умов використання тіопенталу натрія у схемі наркозу поліетіологічне ураження ЦНС пов'язане з високим рівнем летальності експериментальних тварин.

Ключові терміни: внутрішньочерепна гіпертензія, модель, стрес, засоби для анестезії, летальність, стрес лімітуючи анестезія.

V.I.Cherniy¹, A.N.Kolesnikov^{1,2}, E.V.Gaydarova¹, A.S.Khailiulina², S.A. Khudoley^{1,2}, T.A.Mustafin^{1,2}

ORIGINAL MODEL OF TUMORAL NATURE INTRACRANIAL HYPERTENSIA IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Experimental observation of extrapolation results on clinical practice have much difficult, because clinical and laboratory methods results not always comparable. The work purpose is the reaction definition of brain with intracranial hypertension on different remedies for anesthesia an their combinacions, and also graduating of basical patomorfolological changes in central neural system in time of experiments on rats in critical and chronicle stress influence, by researching model of isolated ntracranial hypertension. Animals with model of isolated intracranial hypertension In quantity of 35 puberal individuals of both sex, have been divided in to groups in depend of anesthesia scheme, including control group of 6 individuals of intact animals. At this stage of work we have made graduating and analyses of death rate In each of researching groups. It was found out that using thiopental natrium in anesthesia scheme in the time of multifactorial affection of central neural system connect with hi death rate of experimental animals

Key words: intracranial hypertension, model, stress, remedies for anesthesia, stress limited anesthesia.