

УДК: 616.831-005.1:8-092.9

В. М. Бібікова

Зміни неврологічних функцій щурів при моделюванні геморагічного інсульту

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Ключові слова: геморагічний інсульт, когнітивні порушення, неврологічний дефіцит, щури.

Мозковий інсульт супроводжується розвитком неврологічного дефіциту, що погіршує перебіг захворювання і прогноз для одужання. З метою порівняння емоційно-поведінкової реакції і фізичної працездатності в умовах моделювання геморагічного інсульту у 70 щурів-самців двох вікових груп вивчили ступінь неврологічного дефіциту методом «відкритого поля». Геморагічний інсульт (первинний і повторний) моделювали стереотаксичним методом шляхом механічної деструкції тканин мозку в області внутрішньої капсули в межах правої півкулі за допомогою мандрена-ножа з додатковим введенням 0,1 мл аутокрові. Повторний геморагічний інсульт відтворювали за допомогою тієї ж моделі через 1 місяць після первинного. Встановили, що у структурі неврологічного дефіциту переважає однобічний процес, а в геронтологічному аспекті превалює динаміка двостороннього процесу з низьким спонтанним відновленням. Результати можуть бути використані для розробки методів корекції.

Изменения неврологических функций крыс при моделировании геморрагического инсульта

В. Н. Бибилова

Мозговой инсульт сопровождается развитием неврологического дефицита, что ухудшает течение заболевания и прогноз для выздоровления. С целью сравнения эмоционально-поведенческой реакции и физической работоспособности в условиях моделирования геморрагического инсульта у 70 крыс-самцов двух возрастных групп изучена степень неврологического дефицита методом «открытого поля». Геморрагический инсульт (первичный и повторный) моделировали стереотаксическим методом путем механической деструкции тканей мозга в области внутренней капсулы в пределах правого полушария с помощью мандрена-ножа с дополнительным введением 0,1 мл аутокрови. Повторный геморрагический инсульт воспроизводили с помощью той же модели через 1 месяц после первичного. Установлено, что в структуре неврологического дефицита преобладает односторонний процесс, а в геронтологическом аспекте превалирует динамика двустороннего процесса с низким спонтанным восстановлением. Полученные результаты могут быть использованы для дальнейшей разработки методов коррекции.

Ключевые слова: геморрагический инсульт, когнитивные нарушения, неврологический дефицит, крысы.**Патология.** – 2014. – №3 (32). – С. 46–50

The changes of neurologic functions of rats in the modeling of hemorrhagic stroke

V. N. Bibikova

The brain stroke is followed by the development of neurologic deficit, which worsen the course of the disease and the further prediction for recuperation.

Aim. To examine the changes of neurologic functions of rats in the modeling of hemorrhagic stroke.

Methods and results. In order to compare behavioral and emotional reactions and physical efficacy while modeling hemorrhagic stroke in 70 male rats of two age groups the degree of neurologic deficit was studied by «Opened field». The initial and recurrent hemorrhagic stroke was simulated using stereotactic method by mechanical destruction of brain tissue in the internal capsule within the right hemisphere using mandrin-knife along with introduction of 0.1 ml of autologous blood. The recurrent HS was simulated using the same model one month after initial HS. It was defined, that in the structure of neurologic deficit unilateral process prevails, and in the gerontological aspect dynamics of the bilateral process with low spontaneous recovery prevail.

Conclusion. The obtained results may be used for the further development of correctional methods.

Key words: Cerebral Hemorrhage, Cognition Disorders, Neurologic Manifestations, Rats.**Pathologia.** 2014; №3 (32): 46–50

Мозковий інсульт – це гостре порушення мозкового кровообігу, що супроводжується розвитком неврологічного дефіциту і утримується понад 24 години після появи перших симптомів [3,7,9]. Когнітивні порушення ускладнюють повернення до праці, а хворі з деменцією потребують постійного догляду [5].

Незважаючи на великі масштаби цієї проблеми, багатолітній досвід і накопичені знання, деякі аспекти вивчені недостатньо. Тому дослідження ступеня когнітивного дефіциту після перенесеного інсульту є обов'язковим компонентом оцінювання загального неврологічного дефіциту і розробки стратегій фармакокорекції.

Для вивчення особливостей вищої нервової діяльності щурів широко застосовують тест «відкрите поле» («ВП») [1,2,4,8]. Існують численні дослідження дії різних факторів на поведінкові реакції щурів, але не аналізували розвиток неврологічного дефіциту при геморагічному інсульті (ГІ) у щурів різного віку.

Мета роботи

Порівняння емоційно-поведінкової реакції та фізичної працездатності за умов моделювання ГІ в експерименті.

Матеріали і методи дослідження

Експериментальне дослідження здійснили на 70 щурах-самцях (середня вага 210–230 г) двох вікових груп (табл. 1).

Таблиця 1

Поділ щурів за віком і типом інсульту на групи

№	Група	Кількість щурів
1	Контроль	10
2	Первинний ГІ – щури молодого віку (3 – 3,5 місяця)	10
3	Первинний ГІ – щури старого віку (14 – 16 місяців)	10
4	Повторний ГІ+ГІ – щури молодого віку (3 – 3,5 місяця)	20
5	Повторний ГІ+ГІ – щури старого віку (14 – 16 місяців)	20

Моделювання ГІ здійснювали стереотаксичним методом шляхом механічної деструкції тканини мозку в ділянці внутрішньої капсули (capsula interna, L=3,5–4,0; H=6,0; AP=0,6–1,0) в межах правої півкулі за допомогою мандрена-ножа із додатковим введенням в зону деструкції 0,1 мл аутокрові. Моделювання повторного інсульту полягало у відтворенні тієї ж моделі через один місяць після первинного інсульту.

Упродовж місяця після інсульту оцінювали ступінь неврологічного дефіциту на основі частоти реєстрації змін одно- та двостороннього рефлексів (больового, згинального, хапального, перевертання, опори і здригання) і за методом «ВП». Усі експерименти провели на тлі попередньої премедикації тіопентал натрію, 60 мг/кг, внутрішньоочеревинно) згідно з нормами біоетики [6,8].

Статистично результати опрацювали стандартним методом у пакетному редакторі Excel. Відмінності між групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента, а вірогідними вважали результати з рівнем значущості більше ніж 95% ($p < 0,05$).

Результати та їх обговорення

Після моделювання у щурів правостороннього ГІ встановили розвиток неврологічного дефіциту, парезів і зміни поведінки протягом 30 діб спостереження. На 1–7 добу, оцінюючи неврологічний дефіцит, у 90–100% тварин відзначили функціональні розлади у вигляді в'ялості, зниження моторної активності. Виражені порушення у вигляді манежних рухів, парезів і паралічів кінцівок спостерігали у 10–20% тварин. Також реєстрували пригнічення больового, згинального, хапального рефлексів, що повністю або частково відновлювались через місяць після інсульту.

Під час детального аналізу порушених рефлексів встановили суттєву різницю між наслідками первинного та повторного ГІ (рис. 1). Так, больовий рефлекс у перші 7 діб був у всіх дослідних щурів, але у групі молодих тварин дефіцит мав односторонній характер у 53,8% на 3 добу, 23% – на 7 добу і 9,1% – на 14 добу, водночас у старих щурів ці зміни мали двосторонній перебіг. У кінці спостереження порушення больового рефлексу встановили у 50% молодих щурів і у 71,4% старих (рис. 1).

У випадку повторного ГІ відновлення больового рефлексу у старих щурів не встановили, а у групі молодих щурів – у 25% (односторонній дефіцит – у 25% тварин до 7 доби).

Порушення згинального і хапального рефлексів мали подібну динаміку: до 7 доби встановили виражений їх дефіцит в обох вікових групах при первинному і повторному інсульті. Відновлення хапального рефлексу у старих щурів на 30 добу не відзначили, а в молодій віковій групі – в межах 50% і 75% відповідно. Часткове відновлення згинального рефлексу зареєстрували тільки у щурів із первинним інсультом (рис. 1).

Суттєві розлади рефлексу перевертання в перші 7 діб відзначили при первинному інсульті, а повне відновлення – у 50% щурів молодого і 28,6% старого віку. При повторному інсульті проявів вираженого відновлення рефлексу перевертання не спостерігали.

Повний дефіцит опорного рефлексу при первинному інсульті встановили тільки на 3 добу, після чого відзначали часткове відновлення протягом усього періоду у 90% щурів молодого і 57,2% старого віку. При повторному інсульті прояви відновлення реєстрували починаючи з 7 доби, але в цілому опорний рефлекс повноцінно відновився у 50% щурів.

Виражене відновлення встановлене стосовно реакції здригання на подразник: спостерігали поведінкову інертність тільки у 10% і 28,5% відповідно до віку тварин із первинним інсультом, а при повторному – у 25% і 50% відповідно до віку щурів.

У гострий і віддалений період після інсульту вивчали орієнтовно-дослідницьку поведінку в умовах методики «ВП» – універсального тесту, що в комплексі з оцінюванням порушення рефлексів дає змогу охарактеризувати дослідницьку поведінку тварин. Параметр орієнтовно-дослідницької діяльності щурів у тесті «ВП» характеризується декількома величинами: кількістю пересічених квадратів (горизонтальна рухова активність), вертикальних стійок (вертикальна рухова активність), обстежених отворів, умивань (грумінг), уринацій і дефекацій за загальноприйнятою методикою [4].

Одним із показників, що характеризують дослідницьку активність у «ВП», є кількість стійок на задніх лапах. Результати наших експериментів указують не тільки на зниження кількості стійок при повторному інсульті, але і на зміну характеру активності, спрямованої на предмети. Тривалість кожного окремого епізоду обстеження отворів була знижена, такі відвідування супроводжувалися меншою кількістю вертикальних стійок. У гострому періоді інсульту у старих щурів (рис. 2) збільшувались показники горизонтальної та вертикальної рухової активності, що є проявом гіперактивної поведінки. На 30 добу реєстрували зменшення частоти вертикальних стійок у всіх групах у порівнянні з контролем на 30 добу (рис. 2). Такі зміни є проявом порушення організації нормальної дослідницької поведінки, зокрема і в ситуації, що провокує тривожність.

Косметична поведінка щурів. Грумінг щурів є важливою характеристикою поведінки тварин у «ВП». Традиційно щури значну частину часу приділяють вичісуванню свого тіла у порівнянні з переміщенням у просторі, що тісно корелює з руховою активністю. Під

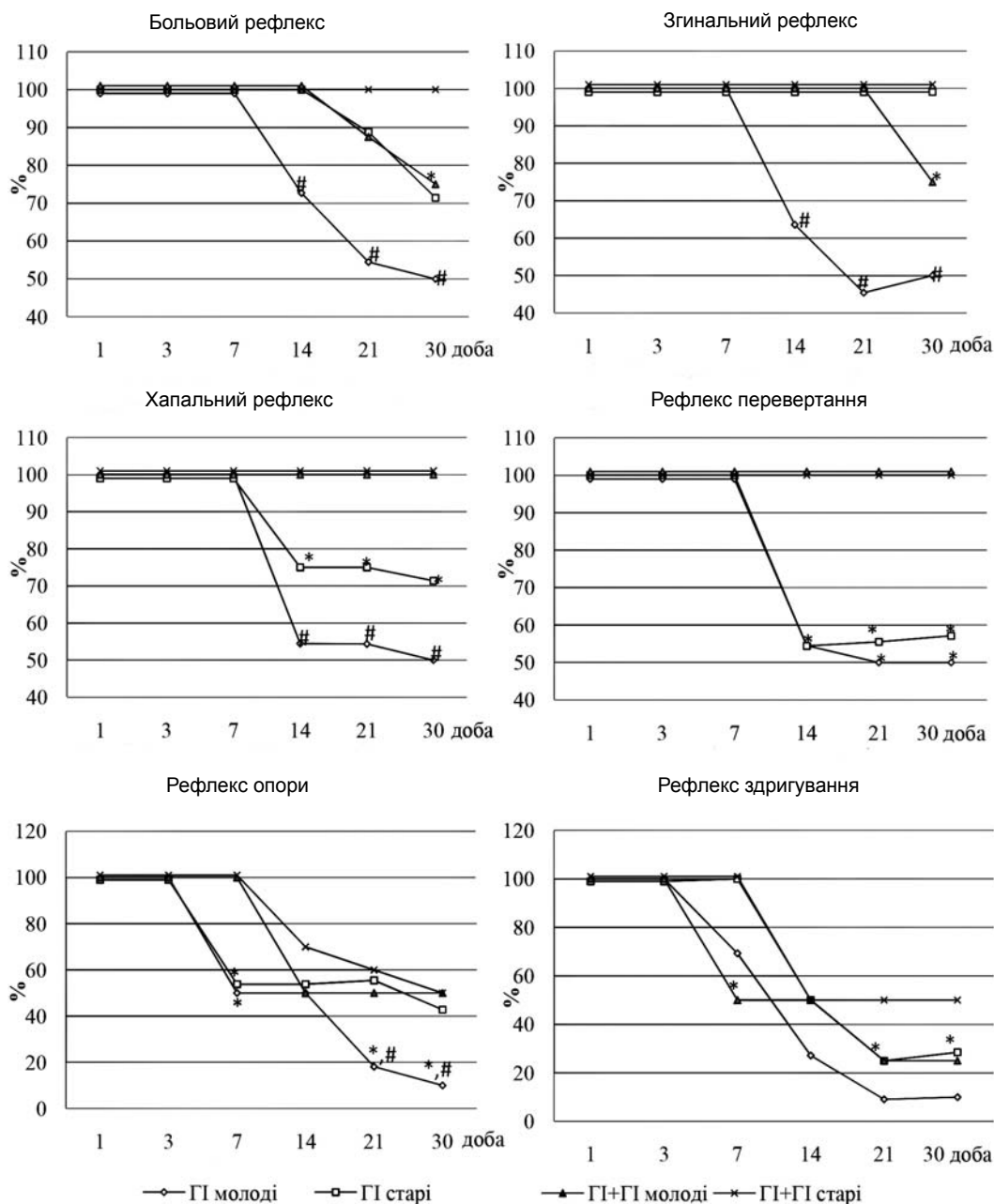


Рис. 1. Структура неврологічного дефіциту в динаміці (%), щурів у групі.

Примітки: * – вірогідно до контролю ($p < 0,05$); # – вірогідно до старих щурів із ГІ ($p < 0,05$); ^ – вірогідно до старих щурів із ГІ+ГІ ($p < 0,05$); (p < 0,05).

час дослідження встановили порушення функції при повторному інсульті незалежно від віку, а при первинному – у старих щурів.

Діурез, дефекація. Як показники емоційного статусу щурів важливе значення має кількість уринацій і дефекацій. Зростання емоційного статусу встановили тільки у щурів молодшої вікової групи, що є проявом тривожності. Поряд із тим характер поведінки старих щурів свідчить про зниження реактивної поведінки.

Загальна кількість обстежених отворів. Різновидом орієнтовно-дослідницької поведінки щурів є кількість обстежених отворів – показник норкового рефлексу, що свідчить про здатність тварини досліджувати «ВП», зокрема заглядати в отвори. Кількість обстежень характеризує пізнавальну активність щурів. Моделювання

повторного інсульту викликало статистично вірогідне зменшення пізнавальної активності тварин протягом усього дослідження і зниження у віддалений період при первинному інсульті.

Отже, результати досліджень показали, що в щурів із ГІ (інтрацеребральною посттравматичною гематомою) спостерігали виражений неврологічний дефіцит і порушення координації рухів. Тривожність, поріг больової чутливості, судомні реакції й епізоди грумінгу є проявом вираженого дефіциту неврологічних функцій, що загалом створюється у віддалений період після інсульту і не мають суттєвої різниці між віковими групами щурів. Регрес патологічної симптоматики і часткове відновлення фізіологічних функцій, що порушені, спостерігали тільки з 14 доби і не досягає повного відновлення, особливо

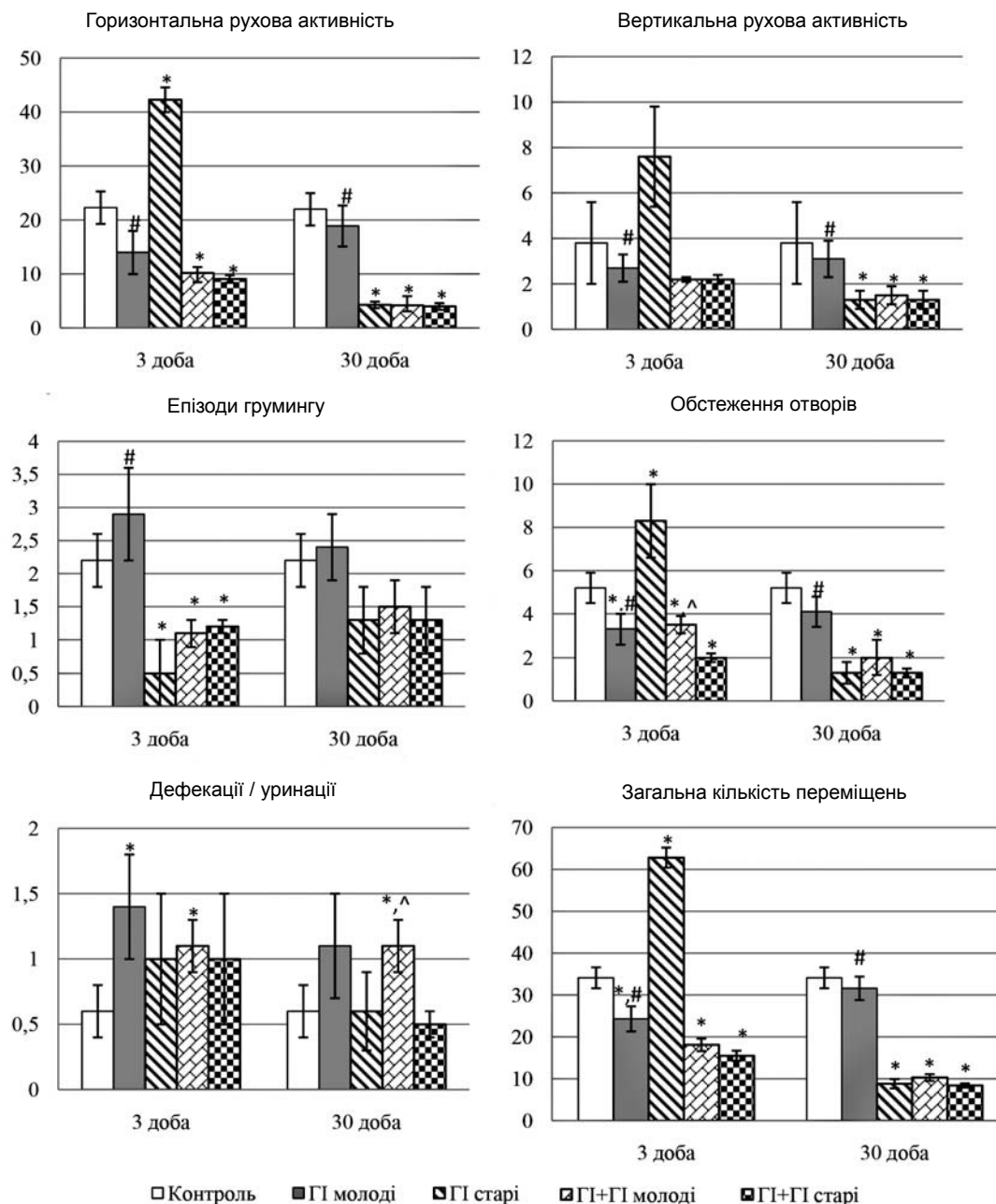


Рис. 2. Поведінкові реакції щурів у «відкритому полі» через 3 і 30 днів після інсульту.

Примітки: * – вірогідно до контролю ($p < 0,05$); # – вірогідно до старих щурів із ГІ ($p < 0,05$); ^ – вірогідно до старих щурів із ГІ+ГІ ($p < 0,05$).

при повторному інсульті у старому віці.

Висновки

Запропонована модель повторного геморагічного інсульту шляхом деструкції внутрішньої капсули мозку щурів та введення аутокрові завершується формуванням локальної інтрацеребральної гематоми, що призводить до розвитку стійкого неврологічного дефіциту з домінуванням вогнищевої та загальномозкової симптоматики і помірним спонтанним відновленням. Модель інсульту є стандартизованою, легко відтворюваною і можливе її використання для дослідження структури, динаміки розвитку патолофізіологічних порушень нервової діяльності, відновних процесів при ішемічному, травматичному ураженні і способів їх стимуляції.

Патофізіологічні порушення на моделі, що запропонована, визначаються локалізацією крововиливу і віком дослідних щурів: у структурі неврологічного дефіциту переважає односторонній дефіцит, а в геронтологічному аспекті – динаміка двостороннього стійкого дефіциту із низьким спонтанним відновленням.

Регрес симптоматики неврологічного дефіциту і часткове відновлення порушених функцій, які спостерігають після гострого періоду інсульту, не досягають повного відновлення, а в геронтологічному аспекті посилюються у віддалений період після повторного крововиливу.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробці способів корекції змін з боку ЦНС у хворих із первинним та повторним ГІ.

Список літератури

1. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Дж.П. Хьюстон ; под ред. проф. А.С. Батуева. – М., 1991. – 400 с.
2. Грінцова О.Є. Вплив глюкозаміну гідрохлориду на виживаність та розвиток неврологічного дефіциту у шурів за умов експериментальної гострої церебральної ішемії / О.Є. Грінцова // Матеріали III Міжнар. наук. конгресу молодих вчених та студентів-медиків. – Тернопіль, 2010. – С. 283.
3. Дубенко О.Є. Причини і наслідки лакунарних інсультів головного мозку / О.Є. Дубенко, Г.Є. Костровська, С.Л. Костровський // Український неврологічний журнал. – 2007. – №1. – С. 7–10.
4. Лазарева Е. Влияние программы физической реабилитации на восстановление функции верхней конечности у больных после оперативного лечения геморрагического инсульта / Е. Лазарева, М. Куфтан, И. Жарова // Спортивный вестник Придніпров'я. – 2011. – №3. – С. 110–112.
5. Кулагин Д.А. Исследование эмоциональности у крыс линии Вистар и Крушинского-Молодкиной методом «открытого поля» / Д.А. Кулагин, В.Н. Федоров // Генетика поведения. – Ленинград : Наука, 1969. – С. 35–42.
6. Родина В.И. Новый метод оценки тревожно-фобических состояний у крыс / В.И. Родина, Н.А. Крупина, Г.Н. Крыжановский, Н.Б. Окнина // Высшая нервная деятельность. – 1993. – №43(5). – С. 1006–1017.
7. Сучасні проблеми біоетики / під ред. Ю.І. Кундієв. – К. : Академперіодика, 2009. – 278 с.
8. Badjatia N. Intracerebral hemorrhage / N. Badjatia, J. Rosand // *Neurologist*. – 2005. – №11(6). – P. 311–324.
9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of European. – Strasbourg, 1986. – №123. – 51 p.
10. Subarachnoid hemorrhage and intracerebral hematoma: incidence, prognostic factors, and outcome / E. Guresir, J. Beck, H. Vatter, M. Setzer, et al. // *Neurosurgery*. – 2008. – Vol. 63(6). – P. 1088–1093.
2. Hrintsova, O. Ye. (2010) Vplyv hliukozaminu hidrokhlorydu na vyzyhvanist ta rozvytok nevrolohichnoho defitsytu u shchuriv za umov eksperymentalnoi hostroi tserebralnoi ishemii [Effect of glucosamine hydrochloride on survival and development of neurological deficit in rats in experimental acute cerebral ischemia]. *Proceedings of the 3rd International Scientific Congress of Young Scientists and medical students*, (p. 283). Ternopil. [in Ukrainian].
3. Dubenko, O. Ye., Kostrovskaya, G. Ye., & Kostrovskiy, S. L. (2007) Prychyny i naslidky lakunarnykh insultiv holovnoho mozku [Causes and consequences of lacunar stroke brain]. *Ukrainskyi nevrolohichnyi zhurnal*, 1, 7–10. [in Ukrainian].
4. Lazareva, E., Kuftan, M., & Zharova I. (2011) Vliyanie programy fizicheskoy rehabilitatsii na vosstanovlenie funktsii verkhnej konechnosti u bol'nykh posle operativnogo lecheniya gemorragicheskogo insul'ta [Effect of physical rehabilitation program to restore the function of the upper limb in patients after surgical treatment of hemorrhagic stroke]. *Sportyvnyi visnyk Prydniprovia*, 3, 110–112. [in Ukrainian].
5. Kulagin, D. A., & Fedorov, V. N. (1969) *Issledovanie e'mocional'nosti u krys linii Vistar i Krushinskogo-Molodkinoj metodom «otkrytogo polya»* [The study of emotion in Wistar and Krushinsky-Molodkina rats by method of «open field»]. *Genetika povedeniya*, (p. 35–42). Leningrad: Nauka [in Russian].
6. Rodina, V. I., Krupina, N.A., Kryzhanovskij, G. N., & Oknina, N. B. (1993) Novyj metod ocenki trevozno-fobicheskikh sostoyanij u krys [New method for assessing anxiety-phobic states in rats]. *Vysshaya nervnaya deyatel'nost'*, 43(5), 1006–1017. [in Russian].
7. Kundiiev, Yu. I. (Ed). (2009) *Suchasni problemy bioetyky* [Modern Problems of Bioethics]. Kyiv: Akadempriodyka. [in Ukrainian].
8. Badjatia, N., & Rosand, J. (2005) Intracerebral hemorrhage. *Neurologist*, 11(6), 311–324.
9. (1986) European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. *Council of European*. – Strasbourg, 123, 51.
10. Guresir, E., Beck, J., Vatter, H., Setzer, M., Gerlach, R., Seifert, V., & Raabe, A. (2008) Subarachnoid hemorrhage and intracerebral hematoma: incidence, prognostic factors, and outcome. *Neurosurgery*, 63(6), 1088–1093. doi: 10.1227/01.NEU.0000335170.76722.B9.

References

1. Buresh, Ya., Bureshova, O., & H'yuston, Dzh. P. (1991) *Metodiki i osnovnye e'ksperimenty po izucheniyu mozga i povedeniya* [Techniques and basic experiments to study the brain and behavior]. A. S. Batuev (Ed). Moscow. [in Russian].

Відомості про автора:

Бібікова В.М., викладач каф. патологічної фізіології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,
E-mail: fflowerrr@ukr.net.

Надійшла в редакцію 30.10. 2014 р.