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 подальший прогноз для одужання. З метою порівняння поведінково-емоційної 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. Бибикова

Мозговой инсульт сопровождается развитием неврологического дефицита, что ухудшает течение заболевания и прогноз для выздоровления. С целью сравнения поведенчески-эмоциональной реакции и физической работоспособности в условиях моделирования геморрагического инсульта у 70 крыс-самцов двух возрастных групп изучена степень неврологического дефицита методом «открытого поля». Геморрагический інсульт (первичный и повторный) моделировали стереотаксических 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 дефіцит, крысы.

Патология. – 2014. – №3 (32). – С. 46-50

The changes of neurologic functions of rats while modeling hemorrhagic stroke.

V. N. Bibikova

The brain stroke is followed by the development of neurologic deficit, which worsen the current 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 in one month after initial HS. It was defined, that in the structure of neurologic deficit unilateral process prevails, and in the gerontological aspect prevail dynamics of the bilateral process with low spontaneous recoveryprevali.

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

Key words: Cerebral Hemorrhage, Cognition Disorders, NeurologicManifestations, 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 даної проблеми, багатолітній досвід і накопиченні 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 чисельні 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 проведено 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 місяців) | 10 |
| 3 | Первинний ГІ - щури старого віку (14– 16 місяців) | 10 |
| 4 | Повторний ГІ+ГІ - щури молодого віку (3– 3,5 місяців) | 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 (сapsula 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 здригування) і за методом «ВП». Усі експерименти провели на тлі попередньої премедикації (тіопентал натрію, 60 мг/кг, внутрішньоочеревинно) у відповідності нормам біоетики [6,8].

Статистична результати опрацьовували 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% (р<0,05).

**Результати дослідження 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 встановлено у 50% молодих щурів і 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 здригування на подразник: спостерігали поведінкову інертність лише 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 (груминг), 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 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.Груминг щурів є важливою характеристикою поведінки тварин у «ВП». Традиційно щури більшу частину часу приділяють вичісуванню свого тіла, у порівнянні з переміщенням у просторі, що тісно корелює з руховою активністю. Під час дослідження встановили порушення функції при повторному інсульті незалежно від віку, а при первинному – у старих щурів.

Діурез, дефекація. Як показники емоційного статусу щурів велике значення має кількість уринацій і дефекацій. Зростання емоційного статусу встановили тільки у щурів молодої вікової групи, 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, який 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 впродовж усього дослідження і зниження у віддалений період при первинному інсульті.

Отже, результати проведених досліджень показали, що в щурів із ГІ (інтрацеребральною посттравматичною гематомою) спостерігали виражений неврологічний дефіцит і порушення координації рухів. Тривожність, поріг больової чутливості, агресивність, судомні реакції і епізоди грумингу є проявом вираженого дефіциту неврологічних функцій, що загострюються у віддалений період після інсульту і не мають суттєвої різниці між віковими групами щурів. Регрес патологічної симптоматики і часткове відновлення порушених фізіологічних функцій, що порушені, спостерігається лише з 14 доби і не досягає повного відновлення, особливо при повторному інсульті у старому віці.

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

**Рис. 2.** Поведінкові реакції щурів у “відкритому полі” через 3 і 30 діб 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).

 **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 патофізіологічних порушень нервової діяльності, відновних процесів при ішемічному, травматичному ураженні і способів їх стимуляції.

 Патофізіологічні порушення на моделі, що запропонована, визначаються за 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 загострюється у віддалений період після повторного крововиливу.

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

**Список літератури**

1. Буреш Я. Методики и основне 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 щурів 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 // Спортивний вісник 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). ― Р. 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 р.

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). ― Р. 1088—1093.

**Referens**

1. Buresh Ya., Bureshova O., & H’yuston, Dzh. P. (1991) Metodiki i osnovnye e’ksperimenty po izucheniju mozga i povedenija [Techniques and basic experiments to study the brain and behavior]. A. S. Batuev (Ed). Moscow. [In Rossian].

2. Hrincova O. Ye. (2010) Vplyv hluikozaminu hidrokhloridu na vyzhyvanist 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., Kostrovska, G. Ye., & Kostrovskyj, S. L. (2007) Prychyny i naslidky lakunarnykh insultiv holovnogo 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 programmy fizicheskoj reabilitacii na vosstanovlenie funkcii 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]. *Sportivnyi visnyk Pridniprovia, 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"]. Genetica povedeniya, (p. 35-42). Leningrad: Nauka [In Rossian].

6. Rodina V.I., Krupina N.A., Kryzhanovskij G.N., & Oknina N.B. (1993) Novyj metod ocenki trevozhno-fobicheskikh sostoyanij u krys [New method for assessing anxiety-phobic states in rats] Vysshaya nervnaya deyatel'nost', 43 (5), 1006–1017. [In Rossian].

7. Kundijev, Yu.I. (Ed). (2009) *Suchasni problemy bioetyky* [Modern Problems of Bioethics]. Kyiv: Akademperiodyka. [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.

Відомості про автора

Бібікова В. М., викладач каф. патологічної фізіології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

E-mail: ffflowerrr@ukr.net

Надійшла в редакцію 30.10.2014р.