

УДК 616.831-005.1-073.756.8

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ У КРЫС С ИНДУЦИРОВАННЫМ ОСТРЫМ НАРУШЕНИЕМ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ МЕТОДОМ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ

И.Г. Агафонова<sup>1</sup>, Н.Г. Колосова<sup>2</sup>, В.А. Рассказов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН (690022 г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 159),

<sup>2</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН (690030 г. Новосибирск, пр-т Академика Лаврентьева, 10)

*Ключевые слова:* мозг, ишемия, магнитно-резонансная томография.

Целью данной работы явилась постановка метода для исследования изменений мозгового кровенаполнения у крыс на фоне ишемии, индуцированной левосторонней перевязкой сонной артерии. В эксперимент были взяты две линии крыс, для одной из которых (OXYS) характерно преждевременное старение, связанное с генетически обусловленным дефектом метаболизма. У животных линии OXYS реакция на острое нарушение мозгового кровообращения проявилась в более тяжелой форме. Показано, что магнитно-резонансная ангиография может успешно использоваться для поиска и изучения эффектов новых противоишемических препаратов.

Одной из ведущих причин летальности и главной причиной инвалидизации населения является церебральный инсульт – одно из наиболее частых сосудистых заболеваний головного мозга. Сосудистые заболевания мозга занимают второе место в мире в структуре смертности от болезней системы кровообращения (39 %) и в общей смертности населения (23,4 %) [2]. Ежегодная смертность от инсультов в России – одна из наиболее высоких в мире. Показатели заболеваемости и смертности от инсульта среди лиц трудоспособного возраста в нашей стране увеличились за последние 10 лет более чем на 30%.

По данным некоторых авторов, не менее 50% пациентов, перенесших инсульт, остаются нетрудоспособными вследствие сенсорного, моторного или когнитивного дефицита [9]. Высокий уровень постинсультной инвалидизации имеет место практически при любых формах расстройств церебрального кровотока. Особенно драматическая ситуация возникает при стойком постинсультном очаговом неврологическом дефиците у больных молодого возраста. Высокий процент летальности и инвалидизации при цереброваскулярных заболеваниях обусловил понимание того, что инсульт, как и хроническую ишемию головного мозга, легче предупредить, чем лечить. Поэтому в настоящее время большое внимание уделяется вопросам профилактики этой группы нозологий.

Установлено, что тромбообразование – причина не только острых состояний, но и прогрессирования хронической ишемии. Об этом свидетельствует факт обнаружения фибрина и скопления тромбоцитов в атеросклеротических бляшках, а также микроэмболизация микроциркуляторного русла фрагментами разрушающейся «тромбоцитарной пробки», что может

привести к развитию сердечной недостаточности и сосудистой деменции [4–6]. В связи с этим применение препаратов, ингибирующих функцию тромбоцитов и каскад коагуляции, теоретически обосновано для профилактики и лечения всех проявлений атеротромбоза. В то же время эффективность непрерывной антиагрегантной терапии на сегодняшний день доказана лишь при вторичной профилактике ишемического инсульта и асимптомных каротидных стенозах и должна осуществляться с учетом факторов риска и особенностей гемостаза у конкретного пациента, а также анализа данных об эффективности, безопасности и переносимости выбранного антиагрегантного препарата [5–8]. С целью дальнейшего поиска новых лекарств, обладающих противоишемическим действием, мы попытались использовать метод магнитно-резонансной ангиографии высокого разрешения для определения изменений мозгового кровенаполнения сосудов мозга крыс на фоне индуцированного нарушения мозгового кровообращения.

**Материал и методы.** В исследование были включены 36 крыс-самцов линии Wistar и 36 крыс-самцов линии OXYS, в возрасте 6 месяцев и массой 200 г. Для второй группы крыс характерно преждевременное старение, связанное с генетически обусловленным дефектом метаболизма, выражающимся в повышенной чувствительности к окислительному стрессу [1, 3]. Животные, размещенные по 2 особи в клетке, находились в стандартных условиях вивария при естественном световом режиме и свободном доступе к воде и пище. Индукцию острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) у экспериментальных животных вызывали окклюзией левой сонной артерии: путем оперативного вмешательства на сосуд накладывалась постоянная лигатура.

Магнитно-резонансная томография была выполнена на томографе для экспериментальных исследований PharmaScan US 70/16 (Bruker, Germany) с напряженностью магнитного поля 7 Тл, частотой 300 МГц и катушкой типа BGA 09P. Перед сканированием животных усыпляли и обездвигивали внутривенной инъекцией раствора рометара в концентрации 5,5 мг/кг и раствора реланиума в концентрации 37 мг/кг. Первое сканирование проводили до операции, второе – сразу после операции и затем каждые последующие сутки, чтобы следить за проявлением признаков нарушения кровоснабжения и отека в головного мозга.

С помощью данной методики определяли изменения анатомо-топографического строения церебрального русла кровеносной системы. Послойные срезы во фронтальной, сагиттальной и аксиальной плоскостях с получением  $T_2$ -томограмм и томограмм, взвешенных по протонной плотности, проводили с применением импульсной последовательности RARE\_8 и MSME соответственно. Изображения были получены в последовательности со следующими параметрами: матрица  $256 \times 256$ , толщина среза 1 мм, площадь обзора  $4 \times 4$  см,  $T_2$ -взвешенные изображения: TR/TE – 2579,8/44,5 мс и средневзвешенные изображения: TR/TE – 1500,8/20,0 мс.

Окципитальная трехмерная реконструкция сосудистого бассейна выполнялась с помощью программы 3D-TOF из лицензионного программного обеспечения ParaVision 3.0.1 (Bruker, Germany). Далее выполняли MIP-реконструкцию сосудов животных.

Для количественного определения степени изменения сосудов церебрального бассейна в течение эксперимента измеряли диаметр артерии с использованием двух точек, устанавливаемых магнитно-резонансным курсором: первая – на границе адвентиция/медия латеральной стенки артерии, вторая – на границе медиа/адвентиция медиальной стенки. Величину вазомоторной реакции оценивали в процентном соотношении изменения диаметра артерии и интеграла интенсивности сигнала в течение эксперимента. Также по интегралу интенсивности сигнала в течение эксперимента оценивали кровообращение в мелких сосудах.

Для определения устойчивости к эмоциональному стрессу все животные за 14 дней до операции были протестированы и на основании полученных результатов разделены на три группы: 1 – устойчивые, 2 – предрасположенные к стрессу, 3 – с промежуточной реакцией. Разделение осуществляли по поведению животных в тесте открытого поля [7].

Оценку неврологических нарушений проводили по шкале Menzes. Она включает следующие градации: отсутствие симптомов – 0 баллов; тоническая флексия передней противоположной лапы при подъеме за хвост – 1 балл; меньшее сопротивление пассивному движению, оказываемое противоположной передней лапой при потягивании за хвост – 2 балла; движение в противоположную очагу поражения сторону при удержании за хвост – 3 балла; спонтанное вращение крысы на горизонтальной поверхности в противоположную сторону – 4 балла. Оценку неврологических симптомов по шкале Menzes проводили за сутки до операции и после операции через 6, 12, 24, 48 и 72 часа и затем на 7, 14, 21 и 28-е сутки. Оценку нарушения поведенческой реакции экспериментальных животных проводили с помощью определения времени задержки выхода животного в центр исследуемого пространства при помещении в светлую камеру. Поведенческую оценку начинали выполнять через 24 часа после моделирования кровоизлияния.

Оценка неврологических нарушений и поведения в светлой камере проводилась сравнением с помощью t-теста для парных случаев и анализа переменной (ANOVA). Динамику объема гематомы и перифокального отека рассчитывали с использованием ROI – программного обеспечения томографа ParaVision 3.0.1. Количественный анализ полученных результатов был выполнен с использованием непараметрических критериев Kruskal–Wallis.

**Результаты исследования.** По мере нарастания симптомов нарушения мозгового кровообращения отмечено усиление когнитивных расстройств. Задержка латентного периода выхода животного в центр исследуемого пространства через 24 часа после операции у крыс линии Wistar составила 4–5 мин, у крыс линии OXYS – 8–12 мин. Через 48 часов после операции время латентного периода начинало уменьшаться: до 2–3 мин у крыс линии Wistar и до 5–8 мин у крыс линии OXYS. К 7-м и 14-м суткам оно существенно сократилось, приблизившись к нормальным значениям. В промежутках животные не тестировались, что исключало фактор тренировки. Через 21 сутки латентный период у всех крыс восстанавливался до нормы.

Через 6 часов после операции животные выглядели адинамичными, более чем у половины из них развивались неврологические нарушения средней тяжести по шкале Menzes, в частности, при удержании за хвост животное двигалось в противоположную очагу сторону (3 балла). В 30 % наблюдений отмечалось меньшее сопротивление пассивному движению (2 балла). Через 12 часов выраженность неврологических нарушений значительно уменьшалась, однако у всех крыс сохранялись неврологические симптомы, преимущественно с тяжестью 2–3 балла. Через 48 часов динамики неврологических нарушений не отмечалось. Через 72 часа неврологические нарушения становились меньше в сравнении с осмотром через 48 часов и в 60 % случаев были представлены нарушениями в пределах 1–2 баллов. Через неделю после операции неврологические симптомы значительно регрессировали. В дальнейшем их выраженность продолжала уменьшаться и симптомы полностью исчезали к 21-м суткам у крыс линии Wistar и 28-м суткам у крыс линии OXYS.

При сканировании животных после операции выявлен целый ряд морфологических признаков острого нарушения мозгового кровообращения, вызванного окклюзией сонной артерии. Это выражалось в визуализации на  $T_2$ -ВИ-изображениях изменений размеров внутренних структур мозга – происходило расширение рогов желудочков, увеличивались ликворные пространства, смещались диэнцефальные структуры.

Магнитно-резонансная ангиография подтвердила наличие обескровленного участка левой сонной артерии (рис., а). Анализ результатов ангиографии средних и передних мозговых артерий показал, что у крыс линии Wistar в окклюзированной зоне в течение недели

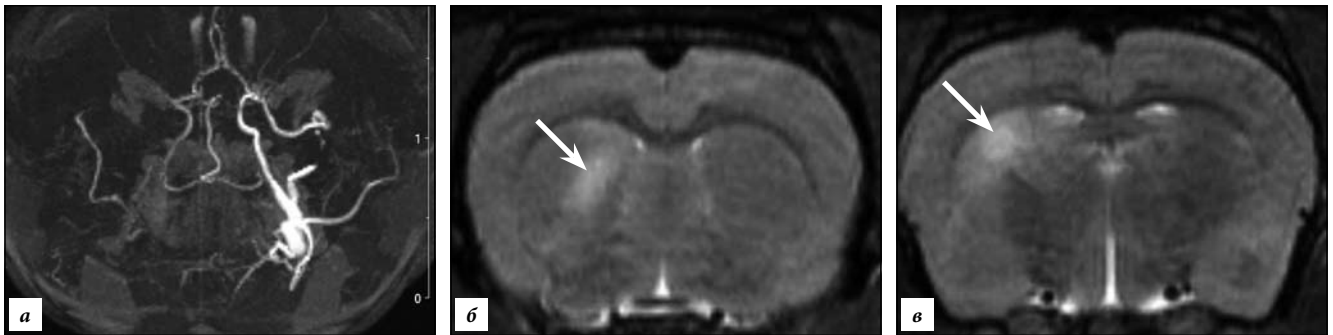


Рис. Магнитно-резонансная томография головного мозга крыс:

а – нарушение мозгового кровообращения в левом полушарии, вызванное механической окклюзией левой сонной артерии; б, в – гиперинтенсивные очаги в области гиппокампа (стрелки).

Таблица

Динамика морфометрических изменений головного мозга крыс на фоне индуцированного ОНМК

Группа	Диаметр церебральных артерий, мм		Общий объем ликвора, мм <sup>3</sup>		Зона ишемии, мм <sup>3</sup>	
	Wistar	OXYS	Wistar	OXYS	Wistar	OXYS
Интактные 3-месячные крысы	0,85±0,10	0,72±0,10 <sup>2</sup>	4,10±0,30	3,60±0,20 <sup>2</sup>	–	–
Интактные годовалые крысы	0,87±0,20	0,63±0,10 <sup>1, 2</sup>	3,70±0,20	3,10±0,30	–	–
Крысы с ОНМК	0,92±0,10 <sup>1</sup>	0,68±0,30 <sup>2</sup>	4,30±0,10	4,70±0,10	1,50±0,20	7,80±1,20

<sup>1</sup> Значимые возрастные отличия.

<sup>2</sup> Значимые межлинейные отличия

происходило наполнение сосудов за счет включившихся коллатералей. Следует отметить, что процесс восстановления кровенаполнения в окклюзированной зоне у крыс линии OXYS протекал медленнее и восстанавливался через две недели. Изменение интенсивности сигнала от ткани у крыс линии Wistar в режиме T<sub>2</sub>-SE (Spin Echo) левого полушария через неделю достоверно не отличалось от интенсивности сигнала ткани правого полушария (табл.). У крыс линии OXYS гиперинтенсивный очаг в области гиппокампа имел объем 7,8±1,2 мм<sup>3</sup> (рис., б, в, табл.).

**Обсуждение полученных данных.** Можно предположить, что у крыс линии Wistar после операции коллатеральный кровоток компенсировал ОНМК. Более того, у крыс этой линии наблюдалась более быстрая по сравнению с животными линии OXYS редукция когнитивных расстройств, что также может быть связано с включением коллатерального кровотока.

У годовалых крыс линии OXYS изменения неврологического статуса и когнитивные расстройства были намного глубже. Морфометрический анализ показал, что появившийся гиперинтенсивный очаг в области гиппокампа подтверждает наличие ишемического повреждения ткани мозга животных. Известно, что необратимые изменения у человека при инфаркте мозга, так называемая «ядерная зона ишемии», формируются уже в первые 6–8 мин после прекращения кровотока. Изменения происходят в той части мозга, где скорость кровотока ниже 15–10 мл/100 г/мин.

Вокруг ядра находится большая по объему область «ишемической полутени», или пенумбры, с кровотоком до 50–20 мл/100 г/мин, которая может

сохранять жизнеспособность в среднем от 3 до 6 часов. Восстановление перфузии в зоне пенумбры в течение этого временного периода – «терапевтического окна» – дает возможность сохранить функцию определенной части мозговой ткани и, соответственно, уменьшить степень развития неврологического дефицита [4].

Таким образом, результаты эксперимента подтверждают, что использованная нами модель индуцированного острого нарушения мозгового кровообращения у старых крыс путем наложения постоянной лигатуры на сонную артерию с последующим наблюдением за состоянием головного мозга и изменением кровенаполнения сосудов мозга с помощью магнитно-резонансной томографии высокого разрешения может успешно использоваться для изучения новых потенциальных лекарств, обладающих противоишемическим действием по отношению к клеткам головного мозга [5, 6].

#### Литература

1. Агафонова И.Г., Колосова Н.Г., Мищенко Н.П. и др. Влияние гистохрома на состояние сосудов головного мозга и поисково-исследовательскую активность преждевременно стареющих крыс OXYS // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2007. Т.143, вып. 4. С. 446–450.
2. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Стаховская Л.В. Проблема инсульта в Российской Федерации: время активных совместных действий // Журнал неврологии и психиатрии. 2007. № 8. С. 5–10.
3. Колосова Н.Г., Щеглова Т.В., Амстиславская Т.Г., Лоскутова Л.В. Сравнительный анализ содержания продуктов перекисного окисления липидов в структурах мозга крыс Вистар и OXYS разного возраста // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2003. Т. 132, № 8. С. 54–61.

4. Патология сонных артерий и проблема ишемического инсульта (клинические, ультразвуковые и гемодинамические аспекты) / под ред. Д.Н. Джибладзе. М.: НИИ неврологии РАМН, 2002. 207 с.
5. Скворцова В.И., Стаховская Л.В., Пряникова Н.А. Цереброваскулярные заболевания. Как правильно выбрать антиагрегант для вторичной профилактики ишемического инсульта // *Consilium Medicum*. 2007. Т. 9, № 2. С. 4–10.
6. Суслина З.А., Танашян М.М. Антиагрегантная терапия при ишемических цереброваскулярных заболеваниях: пособие для практикующих врачей. М.: НИИ неврологии РАМН, 2003. 40 с.
7. Хасанова Д.Р. Тромболитическая терапия ишемического инсульта // *Consilium Medicum*. 2010. № 1. С. 4–9.
8. Хасанова Д.Р., Житкова Ю.В. Применение препарата «Агре-нокс» у пациентов с хронической ишемией головного мозга на фоне стеноокклюзирующего процесса // *Consilium Medicum*. 2009. № 2. С. 14–18.
9. Хеннерици М.Г. Инсульт: клиническое руководство. М.: МЕД-прессИнформ, 2008. 224 с.

Поступила в редакцию 05.04.2011.

#### COMPARATIVE ANALYSIS OF CHANGING CEREBRAL CIRCULATION IN RATS WITH INDUCED ACUTE CEREBROVASCULAR ACCIDENT USING MAGNETIC RESONANCE IMAGING

I.G. Agafonova<sup>1</sup>, N.G. Kolosova<sup>2</sup>, V.A. Rasskazov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pacific Institute of Bioorganic Chemistry of the Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences (159 100 Year Anniversary of Vladivostok Av. Vladivostok 690022 Russia), <sup>2</sup>Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (10 Lavrentyeva Av. Novosibirsk 630090 Russia)

**Summary** – This paper aims to identify method for studying changing cerebral blood filling in rats against the ischemia induced by left-side carotid artery ligation. The experiment comprised 2 lines of rats, one of which (OXYS) was characterized by premature aging caused by genetically conditioned metabolic defect. The magnetic resonance angiography allowed to obtain images of brain arteries. The OXYS line animals responded to the acute cerebral accident in a more severe form. As reported, the magnetic resonance angiography can be successfully applied to search and study effects of new anti-ischemic drugs.

**Key words:** brain, ischemia, magnetic resonance imaging.

Pacific Medical Journal, 2012, No. 1, p. 104–107.

УДК 616.98:578.833.27(5-012)

## КЛЕЩЕВОЙ ЭНЦЕФАЛИТ НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ: АСПЕКТЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ

А.А. Овчинникова<sup>1</sup>, С.Е. Гуляева<sup>1</sup>, С.А. Гуляев<sup>2</sup>, Т.А. Захарычева<sup>3</sup>, Д.В. Новиков<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Владивостокский государственный медицинский университет (690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 2), <sup>2</sup>Институт неврологии РАМН (123367 г. Москва, Волоколамское шоссе, 80), <sup>3</sup>Дальневосточный государственный медицинский университет (680000 г. Хабаровск ул. Муравьева-Амурского, 35), <sup>4</sup>Приморская краевая клиническая больница № 1 (690091 г. Владивосток, Алеутская ул., 57)

**Ключевые слова:** клещевой энцефалит, заболеваемость, летальность.

Представлены сведения о динамике заболеваемости и летальности при клещевом энцефалите в Приморском крае и Дальнем Востоке за весь 75-летний период его изучения, изложены особенности проявлений данной нейроинфекции в каждом десятилетии и определены причины трансформации взаимоотношений в частоте регистрации различных форм.

Природно-очаговые клещевые трансмиссивные инфекции, такие как клещевой энцефалит (КЭ), клещевой боррелиоз, клещевой риккетсиоз и их сочетанные формы, представляют серьезную проблему для здравоохранения на большинстве территорий Российской Федерации. На протяжении последней четверти XX века и в первом десятилетии XXI века заболеваемость этими инфекциями достигла беспрецедентно высоких уровней. Возросший интерес к ним обусловлен не только ростом заболеваемости, но и внедрением в клинику новых диагностических технологий, эффективностью современных средств иммунопрофилактики и необходимостью преодоления недостаточной информированности врачей обо всех аспектах данной патологии [4, 5].

Целью настоящего исследования явилось изучение заболеваемости и летальности при КЭ в Приморском и Хабаровском краях на рубеже XX и XXI веков для совершенствования организационных мероприятий по профилактике и лечению КЭ в этом регионе РФ.

Овчинникова Анна Александровна – д-р мед. наук, профессор, кафедры неврологии и нейрохирургии ВГМУ; тел.: +7 (423) 245-37-93

**Материал и методы.** В основу работы положены данные государственной статистики, Центров клещевого энцефалита Приморского и Хабаровского краев и анализ обследования 3000 больных КЭ, госпитализированных в лечебные учреждения этих регионов за последние десятилетия.

**Результаты исследования и обсуждение полученных данных.** К началу 60-х годов XX века заболеваемость КЭ стала снижаться во всех эндемических регионах страны, одновременно возникли изменения в цикличности ее подъемов. Среди причин этого следует выделить две основных:

1. Под действием предложенных М.П. Чумаковым авиаопылений природных очагов КЭ препаратами ДДТ и широкого применения современных вакцин произошло изменение иммунных свойств не только самих вирусов, но и их прокормителей, и людей;

2. Изменение системы регистрации КЭ в условиях экологической перестройки препятствовало согласованности специалистов в постановке диагноза «клещевой энцефалит».

Последнее было обусловлено инициативой М.П. Чумакова, предложившего внедрить во все эндемические регионы новую двухэтапную систему диагностики КЭ: на I-м этапе число заболевших определялось непосредственно лечебным учреждением, на II-м – каждый случай КЭ подтверждался комиссией с участием эпидемиолога,