



АПРОБАЦИЯ МОДЕЛИ И ОЦЕНКА ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ ДОЗИРОВАННОЙ ОСТРОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

Саидов С.С., Барсков И.В., Тактаров В.Г., Саидов А.С., Бренева О.А.,
Прибыльнова И.А., Чернышева Е.Ф., Шарашова Н.С.

Московский медицинский университет РЕАВИЗ, Москва, Россия, e-mail: ssaidov@yandex.ru

Для цитирования:

Саидов С.С., Барсков И.В., Тактаров В.Г., Саидов А.С., Бренева О.А., Прибыльнова И.А., Чернышева Е.Ф., Шарашова Н.С. Апробация модели и оценка патоморфологической картины, дозированной острой черепно-мозговой травмы. *Морфологические ведомости*. 2022;30(2):709. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2022.30\(2\).709](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2022.30(2).709)

Резюме. В последние годы значительно возросла частота черепно-мозговых травм, тесно связанных с ростом числа высокоскоростных транспортных средств и другими сопряженными факторами. Проблема диагностики и эффективного лечения открытых черепно-мозговых травм является одной из важнейших для врачей скорой помощи, врачей отделения неотложной помощи и нейрохирургов при оказании своевременной квалифицированной помощи, а также представляет интерес для изучения патологических процессов, предотвращающих развитие их осложнений. Цель исследования - создание модели, дозированной открытой черепно-мозговой травмы с использованием экспериментальных животных и оценка зависимости анатомо-функциональных нарушений от степени повреждения головного мозга. Лабораторным белым крысам травматическое воздействие осуществляли через трепанационное окно диаметром 3,5 мм при сохранении твердой мозговой оболочки. Головной мозг всех животных исследовали с помощью магнитно-резонансного томографа BioSpec 70/30 USR на 9-е сутки после травмы и нейрогистологическими методами. Морфометрическое измерение объема повреждения на 9-е сутки после воздействия показало зависимость увеличения показателей повреждения структур головного мозга от силы удара. Гистологические исследования также подтвердили прямую зависимость объема поражения головного мозга от величины повреждающего фактора. Моделирование острой черепно-мозговой травмы позволило также выявить корреляцию между летальностью животных и величиной повреждающего фактора. При более длительных сроках наблюдения модель позволяет оценить терапевтический эффект фармакологических препаратов и выбрать наиболее эффективный метод лечения. Отмечен феномен наличия экзфокальных очагов с ишемически поврежденными нейронами в контралатеральном (интактном) полушарии выявляемых нейрогистологическими методами. Формирование таких ишемических очагов поражения объясняется развитием посттравматического отека ткани головного мозга, который приводит к смещению подкорковых структур и сдавлению краевых сосудов. Результаты исследования доказывают прямую зависимость патоморфологической картины, наблюдаемой в головном мозге при острой черепно-мозговой травме от степени воздействия повреждающего фактора.

Ключевые слова: открытая черепно-мозговая травма; лабораторная модель; головной мозг; магнитно-резонансная томография; нейрогистология

Статья поступила в редакцию 10 декабря 2021

Статья принята к публикации 25 января 2022

APPROBATION OF THE MODEL AND ASSESSMENT OF THE PATHOLOGICAL PICTURE OF DOSED ACUTE TRAUMATIC BRAIN INJURY

Saidov SS, Barskov IV, Taktarov VG, Saidov AS, Breneva OA,
Pribyl'nova IA, Chernysheva EF, Sharashova NS

Moscow Medical University REAVIZ, Moscow, Russia, e-mail: ssaidov@yandex.ru

For the citation:

Saidov SS, Barskov IV, Taktarov VG, Saidov AS, Breneva OA, Pribyl'nova IA, Chernysheva EF, Sharashova NS. Approbation of the model and assessment of the pathological picture of dosed acute traumatic brain injury. *Morphologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter*. 2022;30(2):709. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2022.30\(2\).709](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2022.30(2).709)

Summary. In recent years, the incidence of traumatic brain injury has increased significantly, closely related to the increase in the number of high-speed vehicles and other associated factors. The problem of diagnosis and effective treatment of open craniocerebral injuries is one of the most important for emergency physicians and neurosurgeons in providing timely qualified assistance, and is also of interest for studying pathological processes that prevent the development of their complications. The purpose of the study was to create a model of dosed open craniocerebral injury using experimental animals and to assess the dependence of anatomical and functional disorders on the degree of brain damage. In laboratory white rats, the traumatic impact was carried out through a trepanation window with a diameter of 3.5 mm, while maintaining the dura mater. The brain of all animals was examined using a BioSpec 70/30 USR magnetic resonance tomograph on the 9th day after injury and by neurohistological methods. Morphometric measurement of the amount of damage on the 9th day after exposure showed the dependence of the increase in damage to brain structures on the force of impact. Histological studies also confirmed the direct dependence of the volume of brain damage on the magnitude of the damaging factor. Modeling of acute craniocerebral injury also revealed a correlation between the lethality of animals and the magnitude of the damaging factor. With longer follow-up periods, the model makes it possible to evaluate the therapeutic effect of pharmacological drugs and choose the most effective method of treatment. The phenomenon of the presence of exofocal foci with ischemic damaged neurons in the contralateral (intact) hemisphere detected by neurohistological methods was noted. The formation of such ischemic lesions is explained by the development of post-traumatic edema of the brain tissue, which leads to displacement of the subcortical structures and compression of the marginal blood vessels. The results of the study prove the direct dependence of the morphological picture observed in the brain in acute traumatic brain injury on the degree of exposure to the damaging factor.

Key words: open traumatic brain injury; laboratory model; brain; magnetic resonance imaging; neurohistology

Article received 10 December 2021

Article accepted 25 January 2022

Введение. Черепно-мозговые травмы (далее – ЧМТ) приводят к тяжелой инвалидности и значительному ухудшению качества жизни. Степень этих нарушений определяется типом травматического воздействия на мозг и может привести к временному или постоянному ухудшению когнитивного, физического и психоэмоционального состояния. ЧМТ возникает от воздействия внешней силы и включает кровоизлияния, повреждение кровеносных сосудов (кровоотечение), дегенерацию нервных клеток и их аксонов. Вторичное повреждение происходит через несколько минут и даже месяцев после первичного повреждения в результате каскадов метаболических и событий биомолекулярного уровня, которые в конечном итоге приводят как к моторным, так и когнитивным нарушениям, что определяет актуальность экспериментального изучения зависимости степени морфофункциональных нарушений от объема повреждения сенсомоторной коры головного мозга на лабораторных моделях [1-4].

Цель исследования - создание экспериментальной модели дозированной открытой черепно-мозговой травмы для определения зависимости анатомо-функциональных нарушений от степени повреждения сенсомоторной коры головного мозга.

Материалы и методы исследования. Односторонняя открытая ЧМТ была создана с использованием модели шока (рис. 1), которая реализуется падением груза весом 50 грамм с высоты 10, 15 и 20 см на ткань мозга крысы со вскрытым черепом, вызывая локализованное поверхностное повреждение головного мозга различной степени тяжести. Травматическое воздействие осуществляли через трепанационное окно диаметром 3,5 мм при сохранении твердой мозговой оболочки. Голову животного под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг внутрибрюшинно) фиксировали в стереотаксическом приборе, координаты места повреждения определяли по атласу [5].

Головной мозг всех экспериментальных животных исследовали с помощью магнитно-резонансной томографии (далее – МРТ) на 9-е сутки после травмы.

Сканирование головного мозга производили на магнитно-резонансном томографе BioSpec 70/30 USR. Морфометрический анализ изображений проводили в программе ImageJ 1.38x. Объем поражения мозга рассчитывали по формуле: $V = d \times \sum A_i$, где d – толщина томографических срезов с межслойным расстоянием, $\sum A_i$ – сумма площадей повреждения на всех срезах. Для нейрогистологических исследований мозг подопытных животных перфузировали транскардиально смесью формалин-спирт-уксусная кислота. Гистологический материал обрабатывали с использованием обычных методов [6]. Парафиновые срезы окрашивали крезоловым фиолетовым по методу Ниссля. Для исследования экзофокальных очагов ишемического поражения в контралатеральном полушарии использовали специфическую окраску срезов гематоксилином, ванадиевой кислотой и фуксином с докраской толуидином [7]. Для оценки статистической значимости различий в поведенческих тестах использовали U-критерий Манна-Уитни и Вилкоксона. Для оценки статистических различий объемов повреждения использовали t-критерий Стьюдента.

Результаты исследования и обсуждение. Результаты исследования показали, что открытая односторонняя травма сенсомоторной коры головного мозга крысы приводила к стойким двигательным нарушениям в основном в симметричных конечностях (рис. 2). Морфометрическое измерение объема повреждения на МРТ-изображениях на 9-е сутки после ЧМТ показало зависимость увеличения показателей повреждения структур головного мозга от силы удара (рис. 3).

На МРТ отмечается сжатие и смещение подкорковых структур. Степень поражения мозговой ткани контролировали с помощью МРТ, степень поражения нейронов и сосудов головного мозга в очаге поражения (рис. 4) и отраженных очагах контралатерального полушария оценивали гистологически (рис. 10).

Гистологические исследования подтвердили прямую зависимость объема поражения головного мозга от величины повреждающего фактора.

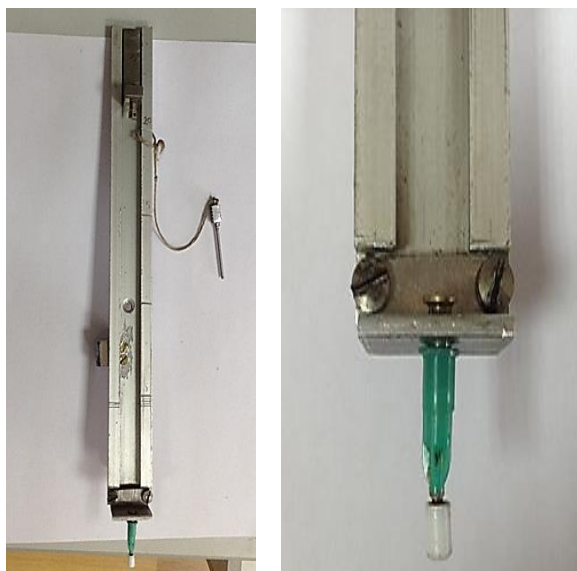


Рис. 1. Металлическая планка с грузом и тефлоновым ударным наконечником для воспроизведения модели ЧМТ через трепанационное отверстие.



Рис. 2. Правовращение крысы после ЧМТ в левом полушарии в результате ослабления двигательной активности правых конечностей.

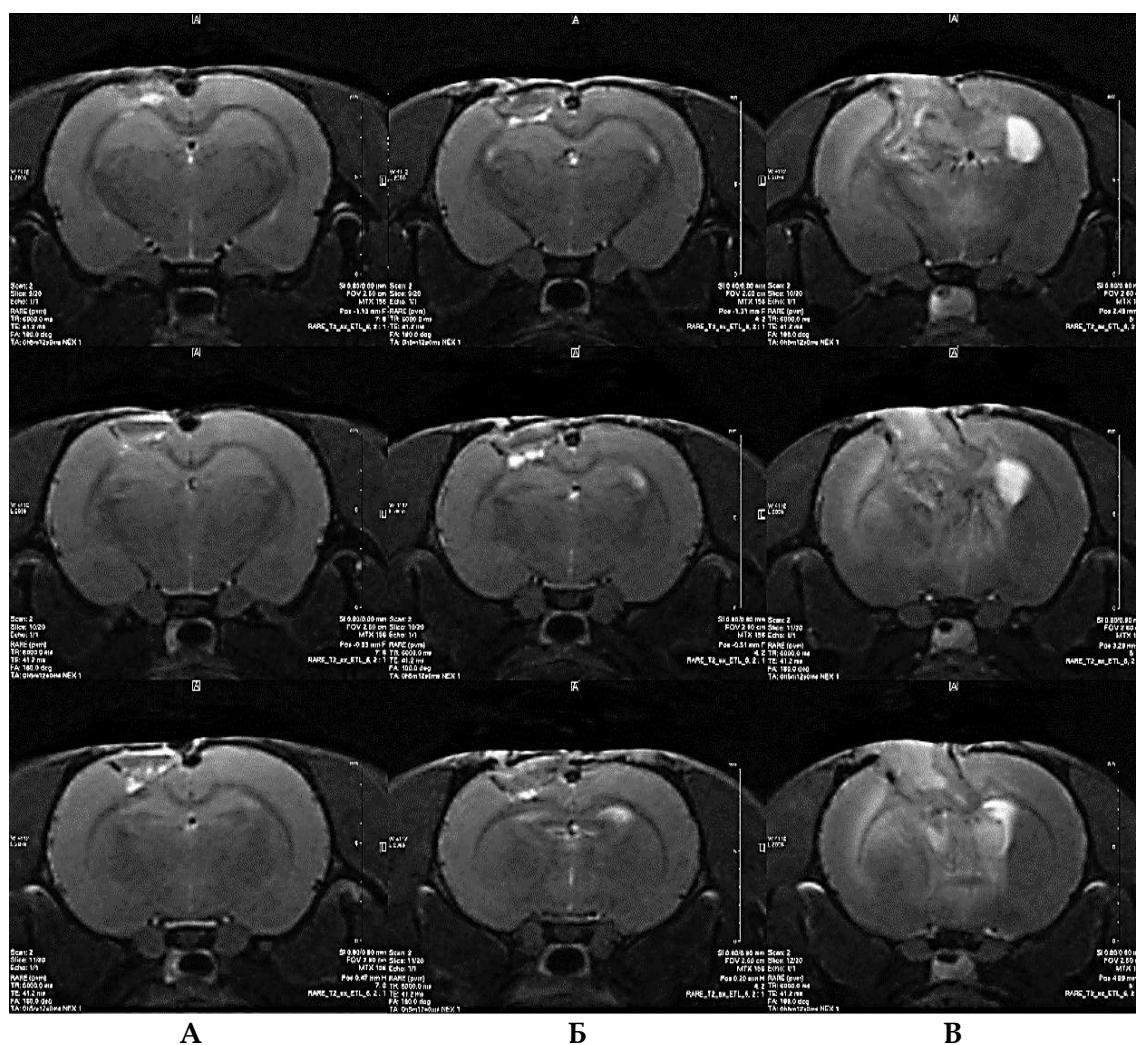


Рис. 3. Магнитно-резонансные изображения срезов головного мозга животных на 9-е сутки после ЧМТ, вызванной падением груза 50 г. Обозначения: А – с высоты падения 10 см, Б – с высоты падения 15 см, В – с высоты падения 20 см.

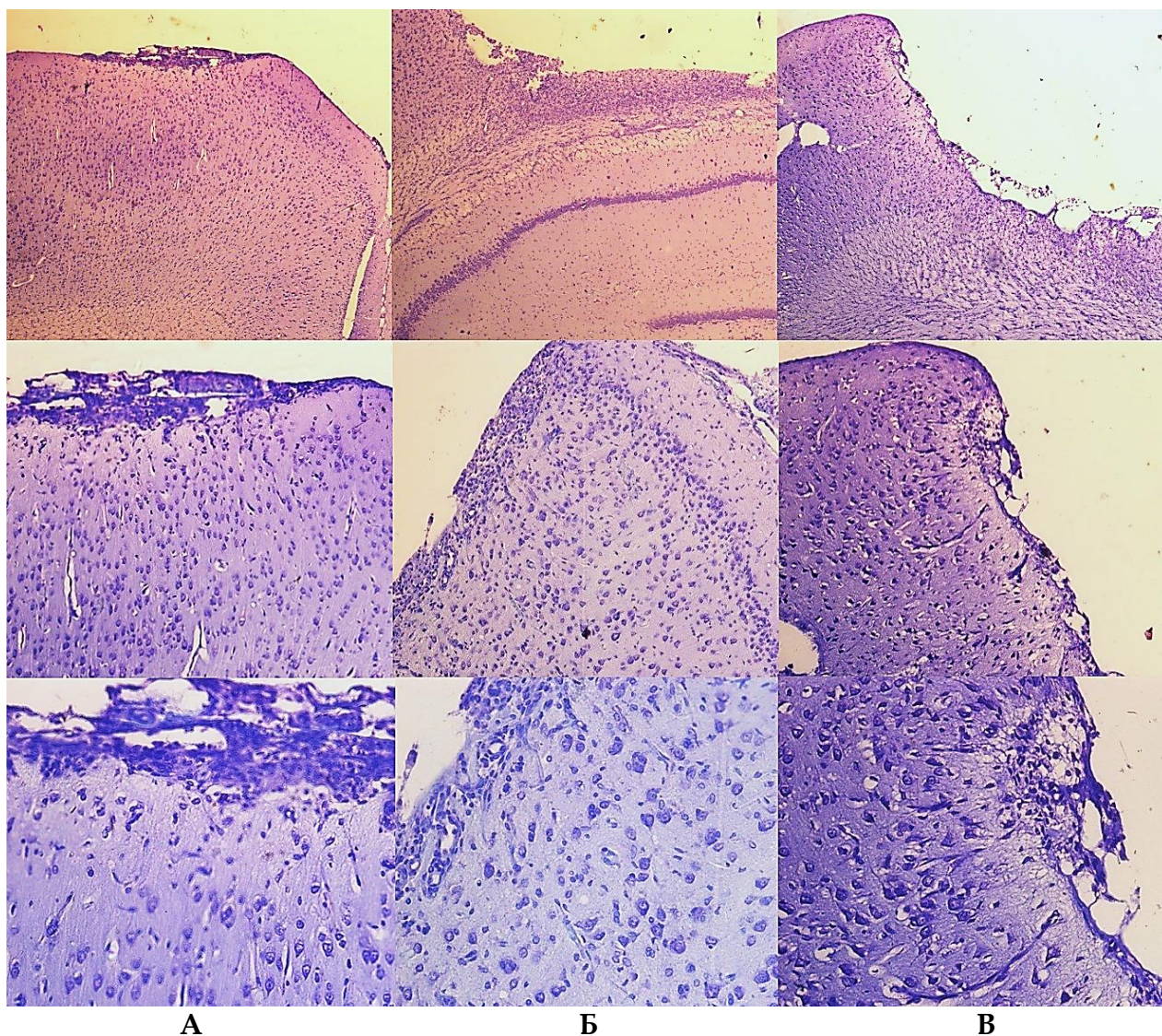


Рис. 4. Микрофото патоморфологической картины коры головного мозга экспериментальных животных на 9-е сутки. Обозначения: см. обозначения к рис. 3. Окр.: по Нислю. Ув.: верхний ряд микрофото – x200, средний – x400, нижний – x600.

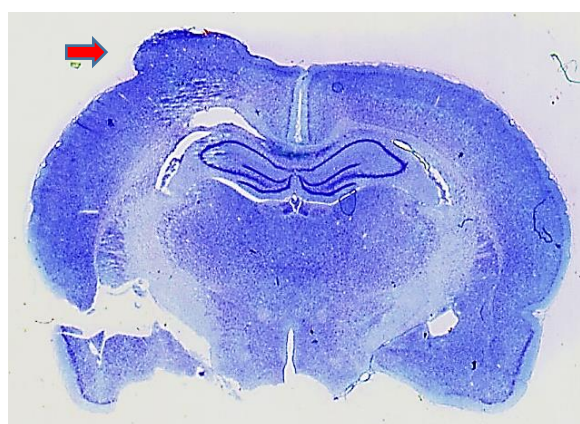


Рис. 5. Гистологический срез головного мозга крысы через сутки после травматизации. Тотальный препарат. Окр.: по Нислю. Ув.: x20.



Рис. 6. Гистологический срез головного мозга крысы на 4 сутки после травматизации. Тотальный препарат. Окр.: по Нислю. Ув.: x20.

В результате исследования выявлена достоверная зависимость изменения неврологических показателей от объема повреждения ткани головного мозга в травмированном полушарии подопытного животного. В первые часы после ЧМТ в коре головного мозга наблюдалось очаговое поражение коры головного мозга с нарастанием отека головного мозга (рис. 5). На гистологических срезах головного мозга, взятых у животных контрольной группы на 4-е сутки после ЧМТ и окрашенных по Нисслию, в очаге поражения обнаружена зона тотального некроза, содержащая необратимо поврежденные нейроны и зона так называемой «полутени» (рис. 8-9), в которой обнаружены нейроны с признаками повреждения (перичеселлюлярный отек, гиперхромия, сморщивание тел нейронов, гомогенизация цитоплазмы, исчезновение скоплений хроматина, изменение конфигурации ядра). Это этап посттравматического периода. Следует отметить, что наличие вторичного кровотечения из краевых сосудов было обнаружено у нескольких животных в зоне некроза на 4-е сутки (рис. 6). Это связано с нарушением целостности сосудов из-за отека и ишемии ткани мозга, вызванной ЧМТ. В более поздний период, на 9-й день, гистологические срезы, окрашенные по Нисслию (рис. 7) показали дальнейшее формирование паннекроза с последующим формированием глиомезодермального рубца на месте зоны первичного некроза, состоящего в основном из аргирофильных и глиальных волокон. В некоторых случаях в глиомезодермальном рубце отмечалось наличие коллагеновых волокон.

Моделирование острой ЧМТ позволило выявить корреляцию между летальностью животных и величиной повреждающего фактора. Важно, чтобы при моделировании травмы с помощью поведенческих тестов выявлялись четкие количественные характеристики объемов повреждения мозговой ткани методом МРТ и неврологических нарушений. При более длительных сроках наблюдения появляется возможность оценить терапевтический эффект фармакологических препаратов

для выбора наиболее эффективного метода лечения.

На фоне гомогенизированного очага некроза в зоне, граничащей с ним (рис. 9), наблюдаются клетки с ишемическими изменениями (гиперхроматозом) и выраженными деструктивными изменениями, у которых, помимо отека, наблюдается набухание, кариоцитоллиз, присутствуют тени клеток. В очаге с травматическим повреждением коры височно-теменной области при морфологическом исследовании структур, окрашенных специфическими красителями, выявляющими ишемическую патологию (рис. 10), было выявлено появление экзофокальных очагов с ишемически поврежденными нейронами на основании контрлатерального (неповрежденного) полушария. Формирование таких ишемических очагов поражения объясняется развитием посттравматического отека мозговой ткани, что приводит к смещению подкорковых структур и сдавлению краевых сосудов.

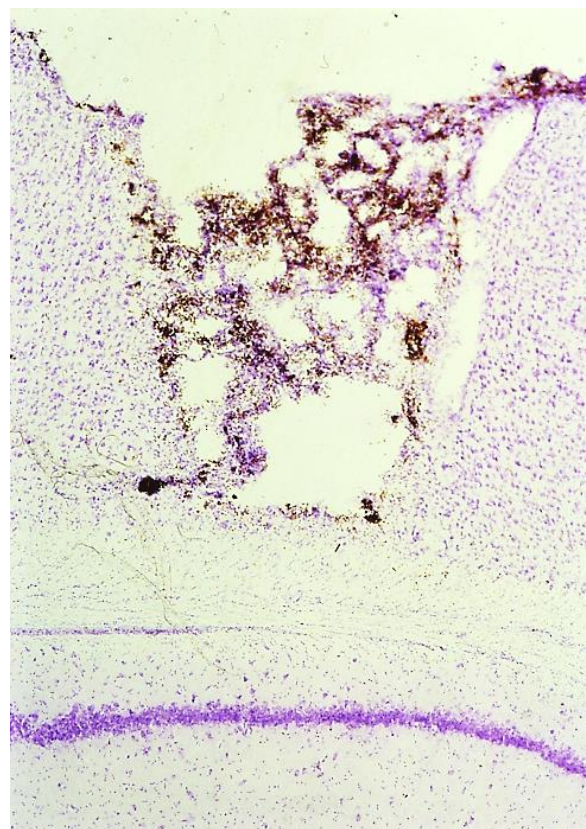


Рис. 7. Микрофото гистологического препарата коры головного мозга крысы на 9-е сутки после ЧМТ. Окр.: по Нисслию. Ув.: x100.

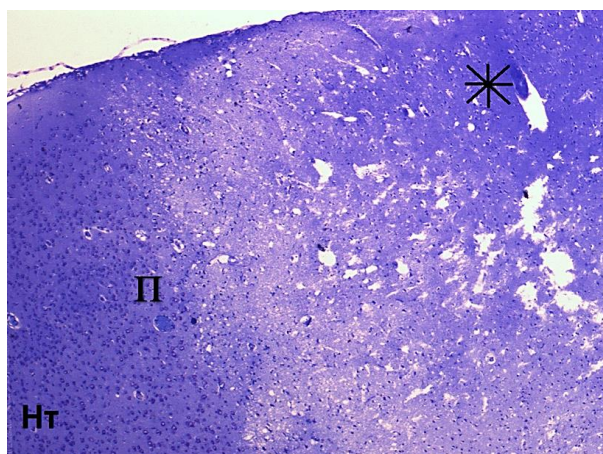


Рис. 8. Микрофото препарата пограничной зоны коры головного мозга крысы между очагом некроза (звездочка) и нормальной тканью (Нт). Окр.: по Нисслю. Ув.: x200.

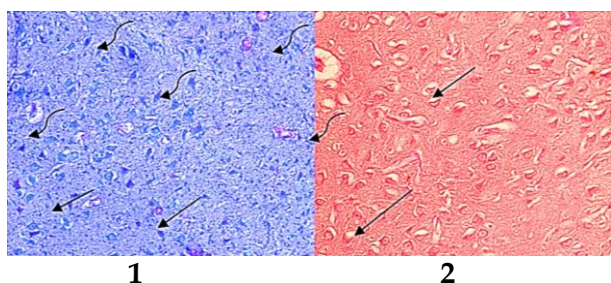


Рис. 10. Микрофото препарата экзофокального очага ишемии головного мозга экспериментальных крыс. Обозначения: прямые стрелки – ишемизированные нейроны; изогнутые стрелки – перичеселлярный отек. Окр.: 1 – толуидиновый синий; 2 – гематоксилин. Ув.: x200.

Клинически образование таких очагов из-за нарушения функций различных структур приводит к отдаленным последствиям в различных функциональных системах организма [7]. Количественный анализ ишемически поврежденных нейронов в экзофокальных очагах показал устойчивую корреляцию их числа с уровнем падения нагрузки. На основании гистологического анализа срезов головного мозга крысы можно сделать вывод, что травматические повреждения коры головного мозга односторонне и однозначно коррелируют с уровнем падения нагрузки на поверхность мозга.

Отдельно следует отметить появление экзофокальных очагов с ишемически поврежденными нейронами в контрала-

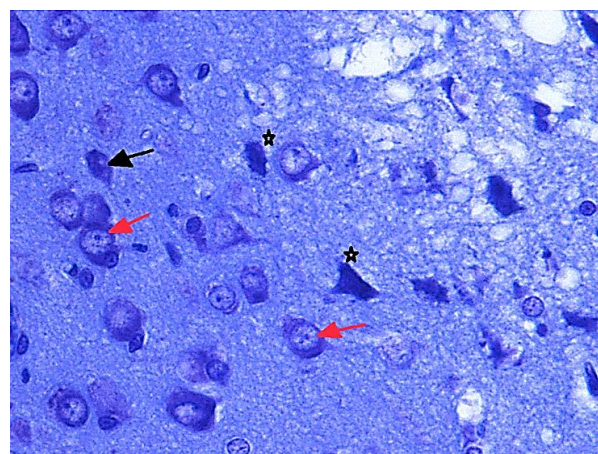


Рис. 9. Микрофото препарата зоны полутени или пенумбры коры головного мозга крысы. Окр.: по Нисслю. Ув.: x600.

теральном (интактном) полушарии (рис. 3, Б-В), которые выявлялись после специфического окрашивания гистологических срезов фуксином ванадиевой кислоты, толуидиновым синим и гематоксилином Гилла [7]. Формирование таких ишемических очагов поражения объясняется развитием посттравматического отека ткани головного мозга, который приводит к смещению подкорковых структур и сдавлению краевых сосудов [8], при этом наблюдается устойчивая взаимосвязь патоморфологических картин ишемически поврежденных нейронов в экзофокальных очагах с высотой падения нагрузки.

Закключение. Таким образом, созданная модель острой черепно-мозговой травмы позволила установить корреляцию между показателями объема повреждения структур головного мозга, летальностью и величиной повреждающего фактора. При более длительных сроках наблюдения модель позволяет оценить терапевтический эффект фармакологических препаратов и выбрать наиболее эффективный метод лечения. Отмечен феномен наличия экзофокальных очагов с ишемически поврежденными нейронами в контрлатеральном (интактном) полушарии выявляемых нейрогистологическими методами. Формирование таких ишемических очагов поражения объясняется развитием посттравматического отека ткани головного мозга, который приводит к смещению подкорковых структур и сдавлению краевых сосудов. Результаты исследования до-

казывают прямую зависимость патоморфологической картины, наблюдаемой в головном мозге при острой черепно-мозговой травме от степени воздействия повреждающего фактора.

Литература References

1. Fennie J. Animal models of traumatic brain injury: a review. Aust. Vet. J. 2001;79(9):628-633
2. Buresh Ya, Bureshova O, Kh'yuston Dzh. Metodiki i osnovnye eksperimenty po izucheniyu mozga i povedeniya. Moskva: Vyssh. shkola, 1991.- 400s. In Russian
3. Romanova GA, Shakova FM, Parfenov AL. Modelirovaniye cherepno-mozgovoy travmy. Patolog-icheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya. 2015;2:112-116. In Russian
4. Shakova FM, Barskov IV, Gulyaev MV, Prokhorenko SV, Romanova GA, Grechko AV. Mor-fofunktsional'nye izmeneniya pri otkrytoy cherepno-mozgovoy travme v zavisimosti ot stepeni povrezhdeniya golovnoy mozga krysy. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 2016;3:399-404. In Russian
5. Paxinos G, Watson C. Atlas of anatomy of rat brain. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 7nd Ed. San Diego: Calif. Academic Press Inc.- 1997.- 472pp
6. Romeys B. Mikroskopicheskaya tekhnika; per. s nem. prof. V.Ya. Aleksandrova i Z.I. Kryukovoy pod. red. i s predislovиеm prof. I.I. Sokolova.- Moskva, Izd-vo inostrannoy literatury, 1954.- 719s. In Russian
7. Viktorov IV, Barskov IV. Metodika okrashivaniya ishemiicheskikh neyronov golovnoy i spinnoy mozga. Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya. 1993;2:53. In Russian
8. Bogolepov NN, Fokin VF. Funktsional'naya mezhpolutsharnaya asimmetriya. Khrestomatiya. Moskva: Nauchny mir, 2004.- 728s. In Russian

Автор заявляет об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования.

Благодарности. В заключении авторы благодарят руководство НИИ общей патологии и патологической физиологии РАН и Научный центр неврологии РАН за содействие в организации и проведении данного исследования.

The author declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Саидов Саидмурод Саидович, доктор медицинских наук, профессор, проректор по учебной и клинической работе, заведующий кафедрой хирургических болезней, Московский медицинский университет РЕАВИЗ, Москва, Россия; e-mail: s.s.saidov@reaviz.online

Барсков Игорь Валентинович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры морфологии и патологии, Московский медицинский университет РЕАВИЗ, Москва, Россия; e-mail: ibarskov62@mail.ru

Тактаров Владимир Германович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой морфологии и патологии, Московский медицинский университет РЕАВИЗ, Москва, Россия; e-mail: taktdoc@mail.ru

Саидов Аюбджон Саидович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургических болезней, Московский медицинский университет РЕАВИЗ, Москва, Россия; e-mail: ssaidov@yandex.ru

Бренева Ольга Александровна, студентка, Московский медицинский университет РЕАВИЗ, Москва, Россия; e-mail: zubkovaolga1989@gmail.com

Прибыльнова Ирина Александровна, студентка, Московский медицинский университет РЕАВИЗ, Москва, Россия; e-mail: irina.pribylnova@bk.ru

Чернышева Елена Федоровна, студентка, Московский медицинский университет РЕАВИЗ, Москва, Россия; e-mail: msk@reaviz.ru

Шарашова Наталья Сергеевна, студентка, Московский медицинский университет РЕАВИЗ, Москва, Россия; e-mail: natcache@mail.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Saidmurod S. Saidov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Vice-Rector for Academic and Clinical Affairs, Head of the Department of Surgical Diseases, Private Moscow Medical University REAVIZ, Moscow, Russia; e-mail: s.s.saidov@reaviz.online

Igor' V. Barskov, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Morphology and Pathology, Private Moscow Medical University REAVIZ, Moscow, Russia; e-mail: ibarskov62@mail.ru

Vladimir G. Taktarov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Morphology and Pathology, Private Moscow Medical University REAVIZ, Moscow, Russia; e-mail: taktdoc@mail.ru

Ayubdzhon S. Saidov, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Surgical Diseases, Private Moscow Medical University REAVIZ, Moscow, Russia; e-mail: ssaidov@yandex.ru

Ol'ga A. Breneva, Student, Private Moscow Medical University REAVIZ, Moscow, Russia; e-mail: zubkovaolga1989@gmail.com

Irina A. Pribyl'nova, Studentin, Private Moscow Medical University REAVIZ, Moscow, Russia; e-mail: irina.pribylnova@bk.ru

Elena F. Chernysheva, Studentin, Private Moscow Medical University REAVIZ, Moscow, Russia; e-mail: msk@reaviz.ru

Natal'ya S. Sharashova, Studentin, Private Moscow Medical REAVIZ, Moscow, Russia; e-mail: natcache@mail.ru