

ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

© Макаренко О. М., *Чорна С. І.

УДК 576. 08+616-001. 3

Макаренко О. М., *Чорна С. І.

МОДЕЛЮВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕМОРАГІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

Кафедра гістології та ембріології НМУ ім. О. О. Богомольця (м. Київ)

***Навчально-науковий центр «Інститут біології» КНУ імені Тараса Шевченка (м. Київ)**

91svetlana@bigmir.net

Дана робота є фрагментом НДР «Органи імунної, нервової та сечостатевої системи в умовах експериментального порушення», №держ. реєстрації 0112U001413.

Розробка нових підходів до лікування геморагічного інсульту є неможливою без встановлення тонких патогенетичних механізмів розвитку гострої недостатності мозкового кровообігу (ГНМК), які можливо прослідкувати лише при використанні адекватних експериментальних моделей. Оскільки механізми, що лежать в основі ушкодження мозку при інтрацеребральній геморагії, є складними та мало дослідженими, це потребує використання в експериментальній нейробіології оптимальної моделі, яка має бути стандартизована, легко відтворюватись та такою, що охоплює основні механізми перебігу ГНМК у людини [4,2,6,9].

Експериментальне моделювання геморагічного інсульту (І) здійснюється на різних видах тварин, таких як кролі, щурі, миші, свині, мавпи тощо. Кожен з цих видів у якості експериментальної моделі має певні переваги й недоліки.

Мишача модель експериментального І була розроблена завдяки можливості використання трансгенних тварин для вивчення специфічних механізмів ушкодження при гострому інсульти [13].

Існує також так звана великотваринна (тобто свиняча) лобарна модель інтрацеребральної геморагії. Вона полягає у використанні інфузії артеріальної крові у білу речовину фронтальної півкулі. Ця модель є корисною для вивчення індукованих інтрацеребральною геморагією патофізіологічних та патохімічних змін білої речовини великих півкуль завдяки великим розмірам мозку тварин. Мозок свиней дає можливість моделювати гематому, об'єм якої є еквівалентним такій у людини. Завдяки великим об'ємам відтвореної гематоми розширяється простір можливостей для вивчення техніки хірургічного видалення, застосування хірургічного та медикаментозного варіантів лікування геморагічного інсульту. Однією з переваг її використання в якості модельного об'єкту є зменшення вірогідності пошкодження латеральних шлуночків, або супутнього крововиливу в їхню порожнину [18,17].

Вибір тварин для експерименту залежить у першу чергу від намірів і мети дослідження, затрат та досягнення бажаних об'ємів вогнища гематоми, адже по кожному з цих критеріїв кожна з тваринних моделей має відповідні переваги [17].

Практика показує, що в основному найчастіше для моделювання І використовуються щури. Ці тварини є одними з найбільш вивчених модельних об'єктів, на яких проведенні численні поведінкові дослідження, що засвідчили схожість рухової компоненти у щурів та людини [9]. В той же час, відомі недоліки використання щурів як модельних тварин – малі розміри мозку й відповідно гематоми, неоднакова організація головного мозку у щурів та людини. З цього випливає, що клінічна важливість нейроанатомічної інформації, отриманої при проведенні експериментів на щурах, має бути підтверджена додатково, що є можливим лише при використанні аутопсійного матеріалу [9].

Слід підкреслити, що основна структурна, функціональна та поведінкова організація, біохімічні та імунні процеси, а також відповідні компенсаторні та відновні механізми при порушенні функцій, що реалізуються у відповідь на церебральні ушкодження, є спільними для всіх ссавців. З огляду на це, терапевтичні засоби, що мають виражений ефект на щурах, цілком можуть застосовуватися й для лікування хворих осіб різного віку [8].

За нормальних умов кров не має прямого доступу до клітин нервової тканини, відмежованої гематоенцефалічним бар'єром, сформованим клітинами ендотелію, астроцитами й перицитами, базальною мембраною та екстрацелюлярним матриксом. Пошкодження інтрацеребральної артерії спричиняє крововилив у мозок, що створює нефізіологічні умови із відповідним результатом [3,15,14]. Розвиток клінічних проявів захворювання прямо корелює із об'ємом крові, що сформував гематому, адже ця кров інтенсивно здавлює оточуючу тканину, формує ішемічну зону та супутнє геморагічне ушкодження [20].

Експериментальна модель геморагічного інсульту має на меті відтворення наближеного до реальної картини патологічного процесу, у зв'язку із чим ця модель повинна мати такі характеристики:

ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

1. Відтворення рівномірного ступеню геморагії в усіх тварин експериментальної групи.
2. Механізм геморагії, який найбільш наближено відтворює патогенез ГНМК у людини.
3. Легкість і стандартизованість виконання процедури.
4. Розумна вартість (тобто економічна обґрунтованість) експериментальних процедур.

До найбільш загальновизнаних моделей експериментального інсульту у тварин, кожна з яких має свою модифікації, належать моделі з ін'єкційним введенням крові [16] та із застосуванням бактеріальної колагенази [19]. Кожна з цих моделей має свої переваги та недоліки та особливості використання.

Модель ін'єкції крові

Дана модель вперше була запропонована А. Крейндлером у 1975 році, та модифікована Булоком із співавторами в 1984 році. При застосуванні цього методу аутокров стереотаксично вводиться в ділянку мозку, яка цікавить дослідників. Місце ін'єкції обирають в залежності від найбільш спільнотої локалізації виникнення інтрацеребральної геморагії у людини. На даний момент базальне ядро й внутрішня капсула вважаються основним місцем для ін'єкції. Об'єм крові, що вводиться в мозок, може варіювати в залежності від об'єму гематоми, моделювання якої є на меті у дослідників, проте об'єм крові не має перевищувати 100 мкл [16].

Одним із найсерйозніших недоліків використання даної моделі є те, що розмір гематоми є важко-відтворюваним в серії експериментів. Причинами втрати відтворюваності можуть бути розриви шлуночка, зворотний потік крові вздовж треку канюлю, введення крові у надлишку [5]. З метою вирішення цієї проблеми була запропонована модель подвійної ін'єкції, що передбачає введення необхідного об'єму крові двома порціями, з перервою у 7 хвилин. Завдяки цьому кров згортається вздовж голки, і, таким чином, запобігає її зворотному відтоку і розвитку крововиливу в субарахноїдальному простір [6].

Встановлено, що локалізація введеної в структурі мозку крові залишається нестабільним. Так, близько 25% гематом розширяються в оточуючу білу речовину. Крім того, ін'єкцією аутокрові важко досягти постійної локалізації гематоми у випадку виконання серії дослідів на значній кількості тварин [10,7,21].

З метою підвищення ефективності методу запропоновано також використання металічного катетера із девіантно відхиленім і заточеним ножем,

який вводиться через попередньо введену канюлю із наступним здійсненням повних поворотів направо та наліво. Таким чином створюється не лише простір для введення аутокрові, але й підсикаються регіональні церебральні судини, що забезпечує відповідний локальний крововилив. Проте й ця модифікація моделі не є досконаловою, адже голка-канюля, що використовується для ін'єкції аутокрові, має значний діаметр, що залишає відповідну колоту рану та зумовлює виникнення травми ще до ін'єкції аутокрові [4] (у зв'язку із чим ця модель й отримала назву посттравматичної інтрацеребральної аутогеморагічної гематоми [1]).

Модель із введенням бактеріальної колагенази

Колаген IV вважається основним протеїном оболонок кровоносних судин, що відіграє важливу роль у підтриманні їхньої цілісності. Головна ідея моделі із застосуванням колагенази полягає у тому, що вона руйнує зв'язки в колагеновому протеїні й таким чином сприяє розриву стінок судин. Оригінальна колагеназна модель була запропонована Розенбергом [15]: 0,1-1 одиниці бактеріальної колагенази розчиняли у 2 мкл солі та стереотаксично вводили у відповідну ділянку мозку. Показано, що введення 0,5 одиниць надало очікуваний результат, а 1,0 од. – зничило виживаність тварин протягом перших 24 годин після здійснення процедури. Після першого успіху дана модель зазнала численних модифікацій та була суттєво розширена [19].

Зоною введення розчину колагенази в цій моделі найчастіше є базальне ядро Мейнерта, проте в моделі інтрацеребральної геморагії із застосуванням в якості експериментальних тварин, наприклад, свиней, ін'єкцію розчину здійснюють у соматосенсорний цереброкортекс [12].

Головним недоліком запропонованої колагеназної моделі є те, що цей ензим системно руйнує тканину в місці ін'єкції та є артефактним хемоатрактантом. Тому, на наш погляд, доцільніше використовувати модель інтрацеребральної ін'єкції крові, запропонованої Макаренко О. М. та співавт. [11].

Висновок. Використання різних моделей пошкодження мозкового кровообігу є обов'язковою передумовою розробки потенційних терапевтичних підходів, направлених на підсилення розвитку компенсаторних процесів у клітинах мозку з метою більш швидкого відновлення функцій організму при розвитку гострих порушень мозкового кровообігу.

Література

1. Воронина Т. А. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия : Руководство проведения доклинических исследований лекарственных средств / Т. А. Воронина, Р. У. Островская, Т. Л. Гарібова. – М. : Гриф и Ко. – 2012. – Ч. 1. – 944 с.
2. Andaluz N. Experimental animal models of intracerebral hemorrhage / N. Andaluz, M. Zuccarello, K. R. Wagner // Neurosurgery Clinics of North America. – 2002. – Vol. 13. – P. 385-390.
3. Badjatia N. Intracerebral hemorrhage / N. Badjatia J. Rosand // Neurologist. – 2005. – Vol. 11. – P. 311-324.
4. Barth A. Experimental intracerebral hematoma in the rat / A. Barth, R. Guzman [et al.] // Restorative Neurology and Neuroscience. – 2007. – Vol. 25. – P. 1-7.
5. Cossu M. Changes in Infratentorial Blood-Flow Following Experimental Cerebellar Hemorrhage / M. Cossu, A. Dorcaratto, A. Pau [et al.] // Italian Journal of Neurological Sciences. – 1991. – Vol. 12. – P. 69-73.

ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

6. Deinsberger W. Experimental intracerebral hemorrhage : Description of a double injection model in rats / W. Deinsberger, J. Vogel, W. Kuschinsky [et al.] // Neurological Research. – 1996. – Vol. 18. – P. 475-477.
7. Hua Y. Behavioral tests after intracerebral hemorrhage in the rat / Y. Hua, T. Schallert, R. F. Keep [et al.] // Stroke. – 2002. – Vol. 33. – P. 2478-2484.
8. Jordan J. Inflammation as therapeutic objective in stroke / J. Jordan, T. Segura, D. Brea [et al.] // Curr. Pharm. Des. – 2008. – Vol. 14. – P. 3549-3564.
9. Kleim J. A. Rat models of upper extremity impairment in stroke / J. A. Kleim, J. A. Boychuk, D. L. Adkins // Ilar. Journal. – 2007. – Vol. 48. – P. 374-384.
10. MacLellan C. L. Skilled reaching impairments follow intrastriatal hemorrhagic stroke in rats / C. L. MacLellan, S. Gyawali, F. Colbourne // Behavioural Brain Research. – 2006. – Vol. 175. – P. 82-89.
11. Makarenko A. N. Simulation of local cerebral hemorrhage in different brain structures of experimental animals / A. N. Makarenko, N. S. Kositsyn, N. V. Pasikova [et al.] // Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. Im. I. P. Pavlova. – 2002. – Vol. 52, № 6. – P. 765-768.
12. Mun-Bryce S. Recurring episodes of spreading depression spontaneously elicited by an intracerebral hemorrhage in the swine / S. Mun-Bryce, A. C. Wilkerson, N. Papuashvili [et al.] // Brain Res. – 2001. – Vol. 88. – P. 248-255.
13. Nakamura T. Intracerebral hemorrhage in mice : model characterization and application for genetically modified mice / T. Nakamura, G. Xi, Y. Hua [et al.] // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2004. – Vol. 24. – P. 487-494.
14. Rincon F. Clinical review : Critical care management of spontaneous intracerebral hemorrhage / F. Rincon, S. A. Mayer // Crit. Care. – 2008. – Vol. 12. – P. 237.
15. Smith E. E. Hemorrhagic stroke / E. E. Smith, J. Rosand, S. M. Greenberg // Neuroimaging Clin. N. Am. – 2005. – Vol. 15. – P. 259-272.
16. Strbian D. Rodent models of hemorrhagic stroke / D. Strbian, A. Durukan, T. Tatlisumak // Curr. Pharm. Des. – 2008. – Vol. 14. – P. 352-358.
17. Wagner K. R. Hemorrhagic stroke: pathophysiological mechanisms and neuroprotective treatments / K. R. Wagner, J. P. Broderick // Neuroprotection. – 2001. – Vol. 20. – P. 471-508.
18. Wagner K. R. Ultra-early clot aspiration after lysis with tissue plasminogen activator in a porcine model of intracerebral hemorrhage : edema reduction and blood-brain barrier protection / K. R. Wagner, G. Xi, Y. Hua [et al.] // J. Neurosurg. – 1999. – Vol. 90. – P. 491-498.
19. Wasserman J. K. Glial responses, neuron death and lesion resolution after intracerebral hemorrhage in young vs. aged rats / J. K. Wasserman, H. Yang, L. C. Schlichter // European Journal of Neuroscience. – 2008. – Vol. 28. – P. 1316-1328.
20. Xi G. H. Mechanisms of brain injury after intracerebral haemorrhage / G. H. Xi, R. F. Keep, J. T. Hoff // Lancet Neurology. – 2006. – Vol. 5. – P. 53-63.
21. Xue M. Comparison of brain cell death and inflammatory reaction in three models of intracerebral hemorrhage in adult rats / M. Xue, M. R. Del Bigio // J. Stroke Cerebrovasc. Dis. – 2003. – Vol. 12. – P. 152-159.

УДК 576.08+616-001.3

МОДЕЛЮВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕМОРАГІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

Макаренко О. М., Чорна С. І.

Резюме. У даному огляді літератури розглянуто основні сучасні підходи до моделювання експериментального геморагічного інсульту у лабораторних тварин, такі як модель ін'єкції крові та модель із введенням бактеріальної колагенази. Розглянуто основні переваги та недоліки даних моделей.

Використання різних моделей порушення мозкового кровообігу є важливим аспектом розробки потенційних терапевтических підходів, направлених на підсилення розвитку компенсаторних процесів у клітинах мозку з метою більш швидкого відновлення функцій організму при розвитку гострих порушень мозкового кровообігу.

Ключові слова: геморагічний інсульт, моделювання, ін'єкція крові, бактеріальна колагеназа.

УДК 576.08+616-001.3

МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Макаренко А. Н., Черная С. И

Резюме. В обзоре литературы рассмотрены основные современные подходы к моделированию экспериментального геморрагического инсульта у лабораторных животных, включая модель инъекции крови и модель с введением бактериальной коллагеназы. Рассмотрены основные преимущества и недостатки данных моделей.

Использование разных моделей нарушения мозгового кровообращения является важным аспектом разработки потенциальных терапевтических подходов, которые направлены на усиление развития компенсаторных процессов в клетках мозга с целью более быстрого восстановления функций организма при развитии острых нарушений мозгового кровообращения.

Ключевые слова: геморрагический инсульт, моделирование, инъекция крови, бактериальная коллагеназа.

ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

UDC 576. 08+616-001. 3

The Modelling of Experimental Hemorrhagic Stroke

Makarenko A. N., Chorna S. I.

Abstract. The mechanisms underlying brain damage in intracerebral hemorrhage are complex and little studied because it requires the using of an experimental neuroscience model that should be standardized, easily and one that covers the basic mechanisms of acute insufficiency of cerebral blood flow in humans.

Experimental modeling of hemorrhagic stroke is performed on different types of animals such as rabbits, rats, mice, pigs, monkeys and others. Each of these species as experimental model has certain advantages and disadvantages.

Experimental mouse model was developed with the ability to use transgenic animals to study the specific mechanisms of injury in acute stroke.

There are also pork intracerebral hemorrhage model. This model is useful for studying induced intracerebral hemorrhage changes and white matter of the cerebral hemispheres of the brain due to the large size animals. The choice of animal experiment depends primarily on the intentions and objectives of the study, costs and achieve the desired focus hematoma volume, because in each of these criteria, each of the relevant animal models has advantages.

Practice shows that rats are the most often used animals for modeling hemorrhagic stroke. Under normal conditions, the blood does not have direct access to the cells of the nervous tissue. An experimental model of hemorrhagic stroke is intended to be closer to the real picture of the pathological process in connection with what the model should have the following characteristics: Having an average degree of hemorrhage in all animals of the experimental group; The mechanism of hemorrhage that best reproduces pathogenesis in humans; The ease and standardization of the procedure; Reasonable cost experimental procedures.

The most universally recognized model of experimental stroke in animal models are injected with blood and using bacterial collagenase. Each of these models has its own advantages and disadvantages and use features.

Model injections of blood in applying this method blood stereotactic are injected into the area of the brain that interested researchers. The volume of blood injected into the brain may vary depending on the amount of bruising, modeling which is aimed at researchers.

One of the most serious drawbacks of using this model is that the size of the hematoma is difficult to reproduce in a series of experiments.

The model with the using of bacterial collagenase. The main idea of using collagenase model is that it destroys the bonds in collagen protein and thus helps break apart the walls of blood vessels. After the initial success of this model has undergone numerous modifications and has been significantly expanded.

Zone input collagenase solution in this model is often the basal nucleus of Meynert.

The main drawback of the proposed collagenase model is that this enzyme system destroys the tissue at the injection site. Therefore, in our opinion, it is better to use the model of intracerebral injections of blood offered Makarenko OM. The using of different models of cerebral blood flow is a prerequisite develop potential therapeutic approaches aimed at enhancing the development of compensatory processes in the brain cells of to a more rapid recovery of body functions during the development of acute stroke.

Keywords: hemorrhagic stroke, modelling, blood injection, bacterial collagenase.

Рецензент – проф. Литвиненко Н. В.

Стаття надійшла 6. 03. 2015 р.