

УДК 616.832-001.31-06-092.9

ОСЛОЖНЕНИЯ ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ КОНТУЗИОННОЙ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС**Кубрак Н.В., Краснов В.В.***ФГБУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, Курган,**e-mail: v.v.krasnov@mail.ru*

В статье описаны основные осложнения после моделирования контузионной травмы спинного мозга у крыс, а также меры их устранения и профилактики. Исследования проведены на 44 самках крыс линии Вистар в возрасте 9–12 месяцев с массой тела 270–350 г. Воспроизводили стандартную модель контузионной травмы спинного мозга средней степени тяжести при помощи импактора собственной конструкции. Установлено, что у животных в раннем послеоперационном периоде существует большая вероятность развития ишурии, макро- и микрогематурии, хромодакриорреи; в отдаленном периоде эксперимента – нейротрофических расстройств, проявляющихся образованием очаговых алопеций каудальнее уровня травмы, кожных эрозий и трофических язв, а также возникновение аутоутилизации. Полученные сведения необходимо учитывать при выполнении исследований в области экспериментальной нейрохирургии.

Ключевые слова: крыса, контузионная травма спинного мозга, осложнения, ишурия, гематурия, трофическая язва

COMPLICATIONS AFTER MODELING CONTUSION TRAUMA OF THE SPINAL CORD IN RATS**Kubrak N.V., Krasnov V.V.***FSBI RISC «RTO» of the RF Ministry of Health, Kurgan, e-mail: v.v.krasnov@mail.ru*

The work deals with the main complications following spinal cord contusion injury modelling in rats, as well as with the measures of their elimination and prevention. The authors performed the studies using 44 female Wistar rats of 270–350-g body weight at the age of 9–12 months. They reproduced the standard model of spinal cord moderate-severity contusion injury using an impactor of their own design. As it has been established, there is high probability of ischuria, macro- and micro-hematuria and chromodacryorrhea development in the animals in the early postoperative period; while in the long-term period of the experiment – that of the development of neurotrophic disorders manifested themselves in the formation of alopecia areata foci caudally to the injury level, skin erosions and trophic ulcers, as well as the emergence of self-injury. This information must be taken into consideration when performing the studies related to experimental neurosurgery.

Keywords: rat, contusion injury of the spinal cord, complications, ischuria, hematuria, trophic ulcer

Лечение пациентов с травматическим повреждением спинного мозга остается одной из сложнейших задач современной нейробиологии и нейрохирургии, для решения которой учеными разных стран проводятся экспериментальные исследования на животных. Несмотря на большое количество работ, посвященных моделированию контузионной травмы спинного мозга у крыс, осложнения, с которыми сталкиваются экспериментаторы, практически не описаны. В некоторых работах упоминается единственное осложнение – гематурия, зачастую приводящая к гибели экспериментальных животных [2, 9]. Ряд авторов, описывающих эту проблему, проводят только антибиотикопрофилактику инфекционных осложнений мочевыделительной системы [5, 6, 7, 8]. Вместе с тем, при травме спинного мозга у человека возникает целый ряд осложнений, в виде дисфункции тазовых органов, сосудистых и нейротрофических нарушений, инфекционно-воспалительных процессов [1].

Цель исследования – выявить возможные осложнения при моделировании контузионной травмы спинного мозга у крыс.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на 44 самках крыс линии Вистар в возрасте 9–12 месяцев с массой тела 270–350 г. Манипуляции с животными осуществляли в соответствии требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986) и были одобрены Комитетом по этике ФГБУ «РНИЦ «ВТО» им. академика Г.А. Илизарова».

Воспроизводили стандартную модель контузионной травмы спинного мозга средней степени тяжести [3]. Оперативное вмешательство осуществляли под общей анестезией (Рометар 2% – 0,2 мл, Золетил 100 – 0,2 мл). Выполняли ламинэктомию на уровне T_{IX}, позвоночный столб жестко фиксировали за остистые отростки T_{VIII} и T_X позвонков и производили контузию спинного мозга цилиндрическим грузом диаметром 1,8 мм массой 10 г с высоты 25 мм при помощи импактора собственной конструкции. После нанесения травмы происходило рефлекторное вытягивание тазовых конечностей. Операционную рану ушивали послойно, наглухо. Однократно подкожно вводили 5 мл 0,9% раствора хлорида натрия.

После операции животных помещали в индивидуальные клетки. В течение первых суток осуществляли дополнительный обогрев. Доступ к воде и корму не ограничивали. Максимальный срок клинического наблюдения за животными составлял 180 суток.

На 1, 3, 5, 7 сутки после операции проводили клинический анализ мочи с помощью тест-полосок Aution Sticks 10EA (Arkray Factory Inc., Japan) на автоматическом анализаторе PocketChem UA PU-4010 (Arkray Factory Inc., Japan) и микроскопическое изучение мочевого осадка.

Микробиологические исследования мочи осуществляли традиционным методом посева на плотные питательные среды. Идентификацию выделенных культур проводили на автоматическом бактериологическом анализаторе WalkAway® 40 plus (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., США), их чувствительность к антибиотикам определяли диск-диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтона.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате того, что у наркотизированных крыс веки не смыкаются, происходит высыхание конъюнктивы и роговицы глаза с последующим развитием кератоконъюнктивита. Для профилактики данного осложнения во время выполнения оперативного вмешательства применяли стерильное вазелиновое масло.

Неврологический статус всех прооперированных животных на момент выхода из наркоза соответствовал 0 баллов по шкале ВВВ [3]. В раннем послеоперационном периоде у 5 (11,4%) животных отмечалась острая полная ишурия, у 28 (63,6%) – острая неполная и у 11 (25%) ишурия не была выявлена. В позднем послеоперационном периоде у 1 крысы диагностирована хроническая неполная ишурия. У животных с неполной ишурией шерсть в области живота и внутренней поверхности бедер была влажная, наблюдалась мацерация кожи. Всем животным с задержкой мочи два раза в сутки осуществляли мануальное опорожнение мочевого пузыря и выполняли туалет наружных половых органов и паховой области.

В течение первых суток после операции у 36 (81,8%) животных развивалась тотальная макрогематурия разной степени выраженности. Цвет мочи варьировал от розово-красного до темно-вишневого. В ряде наблюдений при опорожнении мочевого пузыря происходило выделение кровяных сгустков темно-красного цвета. У 8 (18,2%) крыс выявлена микрогематурия.

При патологоанатомическом вскрытии трупов 3 (6,8%) животных, павших в раннем послеоперационном периоде, наблюдали сильно увеличенный мочевой пузырь,

содержащий до 5–7 мл мочи темно-красного цвета со взвесью (рис. 1). Стенка мочевого пузыря была истончена, кровеносные сосуды резко расширены, на слизистой оболочке очаговые кровоизлияния. Мочеточники утолщены. Почки бобовидной формы, не увеличены, на разрезе между корковым и мозговым слоями имели четкую границу.



Рис. 1. Патологоанатомические изменения мочевыводящей системы крысы при гематурии

Гемостатическую терапию осуществляли путем внутримышечного введения Этамзилата в дозе 0,02 мл 2 раза в сутки на протяжении 3 дней. При этом у животных с микрогематурией уже на 3 сутки эксперимента эритроциты в моче отсутствовали, а с макрогематурией они исчезали на 5–7 сутки. У 1 крысы, несмотря на проведенную комплексную терапию, макрогематурия сохранялась до 15 суток эксперимента.

При отсутствии гемостатической терапии и назначении в послеоперационном периоде препарата Энрофлокс 5% (подкожно, 5 мг/кг) у трех животных из четырех на 4–5 сутки эксперимента развилась пиурия. При проведении бактериологического исследования содержимого мочевого пузыря выявлены *Propionibacterium* sp., *Acinetobacter* sp., *Staphylococcus haemolyticus*, наиболее чувствительные к гентамицину и цiproфлоксацину. В последующем, при назначении животным гентамицина (4 мг/кг) и этамзилата в указанной дозе ни у одного животного пиурия не наблюдалась.

Также у большинства животных на следующий день после операции регистрировалась хромодакриорея (образование темно-красных корочек вокруг глаз и/или ноздрей), которая может возникать при стрессовых ситуациях (рис. 2) [4]. Ее признаки исчезали без дополнительного вмешательства на 3–5 сутки.



Рис. 2. Хромодакриорез



а



б

Рис. 3. Осложнения в отдаленном периоде эксперимента: а – эрозия кожи в области коленного сустава; б – аутомутиляция пальцев тазовой конечности

У многих крыс каудальнее уровня травмы развивались очаговые алопеции, однако через 1,5–2,5 месяца шерстный покров полностью восстанавливался. У 8 (18,2%) животных на 83–114 сутки эксперимента отмечалось образование поверхностных кожных эрозий и трофических язв с пре-

имущественной локализацией в области латеральной поверхности тазовых конечностей (рис. 3, а). При данном осложнении для предотвращения присоединения вторичной инфекции ежедневно выполняли туалет раны (удаление некротических участков, обработка 0,02% водным раствором фурацилина) с последующей аппликацией мази Левомеколь. У 1 животного наблюдалась аутомутиляция пальцев левой тазовой конечности (рис. 3, б).

Заключение

Таким образом, у крыс после моделирования контузионной травмы спинного мозга, возможно возникновение различных осложнений. В раннем послеоперационном периоде большая вероятность развития ишурии, гематурии и хромодакриореза; в отдаленном периоде эксперимента – нейротрофических расстройств, проявляющихся образованием очаговых алопеций, кожных эрозий и трофических язв, а также возникновение аутомутиляции.

Полученные сведения необходимо учитывать при выполнении исследований в области экспериментальной нейрохирургии.

Список литературы

1. Белова А.Н. Нейрореабилитация: Руководство для врачей. – М.: Антидор. 2000. – 568 с.
2. Моделирование повреждений поясничных сегментов спинного мозга у крысы. Проблемы и решения / Е.П. Павлович, С.И. Рябов, А.В. Просвирнин, М.А. Звягинцева // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2012. – № 7. – С. 168.
3. Basso D.M., Beattie M.S., Bresnahan J.C. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats // Journal of neurotrauma. – 1995. – Vol. 12, № 1. – P. 1–21.
4. Donnelly T.M. Blood-caked staining around the eyes in Sprague-Dawley rats // Lab. Anim. Sci. – 1997. – Vol. 47. – P. 17–18.
5. Herrera J.J., Haywood-Watson R.J. L., Grill R.J. Acute and chronic deficits in the urinary bladder after spinal contusion injury in the adult rat // Journal of neurotrauma. – 2010. Vol. 27, № 2. – P. 423–431.
6. Recovery of function following grafting of human bone marrow-derived stromal cells into the injured spinal cord / B.T. Himes, B. Neuhuber, C. Coleman, R. Kushner, S.A. Swanger, G.C. Kopen, J. Wagner, J.S. Shumsky, I. Fischer // Neurorehabilitation and neural repair. – 2006. – Vol. 20, № 2. – P. 278–296.
7. Rivlin A.S., Tator C.H. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat // Journal of neurosurgery. – 1977. – Vol. 47, № 4. – P. 577–581.
8. Spinal cord regeneration: the action of neurotrophin-3 in spinal cord injury in rats / D.K. Narazaki, T.E.P.D. Barros Filho, C.R.G. Oliveira, A.F. Cristante, A.S. Iutaka, R.M. Marcon, R.P. Oliveira // Clinics. – 2006. – Vol. 61, № 5. – P. 453–460.
9. Umbilical cord blood stem cell mediated downregulation of fas improves functional recovery of rats after spinal cord injury / V.R. Dasari, D.G. Spomar, L. Li, M. Gujrati, J.S. Rao D.H. Dinh // Neurochemical research. – 2008. – Vol. 33, № 1. – P. 134–149.