

УДК 616.833.115-001-092.9.259

Цимбалюк В.І., Шамаєв М.І., Малишева Т.А., Цимбалюк Ю.В., Медведєв В.В.

Моделювання травматичного пошкодження інтракраніального відділу зорового нерва кроля

Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України, м. Київ

Вступ. Розробка ефективних методів відновного лікування порушень зору є актуальною проблемою сучасної нейрохірургії, неврології та офтальмології. Втрата працездатності особами при порушенні функції зорового аналізатора, необхідність залучення значних коштів під час проведення реабілітації та соціальної адаптації таких хворих зумовлює соціально-економічну значущість проблеми.

Травматична оптична нейропатія (ТОН) — пошкодження зорового нерва у будь-якій його частині, яке завершується частковою або повною втратою його функцій. ТОН є рідкісним, проте, дуже тяжким ускладненням травми очей та черепно-мозкової травми. Пацієнти з ТОН в основному молодого віку, у 50% з них ТОН супроводжується значним зниженням функції зору [1].

За прямої ТОН відзначають безпосередній вплив травматичного чинника на зоровий нерв та його оболонки. При цьому фактично пошкоджується анатомічна структура зорового нерва від склерального кільця до хіазми з подальшою ішемією або утворенням інфаркту, а також кровотечі у зоровому нерві та його оболонках. Пряма ТОН майже завжди пов'язана з значним зниженням гостроти зору.

Вивчення ефективності відновного лікування травми зорового нерва можливе лише за умови використання спеціальних експериментальних моделей, які дозволяють дослідити ту чи іншу особливість позитивного ефекту. Ефективність регенераційного росту аксонів через зону травми зорового нерва, вивчену матриксними речовинами органічної природи чи аутогенним матеріалом [2, 3], доцільно вивчати на моделях повного пересічення зорового нерва.

Найбільш поширеними моделями травматичного пошкодження зорового нерва є його повне пересічення або розчавлення в очноямковій частині ретробульбарно [4–6].

Мета дослідження: створити адекватну модель травматичного пошкодження зорового нерва кроля для вивчення методів впливу відновного лікування на перебіг регенераційного процесу.

Матеріали і методи дослідження. Експеримент проведений на статевозрілих кролях-самцях масою тіла у середньому 2,5 кг. Дослідження проведені відповідно до українських та міжнародних стандартів та схвалені етичною комісією Інституту. Тварини розподілені на 6 груп залежно від використання варіантів пересічення лівого зорового нерва: 1-ша група — пересічення внутрішньочерепної частини зорового нерва між зоровою хіазмою та виходом зорового нерва з зорового каналу з використанням верхнього бічного доступу (5 тварин); 2-га група — аналогічне пересічення зорового нерва з використанням субфронтального доступу з резекцією нюхової цибулини (5 тварин); 3-тя група — аналогічне пересічення з використанням транскальозного доступу (5 тварин);

4-та група — екстракраніальне пересічення зорового нерва з використанням ретробульбарного доступу (5 тварин); 5-та група — пересічення внутрішньочерепної частини зорового нерва між хіазмою та виходом з зорового каналу з використанням верхнього бічного екстрадурального доступу (5 тварин); 6-та група — аналогічне пересічення зорового нерва з використанням верхнього бічного екстрадурального доступу з негайною імплантацією в зону пересічення фрагмента синтетичного макропористого гідрогелю (5 тварин).

У кожної тварини були номер і мітка. Раціон був стандартним і не змінювався під час експерименту. Тварин утримували з вільним доступом до води та корму при температурі повітря 19...21°C і відносній вологості 70–80%.

Для знеболювання вводили суміш розчинів ксилазину й кетаміну (відповідно 15 і 75 мг/кг маси тіла тварини). Мікрохірургічні маніпуляції виконували з застосуванням операційного мікроскопа (Zeiss, Jena). Після пересічення зорового нерва, припинення кровотечі та (у 6-й групі) імплантації синтетичного макропористого гідрогелю тверду оболонку головного мозку (ТОГМ), м'які тканини і шкіру в зоні операційної рани зашивали крученими поліамідними хірургічними нитками (умовні номери 0, 1, Київське ПО «Хімволокно»), накладали два ряди вузлових швів. Ділянку рани обробляли 5% спиртовим розчином йоду. Після проведення хірургічних маніпуляцій тварин протягом 2–4 год утримували в приміщенні з підвищеною температурою повітря (30...33°C), що є необхідною вимогою при застосуванні ксилазину. З метою попередження інфекційних ускладнень внутрішньом'язово вводили розчин біциліну-5 (ОАО «Київмедпрепарат» у звичайній дозі. Як протигрипальну і протинабрякову терапію внутрішньом'язово вводили розчин дексаметазону (KRKA, Словенія) у дозі 1 мг/кг маси тіла тварини.

Одразу після виведення тварини з експерименту шляхом передозування зазначених наркотичних засобів головний мозок разом з зоровими нервами та очними яблуками видаляли, вміщували у 10% розчин нейтрального формаліну. Через 3–4 тиж з фіксованих блоків шляхом мікропрепарування видаляли окремі ділянки зорового нерва. Матеріал оцінювали візуально, після чого з отриманої ділянки зорового нерва лезами висікали зону травми довжиною 5 мм.

Морфологічні дослідження проводили з використанням світлооптичних спеціальних, оглядових та субмікроскопічних методів. Вивчали структурні зміни різних ділянок зорового аналізатора. Для мікроскопічних досліджень отримані фрагменти тканини фіксували у розчинах нейтрального формаліну зростаючої концентрації (5–7–10%) та заливали в парафін. Мікротомні зрізи (5 мкм) фарбували гема-

токсиліном та еозином, пікрофуксином за методом Кульчицького та тіоніном.

Результати та їх обговорення. Пересічення внутрішньочерепної частини зорового нерва між хіазмою та виходом з зорового каналу з використанням верхнього бічного доступу. Після введення у стан глибокого наркотичного сну тварину фіксували на операційному столику червцем донизу. Шкіру на поверхні голови голили та обробляли розчином йоду. Проводили лінійний розріз шкіри над сагітальним швом. Передньою межею розрізу вважали умовну лінію, проведену на 1 см ростральніше від передньої надочної вирізки, задньою — на 1 см каудальніше брегми. Окістя відшаровували тупим шляхом. Здійснювали гемостаз, за допомогою високо-частотного стоматологічного бора накладали фрезові отвори, якими окреслювали зону трепанації. Аналогічним методом отвори з'єднували один з одним. Фрагмент випиляної кістки мав вигляд правильної трапеції, верхня (менша) основа якої спрямована рострально, нижня — каудально. Передня межа трепанаційного отвору — по вінцевому шву, задня — по ламбдоподібному. ТОГМ розрізали поздовжньо, ліворуч від сагітального синусу. Тонкий шпатель опускали вглиб порожнини черепа по внутрішній поверхні його лівої стінки в ділянці трепанаційного вікна, відтискаючи речовину мозку до середини і дозад.

Кінцем шпателя доходили до вирізки на основі черепа, в якій містяться зорові нерви. Частіше виникала значна кровотеча внаслідок порушення цілісності очної артерії. Для припинення кровотечі застосовували гемостатичну губку і підходили до зорових нервів, повільно переміщуючись медіально і дозад. Після візуалізації зорового нерва його перерізували лезом або офтальмологічними ножицями. В ділянку між куксами нерва укладали фрагмент гідрогелю. Краї ТОГМ зшивали. Дефект черепа виповнювали фрагментом кістки, який фіксували за допомогою протакрилу. На апоневроз і шкіру накладали поширові вузлові шви. Смертність тварин за такого варіанта хірургічного втручання становила 90%.

Пересічення внутрішньочерепної частини зорового нерва на аналогічному проміжку з використанням субфронтального доступу з резекцією нюхової цибулини. Особливості формування операційної рани аналогічні наведеним. Після розрізання ТОГМ здійснювали щадну резекцію лівої лобової частки, її полюса та лівої нюхової цибулини. Після проведення гемостазу залишки речовини мозку, розташовані базально, відводили медіально та дозад. Під час маніпуляції поблизу зони залягання зорових нервів виникала значна кровотеча внаслідок порушення цілісності внутрішньочерепної частини внутрішньої сонної артерії або середньої мозкової артерії. Після досягнення гемостазу та візуалізації зорових нервів пересікали лівий зоровий нерв. Між куксами укладали фрагмент гідрогелю. Подальші етапи операції аналогічні наведеним вище. Смертність тварин за такого варіанту втручання становила 90%.

Пересічення внутрішньомозкової частини зорового нерва на аналогічному проміжку з використанням транскальозного доступу. Цей метод

характеризується пересіченням коліна мозолистого тіла і формуванням доступу до основи черепа крізь III шлуночок. Смертність тварин становила 80%.

Екстракраніальне пересічення зорового нерва з використанням ретробульбарного доступу. Шкіру розрізали по лівому верхньому краю очної ямки. Скелетували кісткові структури, мобілізували м'язи, фіксовані у цій зоні. Після видалення ретробульбарної жирової клітковини шпателем відтискали очне яблуко вперед і донизу.

При спробі візуалізувати зоровий нерв виникала значна венозна кровотеча внаслідок травматизації верхньої очної вени. Після досягнення гемостазу у глибині рани пересікали зоровий нерв. Цей спосіб виключає можливість контролю повноти пересічення через наявність щільних зрощень нерва з навколишніми м'язами оболонками. Укладання гідрогелю між куксами не має сенсу, оскільки відсутність чіткої фіксації частин зорового нерва унеможливило ймовірну регенерацію його волокон. При цьому смертність тварин досягала 90%.

Пересічення внутрішньочерепної частини зорового нерва на проміжку між хіазмою та виходом з каналу зорового нерва з використанням верхнього бічного екстрадурального доступу. Зважаючи на недоліки апробованих методів пересічення зорового нерва, ми запропонували нову модель цього виду патології. Після лінійного розрізу шкіри на 1 см латеральніше сагітального шва та скелетування поверхні черепа формували трепанаційне вікно величиною, наполовину меншою такою для першого виду доступу; передній край співпадав з лівою половиною вінцевого шва, серединний — лівіше від сагітального шва, задній — співпадав з лівою половиною ламбдоподібного шва, бічний — по основі надочноямкового виростку черепа. Таким чином, сагітальний синус залишався інтактним. Не порушуючи цілісності ТОГМ, її відшаровували від лівої бічної стінки черепа в межах доступу. Надочноямковий відросток скелетували і видаляли. Видаляли залишки м'язової та жирової тканини і формували доступ до верхнього краю бічної стінки очної ямки — кісткової пластинки, з якої виступав надочноямковий відросток. Ця пластинка формує верхню і присередню стінки очної ямки і розташована практично вертикально. Здійснювали резекцію цієї пластинки, опускаючись углиб рани. Резекцію припиняли, коли хід пластинки змінювався з вертикального на похилий і наближався до горизонтального (**рис. 1 кольорової вкладки**). В цій ділянці (зона над отвором зорового каналу з боку очної ямки) під тонким залишком пластинки розташований зоровий нерв (в одноімennomу каналі).

З боку порожнини черепа для формування доступу до внутрішньочерепної частини зорового нерва відводили тканину мозку у збереженому дуральному мішку медіально і дозад. Формували доступ до заглиблення на основі черепа, в якому розташовані зорові нерви. Проте, над цим заглибленням виявляється сформована внаслідок зміщення тканини мозку дубліатура ТОГМ, фіксована до кутподібного краю заглиблення. Після перфорації ТОГМ формується доступ до зорових нервів (**рис. 2 А, Б кольорової вкладки**). Внутрішня сонна та середня мозкова артерії розташовані дещо дозад,

що виключає імовірність їх травмування. Подальші маніпуляції аналогічні наведеним вище. Смертність при такому варіанті доступу становила 30%.

Вивчення макропрепаратів, спостережень подібних втручань свідчить про повноту пересічення зорового нерва, низький ступінь травмування навколишніх тканин (**рис. 3 кольорової вкладки**).

На світлооптичному рівні виявляють дегенеративні зміни пошкодженого нерва, переважно його дистальної частини: зменшення діаметра, зморщування, фокальне розростання сполучної тканини, неангіоматоз (**рис. 4 кольорової вкладки**). Виявлені «реактивні» зміни пошкодженого нерва: фокальне вrostання сполучної тканини з боку оболонки, виражена вогнищева гіперплазія астроглії та стромальних макрофагів (**рис. 5 кольорової вкладки**). Порівняно з інтактним нервом виявлені реактивні гіперпластичні зміни оболонок: потовщення, фокальний склероз волокнистих структур, гіперплазія і проліферація фібробластів і гістіоцитів (**рис. 6, 7 кольорової вкладки**).

Таким чином, за сумою показників (ступінь травмування речовини мозку, хірургічна доступність об'єкту втручання, можливість імплантації у зону пошкодження, можливість відтворення моделі) варіант пересічення зорового нерва кроля з використанням інтракраніального бічного екстрадурального доступу, модифікований нами, переважає альтернативні і може бути успішно використаний для вдосконалення методів відновного лікування травматичного пошкодження зорового нерва.

Список літератури

1. Шеремет Н.Л. Травматическая оптическая нейропатия / Н.Л. Шеремет, О.К. Воробьева // Материалы X науч.-практ. нейроофтальмол. конф. «Актуальные вопросы нейроофтальмологии». — М., 2008. — С.31–35.
2. Light-induced EEG desynchronization and behavioural arousal in rats with restored retinocollicular projection by peripheral nerve graft / H. Sasaki, P. Coffrey, M.P. Villegas-Perez [et al.] // *Neurosci. Lett.* — 1996. — V.218. — P.45–48.
3. Thanos S. Regenerating ganglion cell axons in the adult rat establish retinofugal topography and restore visual function / S. Thanos, R. Naskar, P. Heiduschka // *Exp. Brain Res.* — 1997. — V.114. — P.483–491.
4. Time course profiling of the retinal transcriptome after optic nerve transection and optic nerve crush / M. Agudo, M. C. Pérez-Marín, U. Lönngrén [et al.] // *Mol. Vis.* — 2008. — V.14. — P.1050–1063.
5. Short and long term axotomy-induced ERG changes in albino and pigmented rats / L. Alarcón-Martínez, P. de la Villa, M. Avilés-Trigueros [et al.] // *Mol. Vis.* — 2009. — V.15. — P.2373–2383.
6. Progressive damage along the optic nerve following induction of crush injury or rodent anterior ischemic optic neuropathy in transgenic mice / O. Dratviman-Storobinsky, M. Hasanreisoglu, D. Offen [et al.] // *Mol. Vis.* — 2008. — V.14. — P.2171–2179.

Одержано 03.11.10

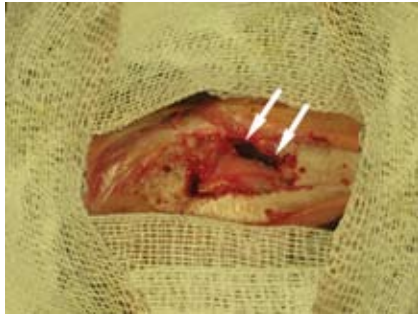


Рис. 1. Етап формування операційного доступу під час моделювання пересічення внутрішньочерепної частини лівого зорового нерва кроля. Стрілками позначено латеральну поверхню лівої півкулі великого мозку після обмеженої резекції бічної стінки черепа у цій ділянці.



Рис. 3. Макропрепарат. Головний мозок кроля через 10 міс після пересічення зорового нерва та імплантації гідрогелю. Місце пересічення вказане стрілкою.

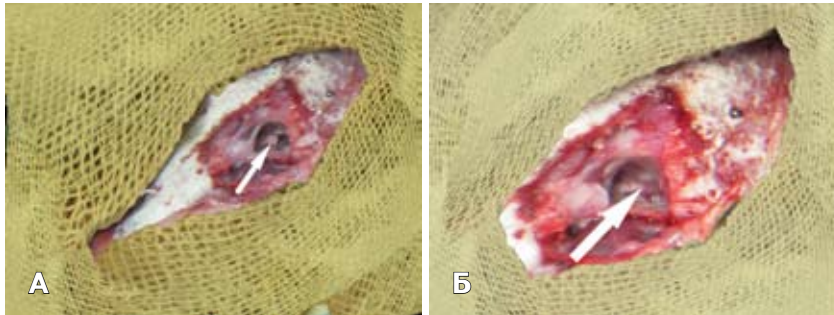


Рис. 2. Інтраопераційне спостереження. Стан після пересічення зорового нерва (А) та імплантації гідрогелю в зону пересічення (Б), виконаних з використанням інтракраніального бічного екстрадурального доступу. Зб.х12. Місце пересічення та імплантації вказане стрілками.

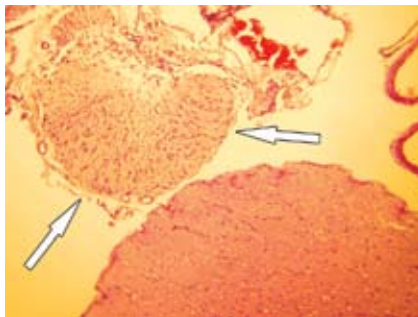


Рис. 4. Мікрофото. Поперечний зріз зорового нерва кроля через 9 міс після його пересічення (вказане стрілками) та імплантації гідрогелю. Фрагменти зорових нервів і оболонок мозку. Забарвлення гематоксиліном і пікрофуксином. Зб.х125.

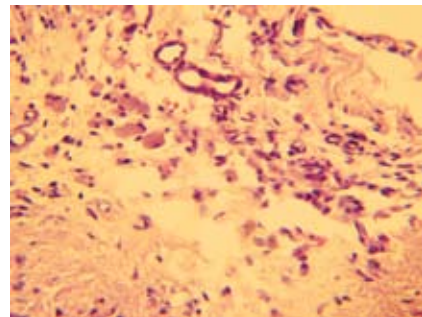


Рис. 5. Мікрофото. Зоровий нерв кроля через 9 міс після його пересічення та імплантації гідрогелю. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.х400.

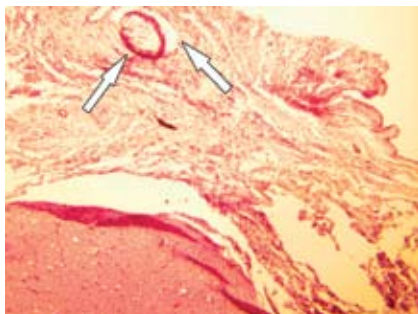


Рис. 6. Мікрофото. Зорові нерви кроля через 9 міс після їх пересічення та імплантації гідрогелю. Інкапсульований фрагмент гідрогелю в товщі сполучної тканини (вказано стрілками). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.х400.

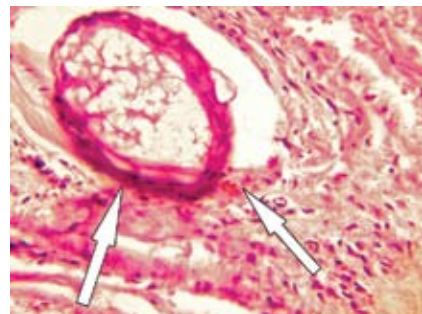


Рис. 7. Мікрофото. У товщі рубця, на місці пересічення й імплантації гідрогелю виявлені його залишки (вказано стрілками). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.х800

Цимбалюк В.І., Шамаєв М.І., Малишева Т.А., Цимбалюк Ю.В., Медведєв В.В.

Моделювання травматичного пошкодження інтракраніального відділу зорового нерва кроля

Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України, м. Київ

Представлено оригінальну модель повного пересічення зорового нерва кроля в інтракраніальному відділі. Вивчено повноту пересічення, можливість застосування негайної імплантації в зону травми нерва синтетичного макропористого гідрогелю. Проаналізовані альтернативні варіанти нейрохірургічних доступів для пересічення зорового нерва з точки зору показників смертності тварин у ранньому післяопераційному періоді.

Ключові слова: зоровий нерв, моделі пересічення.

Цымбалюк В.И., Шамаев М.И., Малышева Т.А., Цымбалюк Ю.В., Медведев В.В.

Моделирование травматического повреждения интракраниального отдела зрительного нерва кроля

Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины, г. Киев

Представлена оригинальная модель полного пересечения зрительного нерва кроля в интракраниальном отделе. Изучены полнота пересечения, возможность использования немедленной имплантации в зону травмы нерва синтетического макропористого гидрогеля. Проанализированы альтернативные нейрохирургические доступы для пересечения зрительного нерва с точки зрения показателей смертности животных в раннем послеоперационном периоде.

Ключевые слова: зрительный нерв, модели пересечения.

Tsybalyuk V.I., Shamaev M.I., Malysheva T.A., Tsybalyuk Yu.V., Medvedev V.V.

Rabbit's optic nerve intracranial traumatic damage modelling

Institute of Neurosurgery named after acad. A.P. Romodanov
of National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv

An original model of intracranial optic nerve complete transaction is given. The completeness of transection, possibility of synthetic macroporous hydrogel immediate implantation into the nerve injury zone were studied. The alternative neurosurgical accesses for optic nerve transection were analyzed taking into account animals' mortality in early postoperative period.

Key words: optic nerve, models of transection.

Коментар

до статті Цимбалюка В.І. і співавторів «Моделювання травматичного пошкодження інтракраніального відділу зорового нерва кроля»

Однією з причин втрати функцій зору є черепно-мозкова травма з ураженням периферійного нейрона зорового шляху, а саме: зорового нерва, зорового перехрестя, зорового тракту. Найчастіше травматична оптична нейропатія виникає при переломі кісток основи черепа в зоровому каналі, де зоровий нерв щільно прилягає до навколишніх кісткових структур, а також у проміжку між хіазмою та інтракраніальним входом у зоровий канал. Саме на цих ділянках зорового шляху можливе повне пересічення зорового нерва, його стискання, виникнення ішемії, втрата функцій зору.

Відновне лікування мало ефективно, а при пересіченні або ішемії зорового нерва з повною втратою зору — взагалі безперспективно.

Імовірно, ефективно лікування пошкодженого зорового нерва можливе шляхом відновлення регенераційного росту аксонів в зоні травми.

Під час роботи виникла необхідність створити адекватну модель травматичного пошкодження зорового нерва кроля. Як свідчили результати п'яти апробованих варіантів, тільки інтракраніальне пересічення зорового нерва між зоровим

перехрестям та виходом з зорового каналу з використанням верхнього бічного екстрадурального доступу забезпечило зменшення смертності тварин до 30%, в інших спостереженнях смертність становила 90%.

Слід відзначити, що автори запропонували новий метод моделювання цього виду патології. В експериментальних дослідженнях цей метод допоможе дослідникам з меншими втратами тварин більш успішно здійснювати імплантацію синтетичного макропористого гідрогелю в зону ураження зорового нерва під час вивчення нагальних проблем відновлення функцій зору при черепно-мозковій травмі.

Є неточний вислів про можливість повного пересічення або розчавлення зорового нерва в очноямковій частині ретробульбарно. Як правило, таке пошкодження виникає в зоровому каналі і на основі мозку.

Авторами проведена значна експериментальна робота, яка дає можливість глибше і цілеспрямованіше відтворювати травматичне пересічення зорового нерва на кролях з подальшим вивченням регенерації росту аксонів в зоні травми зорового нерва.

*Л.В. Задояний, канд. мед. наук
нейроофтальмолог, старший науковий співробітник
Інституту нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України*