

Морфологические изменения сосудистых сплетений и стенок желудочков мозга при введении в них крови

А.В. Ширшов¹, Т.С. Гулевская¹, В.А. Моргунов¹, В.Г. Кучеряну²

¹ Научный центр неврологии РАМН, Москва

² Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва

Цель исследования – установить в условиях эксперимента характер и степень выраженности морфологических изменений сосудистых сплетений и стенок желудочков мозга в различные сроки после введения в них крови и определить эффективность тканевого активатора плазминогена – «Актилизе». Эксперимент проведен на 30 белых крысах-самцах линии Вистар. Установлено, что при введении в боковой желудочек мозга животных крови вместе с физиологическим раствором наблюдались резко выраженные деструктивные изменения эпендимы и сосудистых сплетений, гемолиз эритроцитов, а также отек субэпендимального белого вещества, который не определялся к 21-м суткам. При введении в желудочки мозга крыс крови вместе с «Актилизе» также наблюдался гемолиз эритроцитов и выраженный отек субэпендимального белого вещества, которые выявлялись в более ранние сроки по сравнению с контрольной группой, при этом отек сохранялся и к 21-м суткам.

Ключевые слова: кровь в желудочках мозга, морфологические изменения, влияние тканевого активатора плазминогена в эксперименте.

Введение

Интрацеребральные кровоизлияния, возникающие при артериальной гипертензии, в 45–85% случаев сопровождаются прорывом крови в желудочки мозга (ЖМ) [1, 2, 3, 11]. При этом обнаруживаются, как показали исследования мозга в секционных случаях, дефекты стенок ЖМ в виде «рваных» отверстий в них различной величины. Выявляются, как правило, 1 или 2–3 отверстия в разных участках ЖМ, чаще всего в латеральной и нижней частях переднего рога бокового желудочка. В некоторых случаях, особенно при массивных кровоизлияниях, стенки ЖМ, часто боковые, разрушаются на значительном протяжении. Вблизи места прорыва обнаруживается резко выраженный отек ткани мозга. В отдельных секционных случаях повторного инсульта выявляется соединительнотканый рубец и сидерофаги в стенке бокового или третьего желудочка на месте прорыва крови в них, состоявшегося при первом инсульте [1, 7]. Таким образом, на секционном материале удалось обнаружить изменения в области ЖМ при прорыве крови в них либо в ранние сроки инсульта, либо после перенесенного инсульта, в значительно отдаленном периоде времени.

Работ, посвященных оценке морфологических изменений, наблюдающихся в ЖМ в разные сроки при прорыве крови в них, в отечественных публикациях нами не найдено, в зарубежной литературе имеются лишь единичные сообщения, появившиеся в последние годы [4, 12, 13, 16].

Следует также особо подчеркнуть, что при прорыве крови в ЖМ в 30% случаев наблюдается закрытие свертками крови отверстий Монро, Лушки и Мажанди, а также водопровода мозга и его апертур, что нарушает циркуляцию цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) и приводит к развитию острой обструктивной гидроцефалии [2, 3]. Наблюдается также увеличение объема ЖМ, что подтвердили и экспериментальные исследования [12, 13]. Попадание крови в подпаутинное пространство через отверстия Лушки и Мажанди еще более усиливает нарушение циркуляции и резорбции ЦСЖ. Воздействие продуктов распада форменных элементов крови на стенки ЖМ в условиях повышенного интравентрикулярного давления увеличивает проницаемость эпендимы и приводит к проникновению ЦСЖ в ткань мозга в количестве, превышающем норму [7], что обуславливает развитие гидроцефалического отека его. Продукты распада форменных элементов крови в подпаутинном пространстве нередко вызывают спазм экстрацеребральных артерий и нарушения мозгового кровообращения. Суммарный эффект всех этих нарушений может крайне неблагоприятно сказаться на течении и прогнозе геморрагического инсульта.

До недавнего времени отсутствовали эффективные способы предотвращения или снижения отрицательного воздействия крови, проникшей в ЖМ, на их стенки, сосудистые сплетения, ткань мозга и на циркуляцию ЦСЖ. С середины 90-х годов при прорывах крови в желудочковую систему начали использоваться фибринолитики, которые с целью ускорения лизиса крови [18] вводились в ЖМ через катетеры. Фибринолитики урокиназа, тканевой активатор плазминогена, являющиеся ферментами, превращают плазминоген в плазмин [5, 6,

8, 9]. Плазмин осуществляет деградацию фибрина до растворимых фрагментов небольших размеров, позволяющих не нарушать проходимость катетеров при проведении наружного вентрикулярного дренирования. Наружное вентрикулярное дренирование с внутривентрикулярным введением фибринолитиков обеспечивает более благоприятное течение послеоперационного периода за счет быстрого растворения (лизиса) свертков крови в желудочках мозга, устранения гипертензии и продуктов распада крови.

До настоящего времени отсутствуют сведения о состоянии сосудистых сплетений и стенок ЖМ при попадании крови в них и о влиянии некоторых медикаментов, в частности, фибринолитического препарата, тканевого активатора плазминогена, известного под названием «Актилизе», на кровь, находящуюся в ЖМ, и на указанные структуры, что затрудняет обоснование методов лечения интрацеребральных кровоизлияний, осложненных прорывом крови в ЖМ. Экспериментальной моделью прорыва крови в ЖМ может послужить, с определенной степенью допущения, введение крови в них через канюлю с использованием стереотаксического метода.

Цель настоящего исследования – установить в условиях эксперимента характер и степень морфологических изменений стенок ЖМ и сосудистых сплетений в различные сроки после введения крови в желудочки и определить эффективность «Актилизе».

Материалы и методы

Эксперимент проведен на 30 белых крысах-самцах линии Вистар (возраст 5–6 мес., масса тела 250–300 г), разделенных на две группы по 15 животных в каждой. Животным первой, контрольной группы в боковой ЖМ вводили 40 мкл свежей собственной крови, взятой из хвостовой вены, и 10 мкл физиологического раствора. Животным второй, опытной группы в боковой ЖМ вводили 40 мкл такой же крови и 10 мкл «Актилизе». Расчет вводимой крови в ЖМ проводился в соответствии с методикой, предложенной F. Nafz [14] для экспериментальной модели интрацеребральной гематомы у крыс. Расчетная доза «Актилизе» определялась из соотношения 1 : 4, что используется для определения дозы лекарства при его применении в клинической практике [8]. Введение крови в боковую ЖМ животных осуществлялось с помощью стереотаксического аппарата (рис. 1) шприцем типа «Гамилтон» через верхнелатеральную (конвексимальную) поверхность полушария мозга (рис. 2) под общим наркозом (тиопентал натрия, 45 мг/кг). Координаты точек введения крови: от Bregma AP –0,8 мм, Lat. +1,5 мм, Vert. 3,6 мм [15] (рис. 3). После введения крови кожу зашивали непрерывным швом. В каждой группе забивали по 3 крысы через 2, 5, 7, 14 и 21 сутки, их головной мозг фиксировали в 10%-ном растворе формалина, затем из полушарий каждого мозга вырезали участки во фронтальной плоскости со стенками боковых ЖМ и их сосудистыми сплетениями, которые заливали в парафин. Из полученных парафиновых блоков приготавливали срезы толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином по методам ван Гизона, Перьяса и Шуенинова (для выявления, соответственно, коллагеновых волокон, гемосидерина и фибрина). Микроскопически исследовались: эндимиа и субэндимальное белое вещество боковых ЖМ, эпителии,

стромы и сосуды ворсин сосудистых сплетений, форменные элементы крови и другие клетки, обнаруженные на поверхностях эндимиа и ворсин сосудистого сплетения, а также свободно лежащие в полостях ЖМ. Обнаруженные при микроскопическом исследовании изменения фотографировали с помощью микроскопа LEICA DMLS, снабженного автоматической фотосистемой Leica MPS 30.

Результаты

На 2-е сутки у всех трех животных первой (контрольной) группы обнаружены некроз и десквамация эпителия сосудистых сплетений, у двух из них – полнокровие сосудов



рис. 1: Общий вид операции стереотаксического введения канюли в мозг крысы

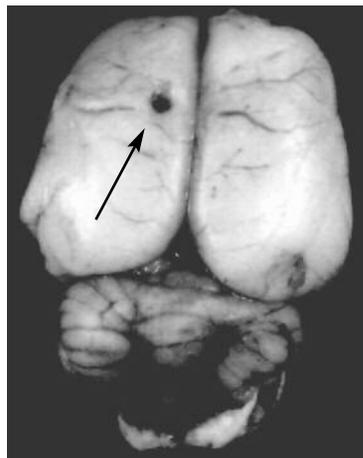


рис. 2: Округлый дефект (стрелка) на верхнелатеральной конвексимальной поверхности полушария мозга крысы, оставшийся после введения канюли. Макрофото

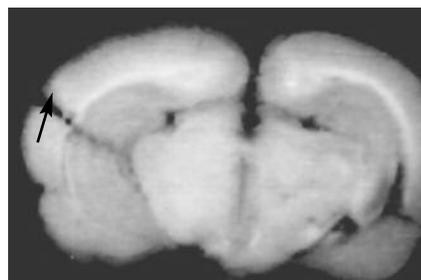


рис. 3: Дефект (стрелка), оставшийся в ткани мозга после введения канюли в боковой желудочек мозга крысы. Фронтальный разрез мозга. Макрофото

сосудистого сплетения и у одного – тромбоцитарные агрегаты и гемолизированные уменьшенные и увеличенные в размерах эритроциты на поверхности ворсин.

В эндиме обнаружены следующие изменения: отсутствие ресничек у части эндимоцитов у всех трех крыс, очаговая десквамация некротизированных эндимоцитов у двух и гемолизированные эритроциты на поверхности эндимы у одной (рис. 4 А). У всех трех крыс выявлен отек субэндимального белого вещества. У одной крысы обнаружены единичные митозы в клетках эпителия ворсин сосудистого сплетения.

На 5-е сутки у двух из трех крыс обнаружены тромбоцитарные агрегаты и измененные эритроциты на поверхности эпителия ворсин сосудистых сплетений и на поверхности эндимоцитов. Десквамации эндимоцитов ни у одной из крыс не выявлено, однако у всех обнаружено отсутствие ресничек эндимоцитов. У одной крысы на поверхности эндимы выявлены скопления конглоutinированных эритроцитов, тромбоцитов и десквамированных эндимоцитов в виде конгломератов, не содержащих фибрина. У двух из трех крыс выявлен субэндимальный отек. В сосудистых сплетениях у двух из трех крыс обнаружены некроз и десквамация эпителия, а также полнокровие сосудов ворсин.

На 7-е сутки обнаружены гемолизированные эритроциты на поверхности ворсин у всех трех крыс и на поверхности эндимоцитов у двух из них. У всех животных выявлены также отек субэндимального белого вещества, некроз и десквамация эпителия сосудистых сплетений (рис. 4 Б), у двух из них – скопления тромбоцитов и измененных эритроцитов в виде агрегатов, не содержащих фибрина, на поверхности ворсин. У всех трех крыс выявлена утрата ресничек эндимоцитов, у одной – десквамация эндимоцитов и у одной – вакуолизация цитоплазмы эндимоцитов.

На 14-е сутки у одной из крыс выявлены некроз и десквамация клеток эпителия сосудистых сплетений. У одной обнаружена вакуолизация клеток эпителия ворсин. В полостях ЖМ у всех животных найдены гемолизированные

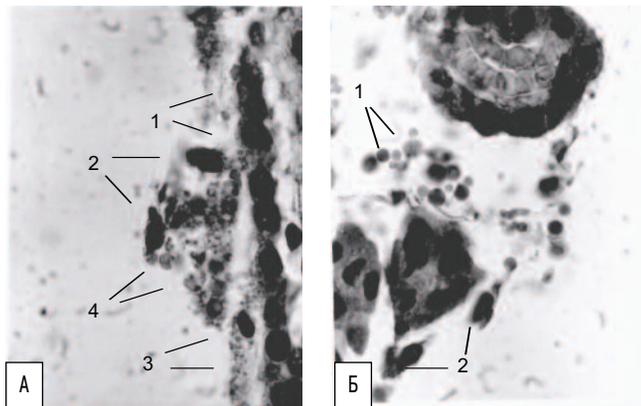


рис. 4: Изменения эндимы и сосудистого сплетения бокового желудочка мозга крыс контрольной группы

А – эндимоциты, лишённые ресничек (1), десквамированные эндимоциты (2), тромбоциты (3) и гемолизированные эритроциты (4) на поверхности эндимы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1000$. Б – гемолизированные и уменьшенные в размере эритроциты (1) и некротизированные и десквамированные клетки эпителия сосудистого сплетения (2). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1000$.

эритроциты, которые располагались как на поверхности эндимоцитов и на поверхности эпителия сосудистых сплетений, так и между их ворсинами (рис. 4 Б). У двух крыс наряду с гемолизированными эритроцитами выявлены скопления тромбоцитов в виде агрегатов, не содержащих фибрина, на поверхности ворсин. У одной обнаружены отек субэндимального белого вещества и полнокровие сосудов сосудистого сплетения.

На 21-е сутки у всех животных отсутствовали описанные выше морфологические изменения боковых ЖМ и сосудистых сплетений. Лишь у одного были выявлены единичные гемолизированные эритроциты на поверхности эндимоцитов и эпителия сосудистого сплетения. Таким образом, на 21-е сутки произошла практически полная элиминация форменных элементов крови из боковых ЖМ. Изменения эндимоцитов, эпителия сосудистых сплетений, а также субэндимального белого вещества не выявлены.

В опытной группе крыс на 2-е сутки у всех трех животных обнаружены некроз и десквамация эпителия сосудистых сплетений, выраженное полнокровие сосудов их ворсин, тромбоцитарные агрегаты и измененные эритроциты с явлениями гемолиза на поверхности эпителия ворсин и на поверхности эндимы, утрата ресничек многих эндимоцитов, очаговая десквамация некротизированных эндимоцитов, отек и спонгиозные изменения субэндимального белого вещества (рис. 5 А), которые, как и явления гемолиза эритроцитов, носили более выраженный характер, чем у животных контрольной группы. У одной из крыс обнаружены единичные митозы в эпителии сосудистых сплетений (рис. 5 Б) и в эндиме.

На 5-е сутки все перечисленные выше изменения выявлены у двух из трех крыс, у одной из них не было обнаружено очаговой десквамации некротизированных эндимоцитов и клеток эпителия сосудистых сплетений при наличии всех остальных изменений.

На 7-е сутки еще более выраженными были явления гемолиза эритроцитов, лежащих на поверхности ворсин и на поверхности эндимоцитов у всех трех крыс. Остальные изменения, включая умеренно выраженное полнокровие сосудов сосудистых сплетений (в отличие от аналогичного срока в контрольной группе), были обнаружены также у всех животных. В участках резкого выраженного отека субэндимального белого вещества выявлялись отчетливые изменения эндимоцитов в виде увеличения объема клеток и их ядер, резкого просветления ядер и цитоплазмы с вакуолизацией последней, а также утраты клетками ресничек. Обнаруживались и спонгиозные изменения субэндимального белого вещества с большим количеством отечной олигодендроглии. Кроме того, у одной из крыс выявлены митозы в эндиме, отдельные эндимоциты находились на поверхности эндимы.

На 14-е сутки ни у одной крысы не было обнаружено десквамации измененных эндимоцитов, а также гемолизированных эритроцитов на поверхности эндимоцитов. Однако, в отличие от этих же сроков в контрольной группе, у всех крыс были выявлены некроз и десквамация клеток эпителия сосудистых сплетений. У всех крыс наряду с гемолизированными эритроцитами обнаружены также

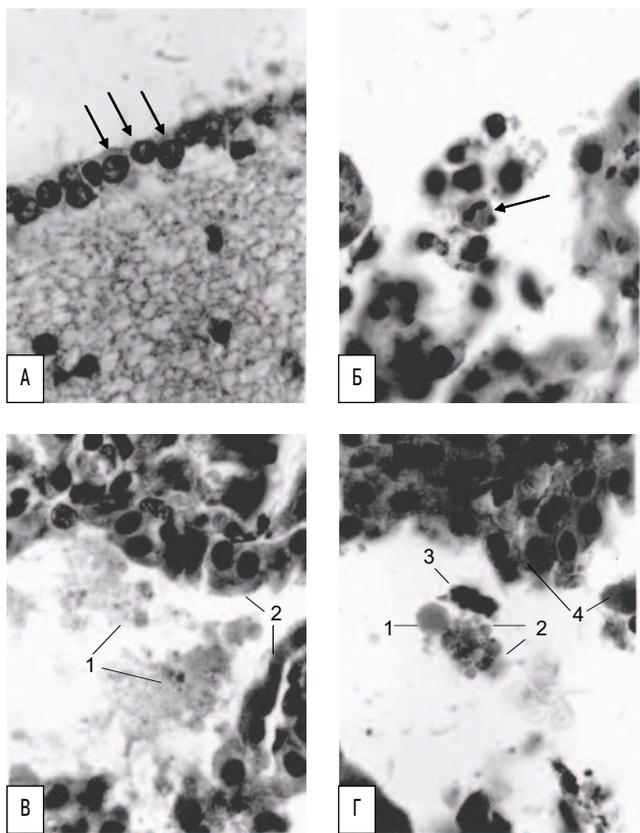


рис. 5: Изменения эпендимы и сосудистого сплетения бокового желудочка мозга крыс опытной группы

А – отсутствие ресничек эпендимцитов (стрелки), отек и спонгиозные изменения субэпендимального белого вещества. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1000$. Б – десквамированные клетки эпителия сосудистого сплетения, среди них митоз (стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1000$. В – скопление тромбоцитов и гемолизированных увеличенных эритроцитов в виде агрегатов (1) между ворсинками сосудистого сплетения (2). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1000$. Г – резко увеличенные (1) и уменьшенные (2) гемолизированные эритроциты и некротизированная и десквамированная клетка эпителия (3) между ворсинками сосудистого сплетения (4). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1000$.

скопления тромбоцитов в виде агрегатов, не содержащих фибрин, на поверхности ворсин и между ними (рис. 5 В). У двух из трех крыс выявлен отек субэпендимального белого вещества, который, в отличие от более ранних сроков, носил менее выраженный характер, как и полнокровие сосудов сосудистого сплетения.

На 21-е сутки, как и в контрольной группе, отсутствовало большинство из описанных выше изменений. Однако у всех крыс были обнаружены умеренно выраженные отек субэпендимального белого вещества и полнокровие сосудов ворсин сосудистых сплетений. У двух животных выявлены единичные гемолизированные эритроциты на поверхности эпендимы. У одной – скопления тромбоцитов, а также гемолизированные увеличенные и уменьшенные эритроциты и единичные некротизированные и десквамированные клетки эпителия сосудистого сплетения между их ворсинками (рис. 5 Г), причем эти эритроциты имели значительно большую величину по сравнению с такими же эритроцитами у животных контрольной группы.

Обсуждение

Результаты морфологического исследования боковых ЖМ крыс в разные сроки после введения в них крови вместе с физиологическим раствором (контрольная группа) и крови вместе с ТАП (опытная группа) показали, что при введении крови в боковые ЖМ уже со 2-х суток возникают изменения в эпендиме и сосудистых сплетениях в виде некроза и десквамации их клеток и появления в них митозов как в контрольной, так и в опытной группах животных. Обнаружилось также, что степень выраженности этих изменений к 7-м суткам возросла. Кроме того, к 7-м суткам у животных контрольной и опытной групп усилились также явления гемолиза эритроцитов. К этому же сроку на поверхностях ворсин сосудистых сплетений и между ними были обнаружены агрегаты, состоящие из тромбоцитов и эритроцитов, а также усилился отек субэпендимального белого вещества. Все эти изменения у животных опытной группы появились раньше и имели более выраженный характер, чем у животных контрольной группы.

К 21-м суткам введенная кровь в ЖМ у большинства животных обеих групп полностью элиминировалась, деструктивные изменения в эпендиме и эпителии сосудистых сплетений не обнаруживались, отек субэпендимального белого вещества стал менее выраженным, а у животных контрольной группы уже не выявлялся.

На основании полученных данных установлено, что введение в боковой ЖМ крови и тканевого активатора плазминогена («Актилизе») привело к более быстрому уменьшению ее объема по сравнению с контролем. Эти данные согласуются с результатами, полученными другими авторами [12, 13, 17, 19], которые изучали влияние фибринолитических средств на скорость лизиса свертков крови в ЖМ экспериментальных животных. Однако результаты нашего исследования показали, что при использовании «Актилизе» усиливается отек субэпендимального белого вещества. Ряд авторов [10, 17, 19, 20] также сообщали об усилении отека ткани мозга при применении фибринолитических средств и объясняли этот эффект их токсическими свойствами. Возможно, этот факт связан с активацией тромбина, которая наблюдается при использовании этих средств. Как известно, тромбин усиливает проницаемость стенок сосудов, что и приводит к усилению отека ткани мозга [10, 17, 21].

Таким образом, проведенные нами экспериментальные исследования показали, что кровь, введенная в ЖМ, оказывает крайне неблагоприятное воздействие на эпендиму, сосудистые сплетения и субэпендимальное белое вещество. Установлено также, что такой тканевой активатор плазминогена, как «Актилизе», усиливает отек белого вещества, что требует использования фармакологических средств, блокирующих отрицательное влияние тканевого активатора плазминогена при сохранении самого важного его свойства, а именно – ускорения лизиса крови в желудочках мозга. Полученные данные в целом расширяют представления о спектре и сроках отрицательного воздействия крови на структуры ЖМ и субэпендимальное белое вещество. В дальнейшем необходимы поиски причин и механизмов этого воздействия. Полученные данные могут также послужить обоснованием осуществления нейрохирургических мероприятий, направленных на удаление крови из ЖМ в кратчайшие сроки от начала инсульта.

Список литературы

1. Колтовер А.Н., Верецагин Н.В., Людковская И.Г. и др. Патологическая анатомия нарушений мозгового кровообращения. М.: Медицина, 1975.
2. Шишов А.В., Добжанский Н.В., Пирадов М.А. Современные подходы к хирургическому лечению спонтанных кровоизлияний в мозг. В кн.: З.А. Суслина (ред.). Очерки ангионеврологии. М.: Атмосфера, 2005: 222–230
3. Шишов А.В. Супратенториальные гипертензивные внутримозговые кровоизлияния, осложненные острой обструктивной гидроцефалией и прорывом крови в желудочковую систему. Дисс... докт. мед. наук. М., 2006.
4. Andaluz N., Zuccarello M., Wagner K.R. Experimental animal models of intracerebral hemorrhage. *Neurosurg. Clin. N. Am.* 2002; Jul., 13 (5): 385–393.
5. Broderick J., Connolly S., Feldmann E. et al. Guidelines for the Management of Spontaneous Intracerebral Hemorrhage in Adults: 2007 Update: A Guideline From the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council, High Blood Pressure Research Council, and the Quality of Care and Outcomes in Research Interdisciplinary Working Group: The American Academy of Neurology affirms the value of this guideline as an educational tool for neurologists. *Circulation* 2007; 116: 391–413.
6. Engelhard H.H., Andrews C.O., Slavin K.V. et al. Current management of intraventricular hemorrhage. *Surg. Neurol.* 2003; 60: 15–21.
7. Graham D.I., Lantos P.I. (eds). *Greenfield's Neuropathology*. 6-th ed. London, 1997.
8. Findlay J.M., Grace M.G.A., Weir B.K.A. Treatment of intraventricular hemorrhage with tissue plasminogen activator. *Neurosurgery* 1993; 32: 941–947.
9. Febles Garcia P., Conde Garcia J., Lourido Garcia J. et al. Fibrinolytic treatment of cerebral intraventricular hemorrhage. *Rev. Neurol.* 2001; 33 (6): 544–547.
10. Kano T., Harada T., Katayama J. Infiltration of tissue plasminogen activator through cerebral vessels: evaluation using a rat thromboembolic stroke model. *Acta Neurochir. Suppl.* 2003; 86: 167–168.
11. Kase C.S., Caplan L.R. *Intracerebral hemorrhage*. London: Butterworth-Heinemann, 1994.
12. Mayfrank L., Kissler J., Raoofi R. et al. Ventricular dilatation in experimental intraventricular hemorrhage in pigs. *Stroke* 1997; 28: 141–148.
13. Mayfrank L., Kim Y., Kissler J. et al. Morphological changes following experimental intraventricular haemorrhage and intraventricular fibrinolytic treatment with recombinant tissue plasminogen activator. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 2000; 5 (100): 561–567.
14. Naft F., Jenkins A., Mendelow A. et al. Early hemodynamic changes in experimental intracerebral hemorrhage. *J. Neurosurg.* 1986; 65: 697–703.
15. Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2-d ed. New-York: Academic Press, 1986.
16. Ripoll M.A., Raininko R. Experimental intracerebral and subarachnoid intraventricular haemorrhages. *Acta Radiol.* 2002; 43: 464–473.
17. Rohde V., Rohde I., Thiex R. et al. Fibrinolysis therapy achieved with tissue plasminogen activator and aspiration of the liquefied clot after experimental intracerebral haemorrhage: rapid reduction in hematoma volume but intensification of delayed edema formation. *J. Neurosurg.* 2002; 97(4): 954–962.
18. Thiex R., Weis J., Krings T. et al. Addition of intravenous N-methyl-D-aspartate receptor antagonists to local fibrinolytic therapy for the optimal treatment of experimental intracerebral hemorrhages. *J. Neurosurg.* 2007; 106: 314–320.
19. Thiex R., Kuker W., Jungbluth P. et al. Minor inflammation after surgical evacuation compared with fibrinolytic therapy of experimental intracerebral hemorrhages. *Neurol. Res.* 2005; 27: 493–498.
20. Thiex R., Kuker W., Muller H. et al. The long-term effect of recombinant tissue-plasminogen – activator(rt-PA) on edema formation in a large- animal model of intracerebral hemorrhage. *Neurol Res.* 2003; 25: 254–262.
21. Xi G., Keep R.F., Hoff J.T. Pathophysiology of brain edema formation. *Neurosurg. Clin. N. Am.* 2002; 13: 371–383.

Morphological changes of the choroids plexus and ventricular walls of the cerebrum following experimental intraventricular haemorrhage

A.V. Shirshov¹, T.S. Gulevskaya¹, V.A. Morgunov¹, V.G. Kucheryanu²

¹Research Center of Neurology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

²Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Key words: Experimental intraventricular haemorrhage, morphological examination of the brains, recombinant tissue plasminogen activator.

We assessed the morphological changes induced by intraventricular haemorrhage (IVH) and investigated the effects of intraventricular fibrinolytic treatment following IVH. The experiment was performed in 30 Wistar rats. In first (control) group (15 rats) animals received intraventricular injection of 40 microl autologous blood with 10 microl normal saline. In second group (15 rats) 40 microl autologous blood with 10 microl t-PA recombinant tissue plasminogen activator(t-PA) was injected in ventri-

cular of the animals. Morphological examination of the brains were carried out 2 days and 21 days following IVH. Marked losses of the ependymal covering of the ventricular walls, choroids plexus were founded in both groups. The results indicate that intraventricular administered t-PA significantly enhanced the lysis of intraventricular blood clots, but r-PA (in second group) promoted delayed periventricular white matter edema formation (more 21 days).