

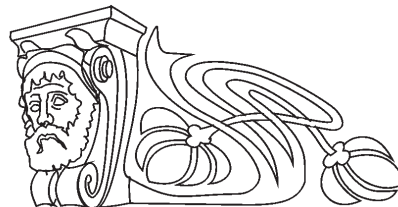


УДК 612.12/18:599.323.4

ХАРАКТЕРИСТИКА ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ МОЗГОВОГО КРОВОТОКА ПРИ РАЗВИТИИ ИНСУЛЬТА У ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС С ПОМОЩЬЮ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

С. С. Синдеев, В. В. Лычагов, О. А. Бибикова, М. В. Уланова,
А. С. Гекалюк, В. И. Разубаева, И. М. Агранович, Л. Аль Хассани,
Ф. Аль-Фатле, В. В. Тучин, О. В. Семячкина-Глушковская

Саратовский государственный университет
E-mail: sbw@bk.ru



Развитие в динамике стресс-индуцированных интракраниальных геморрагий сопровождается соответствующими изменениями в артериальном и венозном мозговом кровотоке. Латентные стадии геморрагического инсульта характеризуются расширением церебральных вен, снижением венозного оттока из полости черепа и развитием венозной недостаточности. Артериальный кровоток при этом изменяется незначительно. Разрывы сосудов мозга протекают на фоне прогрессирования указанных патологических изменений в кровотоке мозга с последующим формированием церебральной гипотензии. Оценка параметров венозного мозгового кровотока является информативной платформой для прогнозирования риска развития геморрагического инсульта при развитии артериальной гипертензии.

Ключевые слова: мозговой кровоток, гипертония, внутричерепные геморрагии.

Characteristics of Pathological Changes in Cerebral Blood Flow Following Stroke in Hypertensive Rats with Using of Optical Coherent Tomography

S. S. Sindeev, V. V. Lychagov, O. A. Bibikova,
M. V. Ulanova, A. S. Gekaluk, V. I. Razubaeva,
I. M. Agranovich, L. Al Hassani, F. Al-Fatle,
V. V. Tuchin, O. V. Semyachkina-Glushkovskaya

Development in dynamics of stress-related intracranial hemorrhage is accompanied by appropriate changes in arterial and venous blood flow in the brain. Masked stage of hemorrhagic stroke is characterized by dilation of cerebral venous, decrease in venous blood outflow and development of venous insufficiency. In this period, cerebral blood flow in arteries are changed not significantly. Rupture of cerebral vessels is associated with progression of above indicated pathological changes in cerebral blood flow following cerebral hypotension. Assessment of parameters of cerebral venous blood flow is an informative platform for prognosis of risk for hemorrhagic stroke during development of hypertension.

Key words: cerebral blood flow, hypertension, intracranial hemorrhages.

Введение

Стресс играет ключевую роль в развитии острых интракраниальных геморрагий (ИГ) [1, 2]. В 1988 г. Каплан [2] впервые указал на высокое артериальное давление как ведущий

фактор в развитии геморрагических инсультов. Предполагается, что патологические сдвиги в ауторегуляции мозгового кровообращения являются ключевым механизмом, лежащим в основе развития разрывов церебральных сосудов на фоне хронического высокого артериального давления [2, 3], однако остается неясным, какие именно показатели мозгового кровотока (МК) могут быть надежными маркерами риска развития ИГ, мало изучены отдельные характеристики артериального и венозного кровотока при ИГ [4].

Наиболее часто для измерения локального кровотока используют автордиографию. Хотя автордиографические методы позволяют получать трёхмерное пространственное изображение, они не дают информации о динамике изменений МК [5]. Таким образом, исследования динамики патологических изменений в сосудистой системе головного мозга не могут быть выполнены с использованием этих методов. Магнитно-резонансная томография [6, 7] и позитронно-эмиссионная томография являются первыми визуализационными методами для оценки объёма геморрагий, предоставляющими пространственные карты МК [8–12]. В то же время эти методы сильно ограничены в пространственной и временной разрешающей способности. Недавно была применена лазерная спекл-визуализация [13] для измерения МК с высоким пространственно-временным разрешением [14]. Однако трудно соотносить время корреляции (в лазерной спекл-визуализации) или уширение спектра (в лазерной доплеровской флоуметрии) с абсолютной скоростью кровотока. И лазерная доплеровская флоуметрия и спекл-визуализация в их современном состоянии обеспечивают двумерную проекцию сосудистой сети. Адекватное сочетание пространственного разрешения (как в глубину, так и в плоскости) и глубина проникновения достигается в ДОКТ



[11], оптической ангиографии или корреляционной ОКТ [13]. Последняя позволяет получать высококачественные трёхмерные изображения сосудистых сетей вследствие эффективного разделения сигналов от статической части образца и движущихся рассеивателей. Эти изображения дают достаточно информации о динамических изменениях мозгового и периферического сосудистого русла в различных физиологических условиях [11, 14, 15].

Целью данного исследования явилось определение роли артериального и венозного кровотока у гипертензивных крыс на различных стадиях развития стресс-индуцированных ИГ с помощью трёхмерной доплеровской оптической когерентной томографии (ДОКТ).

Материалы и методы

Эксперименты проводились на беспородных самцах крыс с массой тела 200–250 г. Все процедуры были выполнены в соответствии с Хельсинской декларацией о проведении экспериментов на животных [16]. Крыс содержали при температуре 25 ± 2 °С, 55% влажности и цикле свет/темнота – 12:12 ч.

Хроническая гипертония рассматривается как основная причина ИГ [17]. Для стимулирования развития гипертонии крысам накладывалась алюминиевая клипса на левую ренальную артерию в соответствии с методикой [18]. Хирургическое вмешательство проводили под ингаляционной анестезией диэтиловым эфиром. Через семь недель после наложения клипс крысы с гипертонией использовались в эксперименте. Для индуцирования ИГ гипертензивных крыс подвергали тяжёлому стрессированию с помощью сочетания иммобилизации в течение 120 мин вместе с громким прерывистым звуком (звуковое давление 120 дБ) [19].

Животным проводилась трепанация черепа в затылочно-теменной области через срединный разрез кожи. С помощью микрохирургической техники удалялась надкостница. Для предотвращения нагревания ткани проводилось непрерывное орошение физиологическим раствором.

Измерение МК проводили у крыс с фиксированной головой под наркозом. Всего в исследовании было включено 17 здоровых крыс (контрольная группа), 14 гипертензивных крыс без ИГ и 14 крыс с ИГ (экспериментальные группы).

Измерения проводились на артериях мозга и сагиттальной вены, которая является поверхностным венозным сосудом с легкоузнаваемой топографией, что делает её хорошим объектом

для оптических измерений. Для мониторинга микроциркуляции в коре использовалась ОКТ система (OCS1300SS; Thorlabs Inc., США) с центральной длиной волны 1325 нм и шириной спектра 100 нм. Продольное разрешение (в воздухе) составило около 12 мкм. Пакет программного обеспечения этой системы ОКТ позволяет восстановить доплеровские ОКТ изображения. доплеровское ОКТ изображение показывает пространственное распределение движущихся частиц и их скорости.

Результаты представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего. Различия между группами оценивались с помощью теста Стьюдента с помощью программы Statistica 10.0. Уровни значимости были установлены на $p < 0,05$ для всех данных.

Результаты и их обсуждение

Мы проанализировали особенности изменений в артериях мозга и сагиттальной вене у гипертензивных крыс на различных этапах развития стресс-индуцированных ИГ, т.е. через 4 ч после стрессирования (латентная стадия без ИГ) и 24 ч (отмечается наличие ИГ). Эти стадии были подтверждены с помощью гистологического исследования ткани головного мозга у крыс [19].

Латентный период развития ИГ (4 ч после окончания стресса) характеризовался значительным изменением в венозном, но не в артериальном МК: диаметр верхнего сагиттального синуса увеличился более значительно у стрессированных крыс, чем у нестрессированных животных ($0,67 \pm 0,03$ мм против $0,37 \pm 0,02$ мм, $p < 0,05$). На рис. 1 показана доплеровская фазовая карта верхней сагиттальной вены крыс (левая и правая ветви) в нормальном состоянии (рис. 1, а) и через 4 ч после стресса (рис. 1, б).

Расслабление верхней сагиттальной вены сопровождалось уменьшением скорости кровотока ($3,01 \pm 0,13$ мм/с по сравнению с $4,98 \pm 0,34$ мм/с, $p < 0,05$), что отражает снижение церебрального венозного оттока.

Диаметр и скорость кровотока артерий головного мозга существенно не изменялись. Например, у здоровых крыс просвет малых церебральных артерий составил $0,12 \pm 0,04$ мм, а скорость кровотока $5,51 \pm 0,09$ мм/с. У стрессированных животных эти показатели составили $0,14 \pm 0,03$ мм и $5,65 \pm 0,95$ мм/с соответственно.

Через 24 ч после стресса у всех крыс наблюдалось развитие ИГ с более выраженным расширением сагиттального синуса. На рис. 2 показано изменение диаметра сагиттального

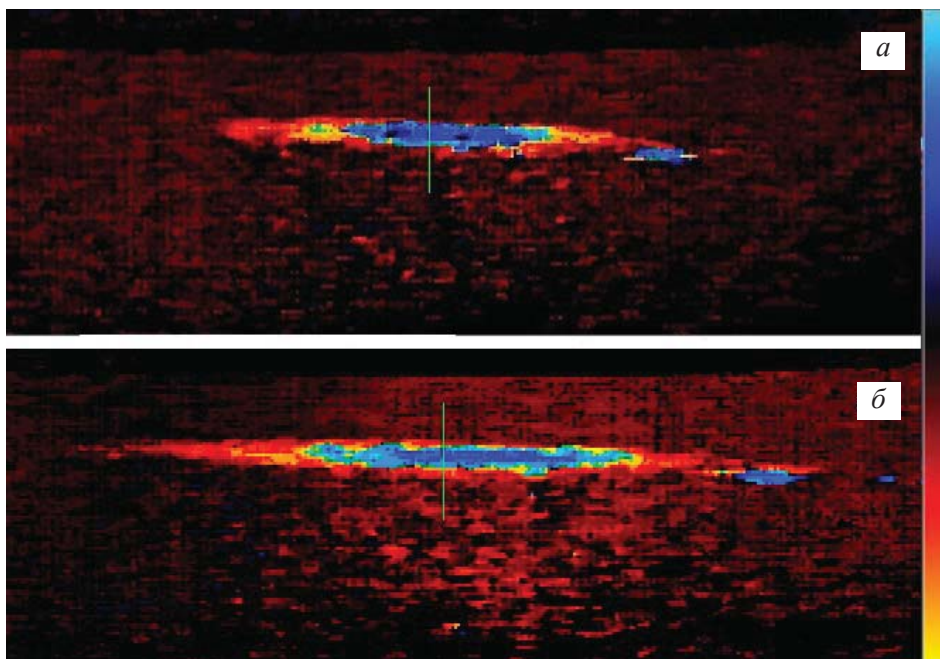


Рис. 1. Фазовая карта верхней сагиттальной вены крыс (левая и правая ветви) в нормальном состоянии (а) и через 4 ч после стресса (б)

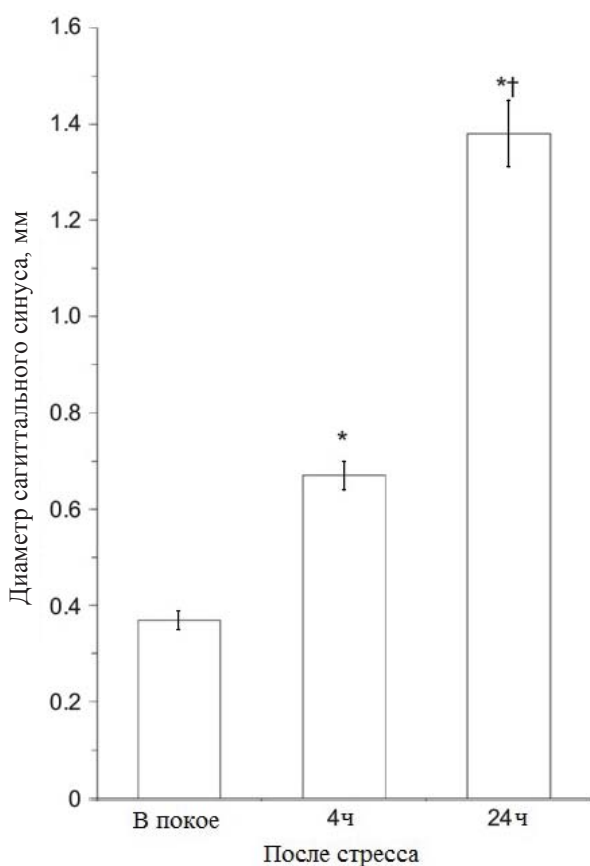


Рис. 2. Изменение диаметра сагиттального синуса у крыс в покое, через 4 и 24 ч после стресса (развитие ИГ), $p < 0.05$: * отн. базальных значений, † отн. группы крыс через 4 ч после стресса

синуса у крыс в покое, через 4 и 24 ч после стресса (развитие ИГ), $p < 0.05$: * отн. базальных значений, † отн. группы крыс через 4 ч после стресса. Диаметр верхнего сагиттального синуса был в 3,7 раза больше у крыс с ИГ по сравнению с контрольной группой ($1,38 \pm 0,07$ мм против $0,37 \pm 0,02$ мм, $p < 0,05$) и был в 2 раза выше по сравнению с показателями стрессированных крыс без ИГ ($1,38 \pm 0,07$ мм против $0,67 \pm 0,03$ мм, $p < 0,05$). Скорость кровотока в сагиттальном синусе снижался у крыс с ИГ по сравнению с крысами без ИГ в 1,4 раза ($2,05 \pm 0,17$ мм/с против $3,01 \pm 0,13$ мм/с, $p < 0,05$) и в 2,4 раза в сравнении с контрольной группой ($2,05 \pm 0,17$ мм/с против $4,98 \pm 0,34$ мм/с, $p < 0,05$). Снижение венозного оттока сопровождалось ухудшением циркуляции в артериях мозга. Так, диаметр малых церебральных артерий в коре увеличился ($0,22 \pm 0,02$ мм против $0,12 \pm 0,04$ мм, $p < 0,05$), а скорость кровотока снижалась ($2,11 \pm 0,03$ мм/с против $5,51 \pm 0,09$ мм/с, $p < 0,05$).

В этом исследовании с использованием трёхмерной ДОКТ мы рассмотрели особенности венозных и артериальных патологических изменений, связанных с разными стадиями развития ИГ у гипертензивных крыс. Результаты показывают, что в латентный период ИГ (первые 4 ч после стресса) характеризуются расширением сагиттального синуса, отражающем нарушения венозного оттока и развитие венозной недостаточности. Другими авторами также было



отмечено снижение в церебральном венозном оттоке на фоне возникновения ИГ [6]. Важно отметить, что латентный период при повреждающем действии сильного стресса на мозговое кровообращение не сопровождается какими-либо изменениями в кровотоке церебральных артерий. Так, между стрессированными крысами без ИГ и здоровыми животными не было никаких существенных различий в диаметре и скорости кровотока в артериальной сети. Поэтому снижение церебрального венозного оттока является первым маркером патологических изменений в головном мозге, что связано с риском развития ИГ.

Ряд исследователей показали, что подавляющее число ИГ преимущественно венозного происхождения [20].

Разрывы сосудов мозга (24 ч после стресса) сопровождаются прогрессирующим увеличением патологических изменений в мозговом кровообращении: диаметр сагиттального синуса увеличивается еще более значительно на фоне дилатации мозговых артерий, что сопровождалось падением скорости кровотока в них, свидетельствуя о развитии внутричерепной гипотензии. Эти результаты согласуются с данными других исследователей, которые показали, что гипотензия и низкое церебральное перфузионное давление сопровождают ИГ [21]. Профилактика церебральной гипотензии является основой терапии на ранних этапах после черепно-мозговых травм [22].

Предполагается, что снижение МК с потерей способности к саморегуляции в цереброваскулярных сосудах ухудшает оксигенацию ткани мозга [23]. У больных с субарахноидальным кровоизлиянием исследователи обнаружили, что падение МК и сатурации кислорода связано с плохим неврологическим состоянием [24]. Прогрессирующее снижение МК отмечалось у пациентов с субарахноидальным кровоизлиянием в течение 3 недель после кровотоечения и снижение кровотока было связано с ухудшением клинической картины [25]. Такие же результаты были получены на основе экспериментальных данных, полученных на животных с ИГ [26]. Таким образом, наши результаты показывают, что снижение церебрального артериального и венозного кровотока связано с тяжестью повреждающего эффекта стресса на гемодинамику головного мозга. Ранняя стадия ИГ характеризуется уменьшением венозного оттока из полости черепа без каких-либо изменений в кровотоке мозговых артерий. Прогрессирование венозной недостаточности у крыс

с ИГ провоцирует вторичные патологические изменения в церебральном артериальном кровообращении через снижение артериального кровотока и последующее развитие церебральной гипотензии. Эти факты позволяют предположить, что стресс-индуцированные изменения в церебральном венозном кровообращении являются более показательным компонентом мозговой гемодинамики для диагностики риска развития ИГ, чем изменения в мозговой артериальной кровотоке.

Мы полагаем, что применение ДОКТ в исследовании МК является эффективным оптическим методом анализа коркового МК в норме и при патологии. Оценка стресс-реактивности церебральных вен с ДОКТ может лечь в основу нового диагностического подхода к анализу патологических изменений в цереброваскулярной циркуляции в связи с ИГ. Наши результаты согласуются с результатами других исследователей, которые продемонстрировали, что быстрая объемная ОКТ поверхности коры головного мозга является важным методом исследования реактивности цереброваскулярных сосудов и может использоваться для количественного измерения состояния сосудов и перфузии [27].

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-02-00526а) и гранта Президента РФ (МД-2216.2014.4).

Список литературы

1. *Ahlqvist J.* Stress-related intracerebral hemorrhage and the water-hammer effect // *Stroke* 2001. Vol. 32, № 1. P. 275 – 278.
2. *Caplan L.* Intracerebral haemorrhage revisited // *Neurology*. 1988. Vol. 38, № 4. P. 624–627.
3. *Girouard H., Iadecola C.* Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and Alzheimer disease // *J. Appl. Physiol.* 2006. Vol. 100 (1). P. 328 – 335.
4. *Ballabh P.* Intraventricular hemorrhage in premature infants : mechanism of disease // *Pediatr.Res.* 2010. Vol. 67(1). P. 1–8.
5. *Sakurada O., Kennedy C., Jehle J., Brown J. D., Carbin G. L., Sokoloff L.* Measurement of local cerebral blood flow with iodo [14C] antipyrine // *Amer. J. Physiol.* 1978. Vol. 234 (1). P. 59–66.
6. *Calamante F., Thomas D. L., Pell G. S., Wiersma J., Turner R.* Measuring cerebral blood flow using magnetic resonance imaging techniques // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1999. Vol. 19(7). P. 701–735.
7. *Hemphill 3rd J. C., Bonovich D. C., Besmertis L., Manley G. T., Johnston S. C.* The ICH score : a simple,



- reliable gradingscale for intracerebral hemorrhage // *Stroke*. 2001. Vol. 32 (4). P. 891–897.
8. Heiss W. D., Graf R., Wienhard K., Löttgen J., Saito R., Fujita T., Rosner R., Wagner R. Dynamic penumbra demonstrated by sequential multitracer PET after middle cerebral artery occlusion in cats // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1994. Vol. 14 (6). P. 892–902.
 9. Fercher A. F., Briers J. D. Flow visualization by means of single-exposure speckle photography // *Opt. Commun.* 1981. Vol. 37(5). P. 326–330.
 10. Dunn A. K., Bolay H., Moskowitz M. A., Boas D. A. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2001. Vol. 21 (3). P. 195–201.
 11. Izatt J. A., Kulkarni M. D., Yazdanfar S., Barton J. K., Welch A. J. In vivo bidirectional color Doppler flow imaging of picoliter blood volumes using optical coherence tomography // *Opt. Lett.* 1997. Vol. 22 (18). P. 1439–1441.
 12. Makita S., Hong Y., Yamanari M., Yatagai T., Yasuno Y. Optical coherence angiography // *Opt. Express* 2006. Vol. 14 (17). P. 7821–7840.
 13. Jonathan E., Enfield J., Leahy M. J. Correlation mapping method for generating microcirculation morphology from optical coherence tomography (OCT) intensity images // *J. Biophotonics* 2011. Vol. 4 (9). P. 583–587.
 14. Wang R. K., Tuchin V.V. Optical coherence tomography – light scattering and imaging enhancement // *Handbook of coherent-domain optical methods*. 2010. Vol. 2. 357 p. 2nd ed. N.Y. : Springer-Verlag, 2013. P. 665–742.
 15. Srinivasan V. J., Sakadžić S., Gorczynska I., Ruvinskaya S., Wu W., Fujimoto J. G., Boas D. A. Quantitative cerebral blood flow with optical coherence tomography // *Opt. Express*. 2010. Vol. 18(3). P. 2477–2494.
 16. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Institute for Laboratory Animal Research, Division on Earth and Life Studies, National Research Council of the National Academies. Guide for the care and use of laboratory animals. 8th ed. Washington : The National Academies Press, 2011. URL: <http://oacu.od.nih.gov/regs/guide/guide.pdf> (accessed: 28 February 2013).
 17. Shah Q. A., Qureshi A. I. Acute hypertension in intracerebral hemorrhage – pathophysiology and management // *Eur. Neurol. Rev.* 2006. 2. P. 86 – 92.
 18. Пат. 68280 РФ. Приспособление для моделирования экспериментальной почечной гипертензии / Семякина-Глушковская О. В., Анищенко Т. Г.; заявл. 2007128705 от 25.07.2007; опубли. 20.09.2007. Бюл. № 32.
 19. Романова Т. Способ моделирования мозговых кровотоков // *Патол. физиология*. 1989. № 3. С. 80–81.
 20. Purves M. J. The physiology of cerebral circulation. L. : Cambridge Univ. Press, 1972.
 21. Di Gennaro J. L., Mack C. D., Malakouti A., Zimmerman J. J., Armstead W., Vavilala M. S. Use and effect of vasopressors after pediatric traumatic brain injury // *Dev. Neurosci.* 2010. Vol. 32, № 5–6. P. 420–430.
 22. Sookplung P., Siriussawakul A., Malakouti A., Sharma D., Wang J., Souter M. J., Chesnut R. M., Vavilala M. S. Vasopressor use and effect on blood pressure after severe adult traumatic brain injury // *Neurocrit. Care*. 2011. Vol. 15(1). P. 46–54.
 23. Hoffman W. E., Wheeler P., Edelman G., Charbel F. T., Torres N. J., Ausman J. I. Hypoxic brain tissue following subarachnoid hemorrhage // *Anesthesiology*. 2000. Vol. 92(2). P. 442–446.
 24. Kiening K. L., Schneider G. H., Bardt T. F., Unterberg A. W., Lanksch W. R. Bifrontal measurements of brain tissue-PO₂ in comatose patients // *Acta. Neurochir. Suppl.* 1998. Vol. 71. P. 172–173.
 25. Meyer C. H., Lowe D., Meyer M., Richardson P. L., Neil-Dwyer G. Progressive change in cerebral blood flow during the first three weeks after subarachnoid hemorrhage // *Neurosurgery*. 1983. Vol. 12(1). P. 58–76.
 26. Jiang Y., Wu J., Keep R. F., Hua Y., Hoff J.T., Xi G. Hypoxia-inducible factor-1alpha accumulation in the brain after experimental intracerebral hemorrhage // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2002. Vol. 22(6). P. 689–696.
 27. Srinivasan V. J., Jiang J. Y., Yaseen M. A., Radhakrishnan H., Wu W., Barry S., Cable A. E., Boas D. A. Rapid volumetric angiography of cortical microvasculature with optical coherence tomography // *Opt. Lett.* 2010. Vol. 35(1). P. 43–45.