

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра физиологии человека и животных

**Гипоксия как маркер развития мозгового геморрагического состояния у
новорожденных крыс**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4-го курса 421 группы

Направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Гасанбековой Сабины Александровны

Научный руководитель

ассистент кафедры физиологии

человека и животных

_____ Е.М.Зинченко

Зав.кафедрой физиологии человека

и животных, д.б.н., доцент

_____ О.В. Семякина-Глушковская

Саратов 2016

Введение

В связи с постоянным ростом больных с диагнозом острая сосудистая патология, термин инсульт стал приобретать не только медицинское значение, но и социальное, ввиду увеличения случаев инвалидности и смертельных исходов. Согласно данным, полученным от всемирной организации здравоохранения, в так называемую группу риска попадают люди в возрасте 60-75 лет. В возрасте от 50 лет около 70% пациентов, перенесших инсульт, остаются инвалидами, которые в дальнейшем не могут обходиться без посторонней помощи.

В возникновении критически острого состояния организма важную роль играет гипоксия, данное утверждение сформулировано современными реаниматологами и неврологами.

Большой процент встречаемости инсульта наблюдается также у новорожденных. Инсульт обусловлен нарастающей частотой интракраниальных осложнений поздней геморрагической болезни новорожденных, которые проявляются высокой инвалидизацией (более 50%) и летальностью (15-20%) пациентов.

Гипоксия тканей может развиваться даже при довольно значительном сердечном выбросе, оксигенации крови, давлении. Важно знать, что церебральная и системная гипоксия определяют характер лечения, а также его прогнозируемый исход.

Так как от продолжительности гипоксии и характера ее выраженности зависит возможность появления осложнений и дальнейшее течение заболевания, ее устранение является необходимым и значительным в процессе восстановления функционирования организма.

Таким образом, спонтанное внутримозговое кровоотечение у новорожденных является серьезной проблемой будущего здоровья поколений из-за высокой доли смертности и когнитивной инвалидности у детей, перенесших это заболевание. Поэтому, изучение механизмов, лежащих в основе молчащих патологических процессов, предшествующих и

сопровождаящих кровоизлияния в мозг в неонатальном периоде, является совершенно необходимым.

Цель исследования: изучение кислородной сатурации (SpO₂) тканей мозга у здоровых новорождённых крыс и с интракраниальными геморрагиями.

Задачи исследования:

1. Определить насыщение кислородом мозговой ткани у здоровых новорожденных крыс.
2. Оценить дефицит кислорода мозговой ткани у новорожденных крыс в пред-геморрагический и постгеморрагический периоды.
3. Провести анализ МРТ – изображений мозга экспериментальных животных.

Структура и объем работы: Бакалаврская работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результаты исследования, обсуждения результатов исследований и выводов. Общий объем бакалаврской работы 41 страница с 7 рисунками и 1 таблицей. Список цитированной литературы включает 57 источников, из них 29 отечественных и 28 иностранных.

Основное содержание работы

Целью данного исследования явилось изучение динамики изменений в кислородной сатурации (SpO₂) тканей мозга новорождённых крыс в пред- и пост-геморрагический периоды. Для получения результата было взято 57 новорожденных крыс трехдневного возраста на базе кафедры физиологии человека и животных Саратовского национально исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского.

Животные были разделены на три следующие группы:

1. Контрольная группа (n= 19)- интактные крысы.

2. Группа стрессированных крыс в пред-геморрагический период (n=19).

3. группа стрессированных крыс в пост-геморрагический период (n=19).

Все экспериментальные процедуры проводились в соответствии с принципами руководством по уходу и использованию лабораторных животных.

Для того, чтобы вызвать геморрагический инфаркт головного мозга производили сильный шумовой стресс на крыс (прерывистый звук силой 120 дБ, 370 Гц) в течение 2-х часов по следующему алгоритму (10 сек - звук, 60 сек. - перерыв). Прототипом данной модели явился способ индуцирования мозговых кровотечений у гипертензивных крыс, склонных к инфаркту мозга.

Для измерения процентного насыщения кислородом гемоглобина в пульсирующих артериолах применялся метод пульсоксиметрии. Аппаратная часть установки представляла собой два источника света (красный и инфракрасный свет) и фотодатчик, улавливающий световые волны. Источник света и фотоприёмник располагаются напротив друг друга, так что излучаемый свет проходит через исследуемые биологические ткани.

Сущность метода заключается в том, что, измеряя разницу между количеством света, абсорбируемого во время систолы и диастолы, пульсоксиметр определяет величину артериальной пульсации. Для измерения процентного насыщения использовали формулу соотношения количества HbO₂ к общему количеству гемоглобина, выраженное в процентах:

$$SpO_2 = (HbO_2 / HbO_2 + Hb) \times 100\%,$$

где HbO₂ - насыщенный кислородом гемоглобин,

Hb - общий гемоглобин.

Для получения МРТ-изображения мы использовали томограф ClinScan 7T. Эксперименты проводили под ингаляционным наркозом смеси изофлурана с крысами контрольной группы, а также с животными с предгеморрагическим состоянием (4 часа после стресса) и постгеморрагическим состоянием (24 ч после стресса), каждая группа включает в себя 10 новорожденных крыс.

Режим SWI-предназначен для визуализации венозно-сосудистого изображения. Этот режим является чувствительным к локальным полям неоднородности венозной крови.

Результаты были представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего. Межгрупповые различия были оценены с помощью критерия Манна-Уитни и ANOVA-2. Различия считались достоверными при критерии $p < 0,05$ для всех результатов.

1 Оценка насыщения кислородом мозговой ткани у здоровых новорожденных крыс и у крыс в разные периоды развития интракраниальных геморрагий методом пульсоксиметрии

Для того чтобы лучше понять роль гипоксии в развитии мозговых кровотечений в неонатальный период мы изучали уровень кислородной сатурации (SpO₂) мозга у новорожденных крыс.

Так, у интактных животных уровень кислородной сатурации тканей мозга составил 96 % (рисунок 1), что соответствует нормальным значениям.

Пред-геморрагический период (2-4-6-8 часов после стресса) характеризовался постепенным снижением уровня SpO₂. На рисунке видно, что уже через 2 часа после звукового стресса наблюдалось снижение насыщения тканей кислородом на 16 % ($p < 0,05$).

Далее кислородное насыщение тканей продолжало снижаться на протяжении всего времени до образования геморрагий с максимальным падением SpO₂ на 4-8 часах в латентный период.

Так, через 4 часа после отмены стресса кислородное насыщение снизилось на 27 %, через 6 часов – на 28%, через 8 часов – на 30 %. ($p < 0,05$). В пост-геморрагический период (24 часа после стресса) уровень SpO₂ снизился на 27% ($p < 0,05$) и составил 69%.

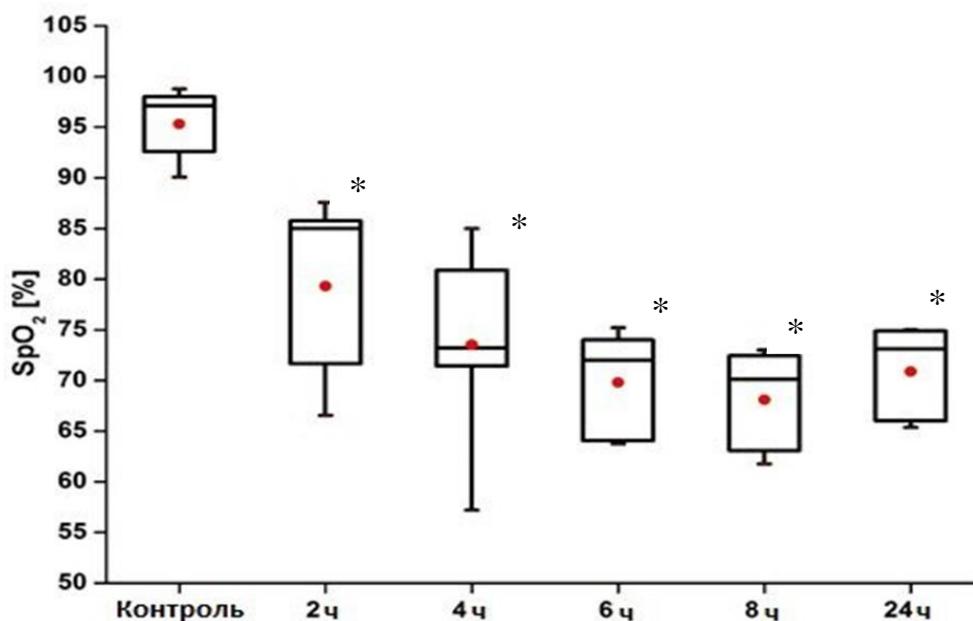


Рисунок 1 - Время-зависимые изменения в кислородной сатурации тканей мозга у новорожденных крыс в пред- (через 2-4-6-8 ч после стресса) и пост- (через 24 ч после стресса) геморрагический периоды, $p < 0,05$ относительно: * – контроля.

В ходе исследования было рассчитано процентное соотношение животных в зависимости от уровня оксигенации мозговой ткани.

Уже сразу после звукового стресса не было обнаружено ни одного животного с нормальными значениями оксигенации, у всех выявлена гипоксемия различной тяжести. Притом, для большинства новорожденных крыс характерно значение в пределах от 70 до 79%. Через 4 часа после отмены стресса и далее на протяжении всего пред-геморрагического периода у всех новорожденных крыс выражена тяжелая гипоксемия и появляются животные, у которых уровень насыщения кислородом тканей ниже 60%.

Пост-геморрагический период также характеризуется животными с тяжелой гипоксемией.

Полученные данные органично согласуются с результатами исследований рядом таких ученых как Simard J.M, Thompson E.M., Kurland D. V., которые в серии опытов, проведенных на крысах с индуцированным инсультом мозга, установили, что одним из главных причин, приводящие к снижению насыщения тканей мозга кислородом и развитию геморрагических инфарктом, является звуковой стресс, приводящий к гипоксии тканей мозга.

Таким образом, можно сказать, что звуковой стресс сразу вызывает резкое снижение кислородной сатурации мозговой ткани, приводя к развитию гипоксемии.

2 Результаты, полученные методом магнитно-резонансной томографии

Исследовав, внутричерепное кровоизлияние методом магнитно-резонансной томографии были получены результаты.

На рисунке 2 видно, что через 2 часа после стресса 22% животных, оксигенации мозговой ткани которых ниже 70%, привело к прогрессивному нарушению снабжения мозга кислородом. Уже через 4 часа после отмены стресса и далее на протяжении всего пред-геморрагического периода у всех новорожденных крыс выражена тяжелая гипоксемия и появляются животные, у которых уровень насыщения кислородом тканей ниже 60%. Пост-геморрагический период также характеризуется животными с тяжелой гипоксемией.

Следовательно, звуковой стресс сразу вызывает резкое снижение кислородной сатурации мозговой ткани, приводя к развитию гипоксемии.

Пред-геморрагический период характеризуются гипоинтенсивным контрастированием сосудов головного мозга, которое усиливается в постгеморрагический период. Данные изменения могут быть вызваны

повышением уровня дезоксигемоглобина, который является следствием гипоксии, приводящей к снижению уровня насыщения крови кислородом.

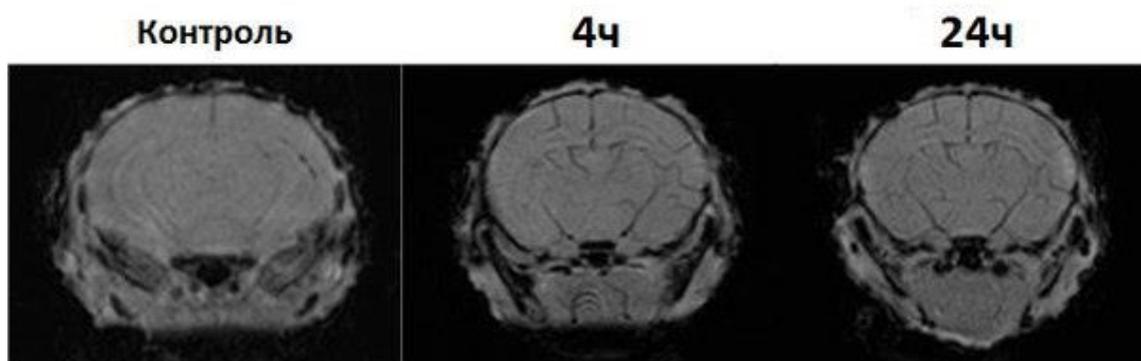


Рисунок 2 – МРТ- SWI изображение мозга новорожденных животных в норме (контроль), в пред-геморрагический период (4 часа после стресса) и пост-геморрагический период (24 часа после стресса).

В связи с тем, что аппарат МРТ с режимом SWI находится на дальнем расстоянии от Саратовского Государственного Университета, где проводились все эксперименты, мы транспортировали новорожденных крыс в ГБОУ ВПО Российском национальном исследовательском медицинском университете имени Н.И. Пирогова Минздрава России. Поэтому мы использовали метод МРТ только для подтверждения результатов, полученных методом пульсоксиметрии, и произвели замеры только в контрольной группе, через 4 часа после стресса (в соответствии с первыми яркими пред-геморрагическими изменениями в кислородной сатурации) и через 24 часа после стресса (геморрагический период).

Таким образом, мы обнаружили, что снижение уровня кислорода в мозге является одним из механизмов, предшествующих и сопровождающих стресс-индуцированные кровоизлияния в мозг у новорожденных крыс.

Наши результаты ясно показывают, что гипоксия мозга предшествует появлению мозговых кровоизлияний. Этот факт согласуется с другими экспериментальными и клиническими данными. Туресен и др. в опытах на

новорожденных поросят показали, что сама по себе тяжелая гипоксия может вызвать самопроизвольное кровоизлияние в мозг у новорожденных поросят.

Альдерлистен и др. в своих клинических наблюдениях показали более низкое кислородное насыщение тканей мозга у новорожденных до тяжелого инсульта. Принимая во внимание эти факты, мы предполагаем, что гипоксия в пред-геморрагический период может быть причиной развития критических изменений в головном мозге, связанных с внутримозговыми кровоизлияниями у новорожденных крыс.

Заключение

Сосудистые катастрофы, такие как спонтанные мозговые кровотечения у нормальных доношенных новорожденных являются настоящим феноменом. Проблема в том, что во многих случаях различные типы и тяжесть мозговых кровотечений у доношенных новорожденных не сопровождаются явными клиническими симптомами или сопровождаются едва уловимыми неспецифическими неврологическими признаками [37]. Поэтому точная заболеваемость и ее распределение у бессимптомных доношенных новорожденных остаются неизвестными.

Но, в течение последнего времени в связи с улучшением нейровизуализации стало очевидно, что бессимптомные кровоизлияния в мозге у доношенных новорожденных являются частыми явлениями (от 26% до 46%) [38]. Стоит заметить, несмотря на то, что большинство выживших новорожденных после мозговых кровотечений полностью излечивается, смертность от кровоизлияний может достигать 25% [39, 40].

Также активно обсуждается роль насыщения тканей мозга кислородом в развитии ишемического и геморрагического инфаркта мозга.

С целью достижения лучшего понимания механизмов, лежащих в основе стресс-индуцированных кровоизлияний в мозге в неонатальный период, в этом экспериментальном исследовании на новорожденных крысах,

мы пытались выявить время-зависимые реакции на стресс, предшествующие и сопровождающие кровоизлияния в головном мозге, с использованием междисциплинарного подхода, основанного методах пульсоксиметрии и магнитно-резонансной томографии.

Мы предполагаем, что одним из механизмов в развитии геморрагического инфаркта головного мозга у новорожденных крыс может служить снижение оксигенации тканей мозга, что подтверждается данными иммунологического исследования.

Методом пульсоксиметрии было установлено, что в контрольной группе большинство новорожденных крыс характеризуются легким снижением кислородной сатурации, их число составляет 67%, и лишь 33% имеют значения данного параметра в пределах нормы. Уже сразу после звукового стресса не было обнаружено ни одного животного с нормальными значениями оксигенации, у всех выявлена гипоксемия различной тяжести.

Методом магнитно-резонансной томографии было выявлено, что при звуковом стрессе происходит резкое снижение кислородной сатурации мозговой ткани, и далее приводит к гипоксемии.

При пред-геморрагическом состоянии происходит контрастирование сосудов головного мозга, которое в последствие усиливается в пост-геморрагическом периоде. Это можно объяснить тем, что происходит повышение уровня дезоксигемоглобина, который является следствием гипоксии, приводящий к насыщению крови кислородом.

Полученные данные позволяют сделать вывод о важной роли насыщения тканей кислородом в нарушении мозгового кровотока, сопровождающие развитие интракраниальных геморрагий в первые дни после рождения.

Были сделаны следующие выводы:

- 1) Методом пульсоксиметрии нами было установлено, что звуковой стресс сразу вызывает у здоровых новорожденных крыс резкое снижение кислородной сатурации мозговой ткани, приводя к развитию гипоксемии.

2) В латентный период кислородное насыщение тканей продолжало снижаться на протяжении всего времени до образования геморрагий с максимальным падением SpO₂ на 4-8 часах.

3) В пост-геморрагический период (24 часа после стресса) уровень SpO₂ снизился на 27% и составил 69%.

4) МРТ-изображение показывает, что пред-геморрагический период характеризуются гипоинтенсивным контрастированием сосудов головного мозга, которое усиливается в пост-геморрагический период.