

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

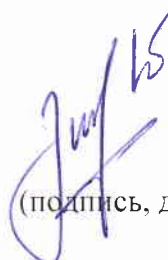
Кафедра физиологии человека и животных

**Влияние церебральной гипоксии на кровоток новорожденных
крыс**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

по направлению 06.03.01 Биология
студентки 4 курса биологического факультета
Шушуновой Натальи Александровны

Научный руководитель
ассистент кафедры физиологии
человека и животных


28.06.17
(подпись, дата)

Е. М. Зинченко

Зав. кафедрой
физиологии человека и животных
д. б. н., доцент


28.06.17
(подпись, дата) О. В. Семьякина-Глушковская

Саратов 2017

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Исследование оксигенации крови необходимо для понимания приспособлений организма на всех этапах онтогенеза, особенно в периоде новорожденности. Ещё до лёгочного дыхания, при переходе к новой среде ребёнок испытывает серьёзный стресс. По данным ВОЗ за последнее десятилетие продолжает увеличиваться процент новорождённый страдающей кислородной недостаточностью головного мозга, присутствием геморрагий, а самое главное - возможной смерти. Данную проблему нельзя оставлять без внимания.

Цель и задачи исследования. В связи с этим целью исследования явилось: изучение влияния церебральной гипоксии на мозговой кровоток у новорождённых крыс

Были поставлены следующие задачи:

1. Оценить изменения насыщенности артериальной крови кислородом методом пульсоксиметрии у новорожденных крыс в норме и с интракраниальными геморрагиями.
2. Выявить влияние гипоксии на диаметр сагиттального синуса и скорость кровотока в нем методом доплеровской оптической когерентной томографии у здоровых и стрессированных животных.

Определить перфузию сагиттального синуса и микрососудов на фоне развития гипоксии методом спекл-визуализации в пред- и пост-геморрагический периоды у новорожденных.

Структура и объем. Работа состоит из введения, основной части, включающий, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, выводов, заключения, списка использованных источников. Бакалаврская работа изложена на 46 страницах, содержит 2 таблицы и 10 рисунков. Список литературы включает 56 источников.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1 Обзор литературы

1.1. Оксигенация. Процесс насыщения кислородом организма называется оксигенацией. Степень оксигенации и состояние тканей являются основополагающими показателями нормальной жизнедеятельности и определяются сложными процессами. Доставка кислорода к тканям и потребление клетками регулируются средним артериальным давлением, сердечным выбросом, общим содержанием кислорода в артериальной крови. Оксигенация крови определяется свойствами гемоглобина, содержание которого зависит от уровня здоровья новорождённого

1.2 Гипоксия. Известно 2 формы гипоксии: хроническую и острую. Первая возникает при длительном пребывании, так как после 3 дня происходит акклиматизация организма. Вторая напротив, заключается при быстром восхождении на критические высоты(2000-4000м), например, при подъёма на канатной дороге, на автотранспорте, также при полётах на парапланах и др.

1.3. Асфиксия. Патология раннего неонатального периода, обусловленная нарушением дыхания у родившегося ребенка. Асфиксия новорожденного клинически проявляется отсутствием самостоятельного дыхания ребенка в первую минуту после рождения либо наличием отдельных, поверхностных или судорожных нерегулярных дыхательных движений при сохранной сердечной деятельности. Прогноз при асфиксии новорожденного зависит от тяжести патологии, своевременности и полноты оказания лечебных мероприятий.

1.4. Особенности биохимических процессов. Механизмы, контролирующие распределение кислорода не полностью понятны, но включают ряд конвективных и диффузионных процессов. Конвективный транспорт кислорода относится к объемному перемещению кислорода в воздухе или крови и зависит от активных, энергоёмких процессов генерации потока в трахеобронхиальном дереве и обращении. Диффузионный перенос

относится к пассивному движению кислорода вниз ее градиента концентрации через ткани барьеров, в том числе альвеолярно-капиллярной мембраны, и через внеклеточную матрицу между капиллярами, тканями и отдельных клеток в митохондриях. Количество диффузионного перемещения кислорода зависит от градиента напряжения кислорода и расстояния диффузии.

2 Материалы и методы исследований

2.1. Объект исследования. Животные были разделены на три группы, выделенные по следующим состояниям: контрольные группы (нестрессированные), стресс-индуцированный период 1 – 2 – 4 – 6 – 8 часов после стресса, группа крыс - 24 часа после стресса.

2.2. Методы исследования. Крысы были подвергнуты стрессу сильными звуковыми сигналами (110 дБ, 370 Гц) в течение 120 минут по принципу 10 секунд – шум/60 секунд паузы.

2.2.1. Оценка насыщенности артериальной крови кислородом. Для измерений насыщенности артериальной крови кислородом был выбран метод пульсоксиметрии. Сатурация рассчитывается, как соотношение количества HbO_2 к общему количеству гемоглобина, выраженное в процентах.

2.2.2. Измерение кровотока мозга у новорожденных крыс. Для определения параметров кровотока был выбран метод доплеровской оптической когерентной томографии (ДОКТ) на базе кафедры оптики и биофотоники физического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского.

Исследования мозгового кровотока в сагиттальном синусе, измеренного методом ДОКТ, подтверждают данные, полученные с помощью лазерной спекл-визуализации. Измерения с помощью этого метода проводили как в сагиттальном синусе, так и в окружающих его микрососудах мозга.

Поскольку спекл-анализ кровотока мозга отражает перфузию в условных единицах, то кровоток сагиттального синуса был принят за единицу.

3 Результаты исследования

3.1 Результаты исследования насыщения крови кислородом.

Период до момента развития стресс-индуцированных мозговых геморрагий (2 – 4 – 6 – 8 часов после стресса) характеризовался постепенным снижением уровня (SpO_2). Через 2 часа после звукового стресса наблюдалось снижение оксигенации артериальной крови на 17% ($p < 0,05$). Далее показатель (SpO_2) продолжал прогрессивно уменьшаться на протяжении 8 часов вплоть до момента появления геморрагий в мозге. Так, через 4 часа после отмены стресса оксигенация снизилась на 23%, через 6 часов – на 27%, через 8 часов – на 29% ($p < 0,05$).

В пост-геморрагический период (24 часа после стресса) уровень (SpO_2) снизился в 1,4 раза и составил 71%, ($p < 0,05$). То есть у животных с геморрагиями показатель (SpO_2) оставался низким.

Так же было посчитано процентное соотношение крыс с определённой концентрацией кислорода в крови. Таблица показывает, что в первые минуты после стресса крысы обладали средней (SpO_2) от 70% до 90%, при этом насчитывалось преобладание в диапазоне 80 – 90% (O_2). К 4 и 5 часам отмечали разброс данных, что вероятно связано с индивидуальными особенностями организма. В 8 часов после стресса мы увидели заметное преобладание крыс с содержанием кислорода в крови 60-70%. Исходя из данных таблицы, было установлено, что критическая точка наступает через 8 часов после стресса.

Таким образом, сразу после звукового стресса у всех животных выявлена гипоксемия различной тяжести. Через 2 часа после прекращения стресса дефицит (O_2) тканей мозга усиливается, что говорит о прогрессировании нарушения снабжения мозга кислородом. Через 4 часа

после отмены звукового воздействия и далее на протяжении всего предгеморрагического периода у всех новорожденных крыс выражена тяжелая гипоксемия и появляются животные, у которых уровень насыщения кислородом крови ниже 60%, то есть ниже нормального порога, что свидетельствует о развитии ишемического повреждения в бассейне кровоснабжения. Животные пост-геморрагического периода так же характеризуется тяжелой гипоксемией.

Таким образом, можно сказать, что звуковой стресс сразу вызывает резкое снижение оксигенации артериальной крови мозга, приводя к развитию гипоксемии.

3.2 Результаты исследования кровотока. У крыс контрольной группы диаметр синуса составил $0,32 \pm 0,02$ мм. После стрессирования наблюдалось постепенное увеличение диаметра сосуда (через 2 часа – $0,55 \pm 0,04$ мм, 4 часа – $0,80 \pm 0,03$ мм, 6 часов – $0,98 \pm 0,02$ мм, 8 часов – $1,0 \pm 0,02$ мм, $p < 0,05$). Максимальное изменение данного параметра наблюдалось через 24 часа после стрессирования и составило $1,3 \pm 0,01$ мм ($p < 0,05$).

Таким образом, диаметр сагиттального синуса увеличивался в 1,7 – 2,5 – 3,1 – 3,1 – 4,1 раза ($p < 0,05$) через 2 – 4 – 6 – 8 – 24 часа соответственно после стресса по сравнению с контрольной группой.

Рассматривая зависимость от времени скорости кровотока в сагиттальном синусе до и после стресс-индуцированных кровотечений в мозге новорожденных крыс. Скорость кровотока измеряли с помощью ДОКТ в физиологических единицах (мм/сек) У контрольной группы скорость кровотока мозга составила $7,3 \pm 0,09$ мм/с. После звукового воздействия наблюдалось постепенное снижение скорости кровотока в сагиттальном синусе. Через 2 часа скорость составила $5,1 \pm 0,08$ мм/с, а спустя еще два часа – $4,2 \pm 0,07$ мм/с. После 6 часов скорость снизилась до $3,0 \pm 0,05$ мм/с, а после

8 часов – до $2,3 \pm 0,04$ мм/с. Максимальное изменение этого параметра наблюдалось через одни сутки, и составило $2,1 \pm 0,07$ мм/с.

Таким образом, скорость кровотока в сагиттальном синусе уменьшалась на 31% – 43% – 59% – 69% – 72% ($p < 0,05$) через 2 – 4 – 6 – 8 – 24 часа соответственно после стресса по сравнению с животными из контрольной группы.

Таким образом, скорость кровотока в сагиттальном синусе уменьшалась на 31% – 43% – 59% – 69% – 72% ($p < 0,05$) через 2 – 4 – 6 – 8 – 24 часа соответственно после стресса по сравнению с животными из контрольной группы.

Результаты исследования мозгового кровотока в сагиттальном синусе, измеренного методом ДОКТ, подтверждают данные, полученные с помощью лазерной спекл-визуализации. Измерения с помощью этого метода проводили как в сагиттальном синусе, так и в окружающих его микрососудах мозга.

Поскольку спекл-анализ кровотока мозга отражает перфузию в условных единицах, то кровоток сагиттального синуса был принят за единицу. Применение метода лазерной спекл-визуализации позволило выявить значительные изменения в церебральном кровотоке у новорожденных крыс через 4 часа после стрессирования. Перфузия в сагиттальном синусе повышалась на 25% ($p < 0,05$). Через 24 часа после стресса у крыс со стресс-индуцированными кровоизлияниями в мозге перфузия была выше в сагиттальном синусе на 33% ($p < 0,05$).

Стоит отметить, что не было выявлено никаких изменений со стороны микроциркуляции в пред-геморрагический период. Перфузия в микрососудах оставалась на уровне нормы и была равна 0,70 усл.ед. (в норме – 0,67 усл.ед.). Через сутки после отмены стресса было выявлено переполнение микрососудов кровью и перфузия в них уже составила 0,78 усл.ед., то есть возросла на 16% ($p < 0,05$) по сравнению со значениями контроля и пред-геморрагического состояния.

Таким образом, результаты показывают, что в пред-геморрагическом периоде отмечалось увеличение размера сагиттального синуса с умеренным повышением перфузии тканей мозга. Пост-геморрагический период сопровождался дальнейшими прогрессивными изменениями в сагиттальном синусе, то есть расширением сосуда и гиперперфузией тканей мозга, окружающих главный венозный синус.

ВЫВОДЫ

1. В предгеморрагический период было отмечено критическое снижение уровня насыщения кислородом артериальной крови. В постгеморрагический период сатурация оставалась на низком уровне.
2. В предгеморрагическом периоде отмечалось увеличение размера сагиттального синуса с умеренным повышением перфузии тканей мозга.
3. Постгеморрагический период сопровождался дальнейшими прогрессивными изменениями в сагиттальном синусе, то есть расширением сосуда и гиперперфузией тканей мозга, окружающих главный венозный синус.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе представлены актуальные проблемы патогенеза перинатальных гипоксически-ишемических повреждений у детей. Были описаны механизмы, участвующие в формировании данного заболевания.

Неблагополучно протекающие беременность и роды оказывают часто более пагубное воздействие на нервную систему и психику человека, чем эндо- и экзогенные факторы в постнатальном периоде. Кроме того, существует закономерность, по которой ранние повреждения нервной системы имеют более тяжелые последствия для развития ребенка, чем поздние. В развитии гипоксически-ишемической энцефалопатии новорожденных играют роль, как гипоксия, так и ишемия. В результате в головном мозге новорожденного возникает ряд нейрохимических процессов,

связанных с нарушениями оксигенации, метаболизма и оттока венозной крови.

Новорождённые переносят стресс по время родов и после, организму необходимо приспособиться к новой среде. Его физиологические факторы должны стабилизироваться в первые дни после рождения. Именно в этот период существует огромный риск к возникновению церебральной гипоксии, с часто сопровождается геморрагическими патологиями головного мозга. Необходимо понять существует ли связь между гипоксией и геморрагические кровоизлияния, именно для этого был проведён ряд экспериментов по определению насыщенности крови кислородом.

Мигу