



в конце первого полугодия 2014–2015 учебного года повысилось на 17% и составило 84%.

Динамика качества обучения в ходе эксперимента отражена на рис. 5.

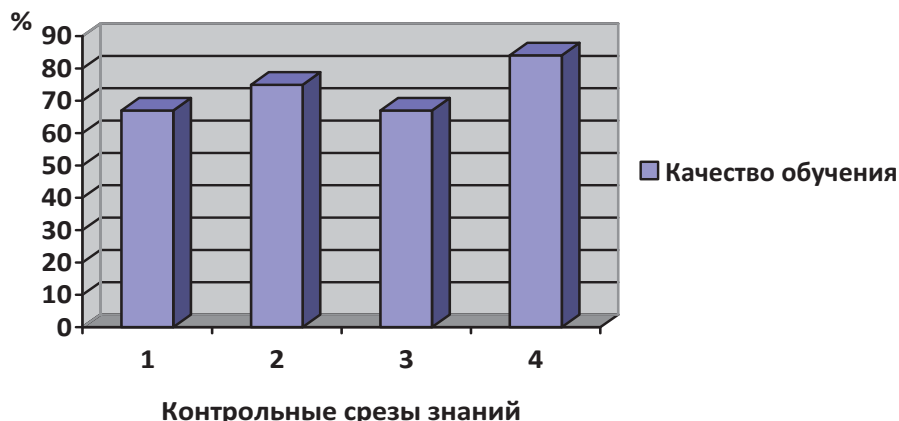


Рис. 5. Динамика качества обучения в ходе эксперимента

Сравнение показателей качества обучения по результатам четырех контрольных срезов знаний учащихся 5–6-х классов МБОУ – СОШ с. Мечётное Советского района Саратовской области выявило положительную динамику в ходе проведенного эксперимента. Проведенное исследование показало, что использование системно-деятельностного подхода на уроках биологии на протяжении двух учебных годов является эффективным. В пользу этого свидетельствует повышение качества обучения на 17%, по сравнению с первоначальным уровнем.

Список литературы

1. Суматохин С. В. О разработке содержания школьного биологического образования // Биология в школе. 2011. № 9. С. 17–27.
2. Пасечник В. В. Биология. Бактерии, грибы, растения. 5 кл. : учебник для общеобраз. учреждений. М. : Дрофа, 2012. 141, [3] с.
3. Пасечник В. В. Биология. Многообразие покрытосеменных растений. 6 кл. : учебник для общеобраз. учреждений. М. : Дрофа, 2013. 207, [1] с.

УДК 612.14

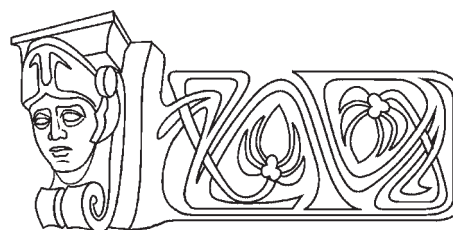
РОЛЬ СУЛЬФОНИЛМОЧЕВИННЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РАЗВИТИИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОГО ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ИНФАРКТА МОЗГА У НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС

О. В. Семякина-Глушковская, А. С. Гекалюк,
О. А. Синдеева, А. С. Абдурашитов, В. В. Лычагов

Саратовский государственный университет
E-mail: gekalyuk.a@mail.ru

В данной статье моделировали развитие геморрагического инфаркта мозга у новорожденных крыс. Результаты гистологического анализа показали, что на следующие сутки после воздействия звуковым стрессом (120 дБ) в течение 2 ч появляются мелкоочаговые подкорковые кровоизлияния на фоне отека верхних слоев мозга, развития гипоксии и застойных явлений в области макро- и микроциркуляции. Спекл-визуализация мозговой циркуляции выявила гиперперфузию тканей голов-

ного мозга на фоне расширения церебральных вен у новорожденных крыс со стресс-индуцированными интракраниальными геморрагиями. Указанные патологические сдвиги в мозговом кровообращении сопровождались высокой экспрессией сульфонилмочевинных рецепторов в тканях мозга, что не выявлялось в норме. Данные результаты позволили заключить, что сульфонилмочевинные рецепторы могут играть важную роль в развитии геморрагического инфаркта мозга в первые дни по-





сле рождения, что показано также другими исследователями на взрослых крысах.

Ключевые слова: геморрагический инфаркт головного мозга, мозговой кровотока, сульфонилмочевинные рецепторы.

Role of Sulfonylurea Receptor in the Development of Stress-induced Hemorrhagic Cerebral Infarction in Newborn Rats

O. V. Semyachkina-Glushkovskaya, A. S. Gekalyuk, O. A. Sindeeva, A. S. Abdurashitov, V. V. Lychagov

In this article, we develop a model of hemorrhagic infarct of brain in neonatal rats. The results of histological analysis showed that on the next day after exposure to stress sound (120 dB) for 2 hours, there are small focal subcortical hemorrhage, the brain edema, hypoxia and accumulation of blood area of in macro- and microcirculation. Speckle imaging of cerebral circulation revealed hyperperfusion of brain tissue with increase size of the cerebral veins in newborn rats with stress-induced intracranial hemorrhages. These pathological changes in cerebral blood flow accompanied by high expression of sulfonylurea receptors in the brain tissue that is not detected in normal. These results allowed us to conclude that the sulfonylurea receptors may play an important role in the development of hemorrhagic cerebral infarction in the first days after birth, which is also shown by other researchers on adult rats.

Key words: hemorrhagic cerebral infarction, cerebral blood flow, sulfonylurea receptors.

Введение

В современной России второе место после инфаркта миокарда занимает геморрагический инфаркт (ГИ) головного мозга, распространенность которого в детском возрасте крайне велика и в последние годы прогрессивно возрастает. [1–3]. Геморрагический инсульт является одной из десяти ведущих причин смерти у младенцев в течение первой недели после рождения, по статистике он встречается с частотой от 2 до 3 случаев на 100 тыс. новорожденных детей [4, 5]. Механизмы, лежащие в основе развития ГИ в неонатальный период, остаются неизвестными, это затрудняет раннюю диагностику возникновения мозгового кровотечения и приводит к отсутствию эффективной терапии [6–11]. Данная ситуация объясняет высокий процент инвалидизации у детей после мозговых геморрагий [12]. ГИ является основной причиной инвалидности у новорожденных, в том числе детского церебрального паралича, эпилепсии, нейропсихологических и поведенческих нарушений [13, 14]. Примерно у 45–85% детей с ГИ наблюдается задержка умственного и психического развития, до 75% детей не могут проходить обучение в общеобразовательных школах и нуждаются в специализированных учебных заведениях [15].

В последние годы активно обсуждается роль Sur1-рецепторов в развитии ишемического

и геморрагического инфаркта мозга [16–18]. Во многих исследованиях показана высокая экспрессия Sur1-рецепторов при таких патологиях, как ишемический инсульт мозга, травмы головного и спинного мозга, энцефалопатия и др. [19–21]. Блокада Sur1-рецепторов с помощью глибенкламида рассматривается как перспективное новое направление в лечении указанных патологий мозга [16]. Однако роль Sur1-рецепторов в развитии неонатального ГИ не известна, что определило цель наших исследований.

В данной работе изучали развитие ГИ у новорожденных крыс при воздействии шумового стресса и экспрессию Sur1-рецепторов в тканях мозга до и после ГИ.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводили на 37 крысах спустя 2–3 дня после рождения. Геморрагический инфаркт мозга вызывали путем воздействия на животных сильного шумового стресса (прерывистый звук силой 120 дБ) в течение 2 ч по следующему алгоритму: 10 с – звук, 60 с – перерыв. Воспроизводимость данного метода была показана в наших предыдущих исследованиях [22–24]. Подробное описание метода приводится в [25].

Наличие ГИ подтверждали гистологическим методом, окраску срезов толщиной 4 мкм осуществляли гематоксилин эозином.

Изменения в мозговом кровотоке оценивали с применением спекл-визуализации. Для этого животных под газовой анестезией (изуфлуран) фиксировали, срезали небольшой участок кожи (1–2 мм) в области родничка и производили регистрацию оптических сигналов в области сагиттального синуса (макроциркуляция), аккумулирующего кровь с головного мозга и выводящего ее на периферию, и окружающих его сосудов (микроциркуляция, куда входили мелкие сосуды, включая артериолы, вены и капилляры).

Экспрессию Sur1-рецепторов изучали иммунофлуоресцентным методом с применением специфических антител к указанному типу рецепторов с помощью козьих антикроличьих ФИТЦ-меченых антител (конц. 1–2 мкг/мл) и DAPI.

Статистическая обработка экспериментальных данных осуществлялась с помощью пакета программ Statistica 5.0. Различия считались достоверными при $p < 0.05$. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего.

Результаты и их обсуждение

Результаты показали, что развитие геморрагического инфаркта головного мозга сопровождалось выраженным полнокровием



венозных сосудов и сосудов микроциркуляторного русла мягкой мозговой оболочки; отеком вещества головного мозга преимущественно в верхних слоях коры; набуханием клеток Беца, что свидетельствует о гипоксии, по-видимому, из-за нарушения оттока в венозной системе. На рис. 1, *а* показано нормальное строение коры головного мозга у новорожденной крысы; на рис. 1, *б, в* приводится пример выражено-

го полнокровия венозных сосудов и сосудов микроциркуляторного звена мягкой мозговой оболочки соответственно; на рис. 1, *з* показан умеренно выраженный отек вещества головного мозга; на рис. 1, *д* отражены гигантские клетки Беца, увеличение сомы которых является индикатором гипоксии в мозге; на рис. 1, *е* – участок подкорковых диапедезных кровоизлияний, площадью от 0,0012 до 0,006 мм².

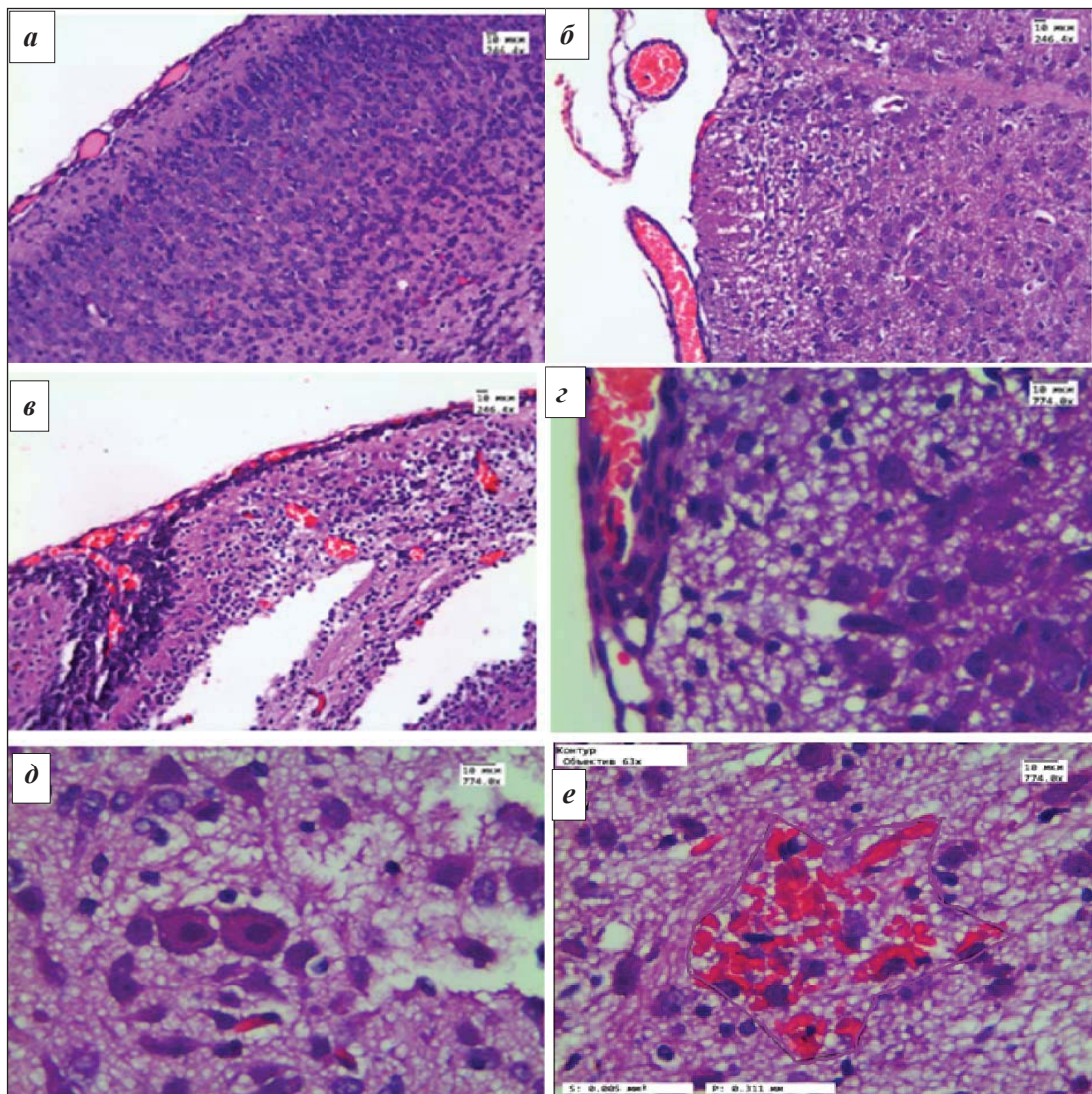


Рис. 1. Фотографии гистологического анализа тканей мозга в области коры: *а* – в норме; *б* и *в* – полнокровие вен и сосудов микроциркуляторного русла мягкой сосудистой оболочки, соответственно; *з* – умеренно выраженный отек вещества головного мозга; *д* – гигантские клетки Беца; *е* – участок подкорковых диапедезных кровоизлияний, площадью от 0,0012 до 0,006 мм²

Оптические исследования подтвердили результаты гистологического анализа тканей мозга. Действительно, применение метода спекл-визуализации позволило определить, что развитие геморрагического инфаркта моз-

га у новорожденных крыс сопровождалось дилатацией сагиттального синуса и повышением перфузии как в зоне макроциркуляции, так и микроциркуляции, что показано на рис. 2.

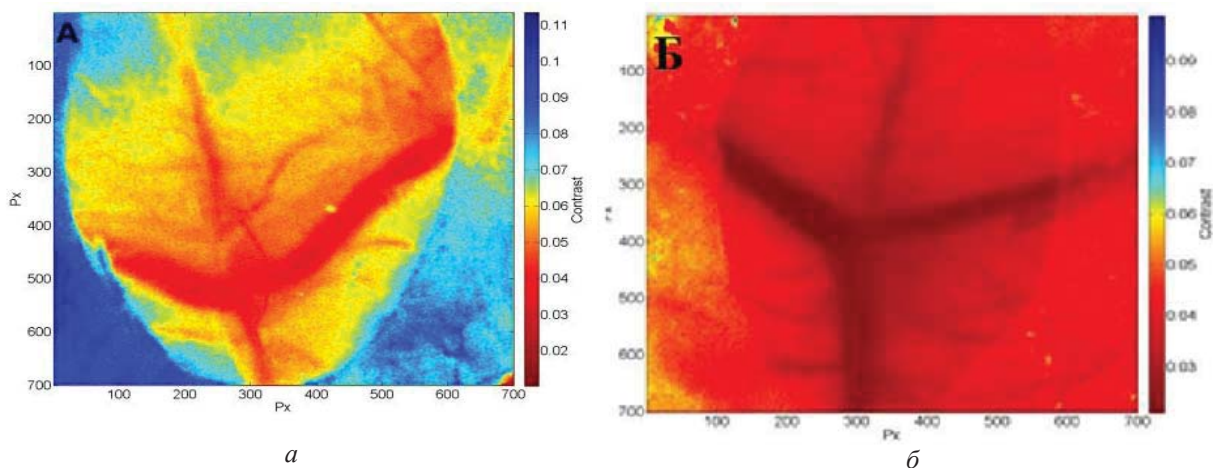


Рис. 2. Спекл-визуализация церебральной макроциркуляции (сагиттальный синус) и микроциркуляции (мелкие артерии, вены, капилляры): а – в норме, б – через 24 ч после стресса

Данные по ОКТ выявили снижение скорости кровотока в расширенном сагиттальном синусе,

несмотря на повышение перфузии в области данного сосуда (таблица).

Показатели кровотока в сагиттальном синусе, изученные с помощью ОКТ

Параметр	Предстрессовое состояние	24 ч после стресса
Диаметр сагиттального синуса, мм:		
Основной ствол	0.30±0.03	1.11±0.02 *†
Левая ветвь	0.22±0.01	0.36±0.04 *†
Правая ветвь	0.20±0.03	0.38±0.03 *†
Скорость кровотока, мм/с	6.00±0.09	2.09±0.03 *†

Примечание. * – $p < 0.05$ vs. контрольная группа, † – стрессированные крысы.

Таким образом, оптические исследования кровотока мозга у новорожденных крыс позволили заключить, что развитие геморрагического инфаркта мозга новорожденных крыс сопровождается выраженной дилатацией вен и сосудов микроциркуляции мягкой мозговой оболочки мозга на фоне снижения оттока крови из него.

Определение экспрессии Sur1-рецепторов методом иммунофлуоресценции позволило выявить, что появление данного типа рецепторов приурочено только к развитию патологических процессов в мозге в виде появления внутримозговых геморрагий. В условиях нормы экспрессия Sur1-рецепторов в мозге не определялась.

На рис. 3 показаны капилляры мягкой мозговой оболочки в условиях нормы (см. рис. 3, а) и после развития интракраниальных геморрагий (см. рис. 3, б). Sur1-рецепторы, меченные специфическими флуоресцентными антителами, светятся зеленым светом вдоль мембраны эндотелиальных клеток.

Полученные данные органично согласуются с результатами исследований таких ученых, как J. M. Simard, E. M. Thompson, D. B. Kurland, которые в серии опытов, проведенных на крысах с индуцированным инсультом мозга, установили, что одним из главных молекулярных событий, приводящих к различным формам дисфункций капилляров и развитию геморрагического инфаркта головного мозга, является экспрессия рецепторов Sur 1 [26–28].

В исследованиях, проведенных на новорожденных крысятах, геморрагический инфаркт мозга вызывали перевязкой сонных артерий, что приводило к гипоксии тканей головного мозга, при этом также отмечена повышенная экспрессия рецепторов Sur 1 [29]. Сходные данные были получены в результате клинических исследований тканей мозга недоношенных детей, умерших от инсульта, у которых при развитии данной патологии происходила активация Sur 1-рецепторов в эндотелии капилляров мозга [30].

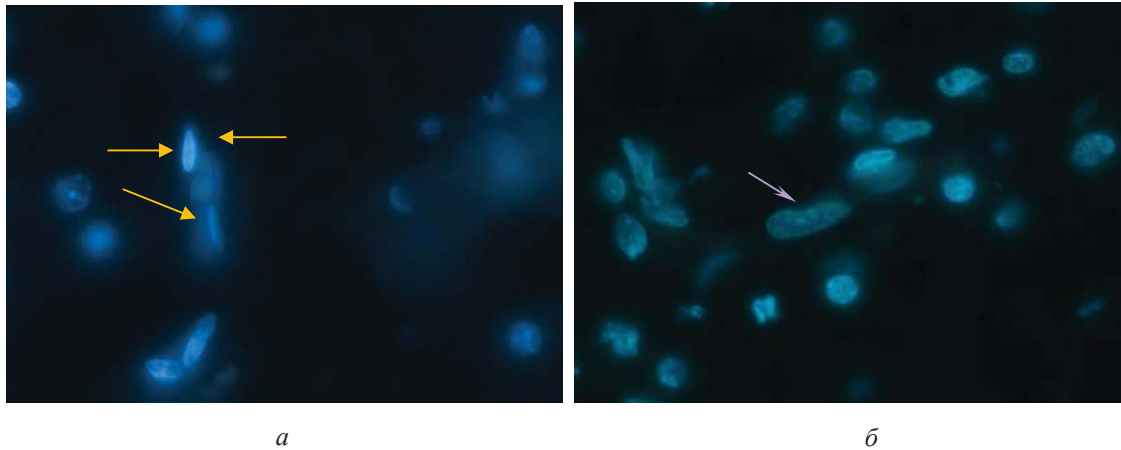


Рис. 3. Изображение экспрессии Sur1 рецепторов в эндотелиальных клетках капилляра в мозге новорожденных крыс (указаны стрелками) в условиях нормы (а) и на фоне развития интракраниальных гемморрагий (б). Sur1 рецепторы светятся зеленым цветом вдоль мембраны эндотелиальных клеток капилляра

Вывод

Развитие геморрагического инфаркта мозга у новорожденных крыс сопровождается стойкими явлениями в области макро- и микроциркуляции мягкой мозговой оболочки на фоне венозной недостаточности и повышения перфузии тканей мозга. Указанные патологические сдвиги в церебральном кровотоке ассоциированы с экспрессией Sur1-рецепторов в эпителиальных клетках капилляров сосудистой оболочки мозга, что не выявляется в норме. Полученные данные позволяют сделать вывод о важной роли Sur1-рецепторов в нарушении мозгового кровотока, сопровождающемся развитием интракраниальных гемморрагий в первые дни после рождения, а также подтвердить результаты других исследователей, свидетельствующие о весомом вкладе Sur1-рецепторов в развитие последствий ишемического инсульта, травм или злокачественных опухолей головного и спинного мозга.

Мы предполагаем, что одним из механизмов развития геморрагического инфаркта головного мозга у новорожденных крысят может быть высокая экспрессия Sur1-рецепторов, что подтверждается данными иммунологического исследования.

Методом иммунофлуоресценции нами было установлено, что в сосудах мягкой мозговой оболочки отмечена высокая экспрессия Sur1-рецепторов, а именно здесь чаще всего образуются интракраниальные гемморрагии.

Можно предположить, что в развитии геморрагических инсультов важную роль играют Sur1-рецепторы и КАТФ-каналы.

Гистологические исследования свидетельствуют о том, что при развитии геморрагического

инфаркта головного мозга отмечена гипоксия, причиной которой, по-видимому, являлось нарушение оттока в венозной системе.

Оптические исследования подтвердили результаты гистологического анализа тканей мозга. Методом спекл-визуализации нами было установлено, что развитие геморрагического инфаркта мозга у новорожденных крыс сопровождалось дилатацией сагиттального синуса и повышением перфузии как в зоне макроциркуляции, так и микроциркуляции.

Оптические исследования кровотока мозга у новорожденных крыс позволяют заключить, что развитие геморрагического инфаркта сопровождается выраженной дилатацией вен и сосудов мягкой мозговой оболочки на фоне снижения оттока крови из него.

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

Список литературы

1. Go A. S. Heart disease and stroke statistics – 2013 update : A report from the American Heart Association // *Circulation*. 2013. Vol. 127. P. 6–245.
2. Fox C. K. High critical care usage due to pediatric stroke: Results of a population-based study // *Neurology*. 2012. Vol. 79. P. 420–427.
3. Gandhi S. K. Temporal trends in incidence and long-term case fatality of stroke among children from 1994 to 2007 // *Neurology*. 2012. Vol. 78. P. 1923–1929.
4. Fullerton H. J. Risk of stroke in children Ethnic and gender disparities // *Neurology*. 2003. Vol. 61. P. 189–194.
5. Andersen R. Death : leading causes for 2002 // *National Vital Statistics reports*. 2005. Vol. 53. P. 17.



6. Lynch J. K. Report of the National Institute of Neurological Disorders and Stroke workshop on perinatal and childhood stroke // *Pediatrics*. 2002. Vol. 109. P. 116–123.
7. Beslow L. A. Predictors of outcome in childhood intracerebral hemorrhage : A prospective consecutive cohort study // *Stroke*. 2010. Vol. 41. P. 313–318.
8. Fullerton H. J., Zhao S. Risk of stroke in children Ethnic and gender disparities // *Neurology*. 2003. Vol. 61. P. 189–194.
9. Ballabh P. Intraventricular hemorrhage in premature infants: mechanism of disease // *Pediatr*. 2010. Vol. 67. P. 1–8.
10. Giroud M. Cerebrovascular disease in children under 16 years of age in the city of Dijon, France : a study of incidence and clinical features from 1985 to 1993 // *J. Clin. Epidemiol*. 1995. Vol. 48. P. 1343–1348.
11. Broderick J. Stroke in children within a major metropolitan area : the surprising importance of intracerebral hemorrhage // *J. Child Neurol*. 1993. Vol. 8. P. 250–255.
12. Andersen S. L. Trajectories of brain development : point of vulnerability or window of opportunity // *Neurosci. Biobehav*. 2003. Vol. 27. P. 3–18.
13. Brouwer A. J. European perspective on the diagnosis and treatment of posthaemorrhagic ventricular dilatation // *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal*. 2012. Vol. 97. P. 50–55.
14. Bruno C. J. Hemorrhagic stroke in term and late preterm neonates // *Arch Dis Child Fetal Neonatal*. 2014. Vol. 99. P. 48–53.
15. Vohr B.R., Allan W. C. School-age outcomes of very low birth weight infants in the indomethacin intraventricular hemorrhage prevention trial // *Pediatrics*. 2003. Vol. 98. P. 50–55.
16. Kurland D. B. Glibenclamide for the Treatment of Acute CNS Injury. // *Pharmaceuticals* 2013. Vol. 6. P. 1287–1303.
17. Simard J. M. Key role of sulfonylurea receptor 1 in progressive secondary hemorrhage after brain contusion // *J. Neurotrauma*. 2009. Vol. 26. P. 2257–2267.
18. Woo S. K. The sulfonylurea receptor 1 (Sur1)-transient receptor potential melastatin 4 (Trpm4) channel // *J. Biol. Chem*. 2013. Vol. 288. P. 3655–3667.
19. Simard J. M., Andersen R. Does inhibiting Sur1 complement rt-PA in cerebral ischemia? // *N.Y. Acad. Sci*. 2012. Vol. 1268. P. 95–107.
20. Kilbourne M. Key role of sulfonylurea receptor 1 in progressive secondary hemorrhage after brain contusion // *J. Neurotrauma*. 2009. Vol. 26. P. 2257–2267.
21. Yamada K. Neuroprotection by KATP channels // *J. Mol. Cell. Cardiol*. 2005. Vol. 38. P. 945–949.
22. Pavlov A. N., Semyachkina-Glushkovskaya O. V. Multi-resolution analysis of pathological changes in cerebral venous dynamics in newborn mice with intracranial hemorrhage : adrenorelated vasorelaxation // *Physiol. Measurement*. 2014. Vol. 35. P. 1983–1999.
23. Semyachkina-Glushkovskaya O. V. The assessment of pathological changes in cerebral blood flow in hypertensive rats with stress-induced intracranial hemorrhage using Doppler OCT : particularities of arterial and venous alterations // *J. of Photonics and Lasers in Medicine*. 2013. Vol. 2, № 2. P. 109–116.
24. Lychagov V. V. The experimental study of stress-related pathological changes in cerebral venous blood flow in newborn rats assessed by DOCT // *J. of Innovative Optical Health Science*. 2013. Vol. 3, № 12. P. 1–9.
25. Пат. 2506805 РФ. Способ моделирования развития мелкоочаговых мозговых геморрагий в коре головного мозга у новорожденных крыс / Семьякина-Глушковская О. В., Тучин И. А., Заявл. 2012145191 от 24.10.2012; Оpubл. 27.01.2014; Бюл. № 3.
26. Simard J. M., Kilbourne M. Key role of sulfonylurea receptor 1 in progressive secondary hemorrhage after brain contusion // *J. Neurotrauma*. 2009 Vol. 26. P. 2257–2267.
27. Thompson E. M. Inhibition of SUR1 Decreases the Vascular Permeability of Cerebral Metastases // *J. Neoplasia*. 2013. Vol. 15, № 5. P. 535–543.
28. Anderson P. J. Adult outcome of extremely preterm infants // *Pediatrics*. 2010. Vol. 126. P. 342–351.
29. Zhang J. H. Glibenclamide improves neurological function in neonatal hypoxia-ischemia in rats // *J. Brain*. 2009. Vol. 1270. P. 131–139.
30. Simard J. M., Castellani R. J. Sulfonylurea receptor 1 in the germinal matrix of premature infants // *J. Pediatr*. 2008. Vol. 64. P. 648–652.