

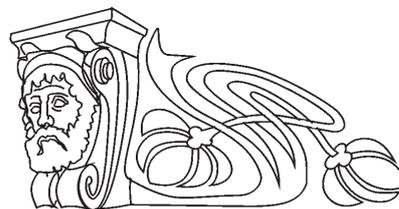


УДК 612. 146.2

РОЛЬ БЕТА-2-АДРЕНОЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМОВ В НАРУШЕНИЯХ ВЕНОЗНОГО КРОВОТОКА МОЗГА У НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС С ВНУТРИЧЕРЕПНЫМ КРОВОИЗЛИЯНИЕМ

О. В. Семьякина-Глушковская, М. В. Уланова, А. С. Абдурашитов,
А. С. Гекалюк, С. С. Синдеев, О. А. Синдеева, М. Кассим

Саратовский государственный университет
E-mail: maru-ulanova@mail.ru



Развитие стресс-индуцированного геморрагического инфаркта мозга у новорожденных крыс сопровождается развитием патологической релаксации церебральных вен, что провоцирует появление венозной недостаточности и снижение оттока крови из мозга. Данные критические изменения в мозговом кровотоке предшествуют появлению интракраниальных геморрагий и могут быть прогностическими критериями риска развития инсульта мозга в первые дни после рождения. Высокая чувствительность бета-2-адренорецепторов к их фармакологической стимуляции на стадии прединсульта свидетельствует о том, что адренергические механизмы вазорелаксации играют важную роль в нарушении венозного кровотока мозга и открывают перспективу для дальнейшего изучения фармакологической коррекции указанных процессов и предотвращения развития геморрагического инфаркта мозга у новорожденных детей.

Ключевые слова: мозговой кровоток, внутричерепные кровоизлияния, бета-2-адренозависимая вазорелаксация.

The Role of Beta-2-Adrenomediated Mechanisms of Injuries of Venous Cerebral Blood Flow in Newborn Rats with Intracranial Hemorrhage

O. V. Semyachkina-Glushkovskaya, M. V. Ulanova,
A. S. Abdurashitov, A. S. Gekaluk, S. S. Sindeev,
O. A. Sindeeva, M. Kassim

Development of stress-induced hemorrhagic cerebral infarction in neonatal rats is accompanied by pathological relaxation of cerebral veins that provokes the appearance of venous insufficiency and reduced outflow of blood from the brain. These critical changes in cerebral blood flow precede intracranial hemorrhage and may be predictors of the risk of stroke in the first days after birth. The high sensitivity of the beta-2-adrenergic receptors to their pharmacological stimulation in the pre-stroke group indicates that adreno-related vasorelaxation mechanisms play an important role in the disorder of venous blood flow and open the prospect for further study of pharmacological correction of these processes and prevention of hemorrhagic cerebral infarct in infants.

Key words: cerebral blood flow, intracranial hemorrhage, beta-2-adrenorelated vasorelaxation.

Введение

Инфаркт мозга у новорожденных детей является актуальной и острой проблемой современной неонатологии [1, 2]. Раньше считалось,

что инфаркт мозга типичен только для недоношенных детей, однако благодаря развитию оптических технологий визуализации мозга стало очевидно, что данная патология проявляется с такой же частотой у доношенных детей, как и у недоношенных [2, 3]. Основная проблема неонатального инфаркта мозга заключается в том, что у большинства новорожденных детей он маскируется под другими симптомами и часто не диагностируется [4, 5]. Лечение таких детей в настоящий момент является для них случайной, а не заранее спланированной тактикой врача. Очевидно, что для решения указанной проблемы необходимо детальное изучение механизмов, лежащих в основе феномена развития инфаркта мозга в первые дни после рождения.

Предполагается, что нарушения мозгового кровообращения являются одним из ведущих механизмов, лежащих в основе развития инфаркта мозга у новорожденных детей [6]. Однако, несмотря на широкое внедрение в клинику оптических технологий, позволяющих оценивать изменения в церебральной гемодинамике и оксигенации тканей мозга, тем не менее, не существует эффективных критериев для прогнозирования критических сдвигов в мозговом кровотоке и оценки риска возникновения интракраниальных геморрагий в первые дни после рождения. Существуют гипотезы, что снижение кровоснабжения мозга новорожденных может быть главной причиной низкой устойчивости церебральных сосудов к повреждающим факторам [6, 7]. В наших предыдущих исследованиях на взрослых гипертензивных крысах и новорожденных особях с инфарктом мозга было установлено, что данная патология протекает на фоне развития венозной недостаточности и застоя крови в головном мозге [7–10].

Сосуды головного мозга имеют хорошо развитую симпатическую иннервацию [8, 9]. Симпатическая нервная система играет ключе-



вую роль в регуляции миогенного тонуса мозговых артерий и вен начиная с ранних этапов онтогенеза [10, 11]. Существует гипотеза, что адренозависимая вазорелаксация играет важную роль в критическом расширении внутричерепных вен и в формировании церебральной гипотензии [12, 13]. Для проверки данной гипотезы изучили вклад механизмов адренозависимой вазорелаксации в нарушении венозного кровотока у новорожденных крыс со стресс-индуцированным инфарктом мозга [14–16].

Материалы и методы

Эксперименты проводили на новорожденных крысах ($n = 59$), возраст 2–3 дня после рождения. Все процедуры были выполнены в соответствии

с Хельсинской декларацией о гуманном обращении с животными при проведении экспериментальных работ [17]. Крыс содержали в стандартных условиях вивария Саратовского государственного университета: температура -25 ± 2 °С, влажность – 55%, цикл свет/темнота 12 : 12 ч.

Измерение мозгового кровотока проводили у крыс с фиксированной головой под газовой анестезией (изофлуран) через небольшой разрез кожи в области родничка, при этом целостность черепа не была нарушена. В качестве объекта оптической визуализации был выбран сагиттальный синус, являющийся магистральной веной мозга, собирающей кровь от всех церебральных вен и выводящей ее через яремную вену на периферию (рис. 1).



Рис. 1. Сагиттальный синус (отмечен стрелкой) у новорожденной крысы

Инфаркт мозга у новорожденных крыс вызывали путем воздействия на них прерывистого звука силой 120 дБ по следующему алгоритму: 10 с – звук, 60 с – пауза, далее цикл повторялся в течение 2 ч. Подробное описание метода приведено в [18].

Мозговой кровоток изучали с применением системы оптической спекл-визуализации.

Для активации адренергических механизмов вазорелаксации применяли изопротеренол (Sigma, 0.05 мкг/кг, iv).

Регистрацию мозгового кровотока в сагиттальном синусе проводили в течение 10 мин до введения препарата и на протяжении 30 мин после инъекции в следующих группах: 1) контрольные животные ($n = 10$); 2) крысы до инфаркта мозга (через 4 ч после стресса, $n = 10$); 3) крысы после инфаркта мозга (через 24 ч после стресса,

$n = 9$). Для исключения эффекта введения препарата на мозговой кровоток в эксперимент были включены аналогичные группы (по 10 крыс в каждой группе), получающие физиологический раствор.

Изменения относительно базальных значений оценивали с помощью теста Wilcoxon. Межгрупповые различия оценивали с применением теста ANOVA. Различия считались достоверными при $p < 0.05$. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего.

Результаты и их обсуждение

Данные по изменению мозгового кровотока на фоне развития геморрагического инфаркта мозга и фармакологической стимуляции бета-2-адренорецепторов представлены в таблице. Как видно из таблицы, значения перфузии тканей



мозга не различались между группами, получающими и не получающими физиологический раствор. Таким образом, был исключен эффект самого введения раствора как внешнего воздействия на состояние мозговой гемодинамики.

Через 4 ч после воздействия звуковым стрессом, когда интракраниальные геморрагии еще не развиваются, наблюдалось повышение перфузии на 22% ($p < 0.05$). Через 24 ч на фоне мозговых кровоизлияний перфузия имела тенденцию к еще более выраженному увеличению по сравнению с прединсультной группой (пер-

фузия была выше на 8%), однако эти изменения носили статистически незначимый характер. По сравнению с контролем в этой группе перфузия увеличивалась на 32%, $p < 0.05$. Таким образом, вызванные стрессом нарушения в церебральной гемодинамике развивались во времени, проявляясь в постепенном нарастании притока крови к мозговым сосудам, что выражалось в повышении перфузии. Полученные данные положительно коррелируют с нашими предыдущими результатами, полученными на новорожденных, а также на взрослых крысах [8–10].

Изменение перфузии тканей мозга (усл. ед) у новорожденных крыс до и после введения изопротеренола при нормальном состоянии и на разных стадиях развития инсульта мозга

Базальный уровень	Здоровые крысы	Крысы через 4 ч после стресса (прединсультное состояние)	Крысы через 24 ч после стресса (после развития инсульта)
Перед введением физиологического раствора	276 ± 11	346 ± 15*	372 ± 11 *
После введения физиологического раствора	279 ± 9	341 ± 13*	370 ± 15 *
Введение изопротеренола	234 ± 7	249 ± 12	337 ± 17*†

Примечание. $p < 0.05$ по сравнению: * – со здоровыми крысами; † – между стрессированными крысами.

На следующем этапе исследований мы изучали влияние фармакологической стимуляции бета-2-адренорецепторов на перфузию тканей мозга и состояние сагиттального синуса у новорожденных крыс в норме и на разных стадиях развития геморагического инфаркта мозга. Результаты показали, что в норме введение изопротеренола сопровождалось релаксацией сагиттального синуса. Диаметр вены увеличивался на 20%, $p < 0.05$ (0.30 ± 0.02 мм против 0.25 ± 0.07 мм, $p < 0.05$). На фоне дилатации главного церебрального синуса отмечалось снижение перфузии на 17%, $p < 0.05$ (см. таблицу).

Введение изопротеренола прединсультной группе выявило более высокую чувствительность животных к данному воздействию, несмотря на стресс-индуцированное расширение сагиттального синуса (0.33 ± 0.04 мм против 0.25 ± 0.07 мм, $p < 0.05$). Действительно, диаметр вены в этой группе после инъекции препарата увеличивался на 36% (0.45 ± 0.02 мм против 0.33 ± 0.07 мм, $p < 0.05$), что было в 1,5 раза больше, чем в контроле. Перфузия в этой группе под влиянием изопротеренола снижалась на 27% ($p < 0.05$). Таким образом, крысы на стадии прединсульта явились более чувствительными к активации адренергических механизмов вазорелаксации на фоне стресс-индуцированного расширения церебральных вен. Данные результаты свидетельствуют о том, что повышенная активация бета-2-адренорецепторов может явиться

одним из важных механизмов, лежащих в основе патологической релаксации мозговых вен, предшествующих развитию инсульта.

На фоне развития геморагического инфаркта у новорожденных крыс отмечалось прогрессивное увеличение диаметра сагиттального синуса. Так, сосуд увеличивался в 1,3 раза по сравнению с прединсультной группой (0.43 ± 0.03 мм против 0.33 ± 0.07 мм, $p < 0.05$) и в 1,7 раза по сравнению с контролем (0.43 ± 0.03 мм против 0.25 ± 0.07 мм, $p < 0.05$).

Прогрессивная релаксация сагиттального синуса свидетельствует о развитии венозной недостаточности и снижении оттока крови из мозга, что было также показано в наших более ранних исследованиях [8–10].

В условиях чрезмерного растяжения вены под нагрузкой столба крови сосуд был нечувствителен к дополнительной стимуляции вазорелаксации изопротеренолом, т.е. его диаметр не изменялся до и после введения препарата (0.45 ± 0.02 мм против 0.42 ± 0.04 мм). Перфузия снижалась на 9%, что, однако, было недостоверно (см. таблицу).

Типичные примеры изменения картины спекл-визуализации перфузии в области сагиттального синуса у новорожденных крыс до и после введения изопротеренола на разных этапах развития инсульта мозга показаны на рис. 2 и 3.

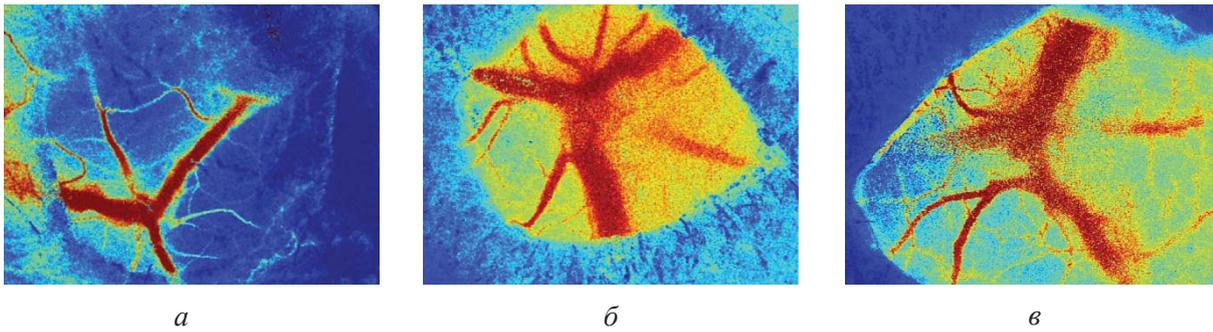


Рис. 2. Спекл-визуализация перфузии тканей мозга в области сагиттального синуса: *а* – в условиях нормы; *б* – 4 ч после стресса (прединсультная группа); *в* – 24 ч после стресса (крысы с инсультом)

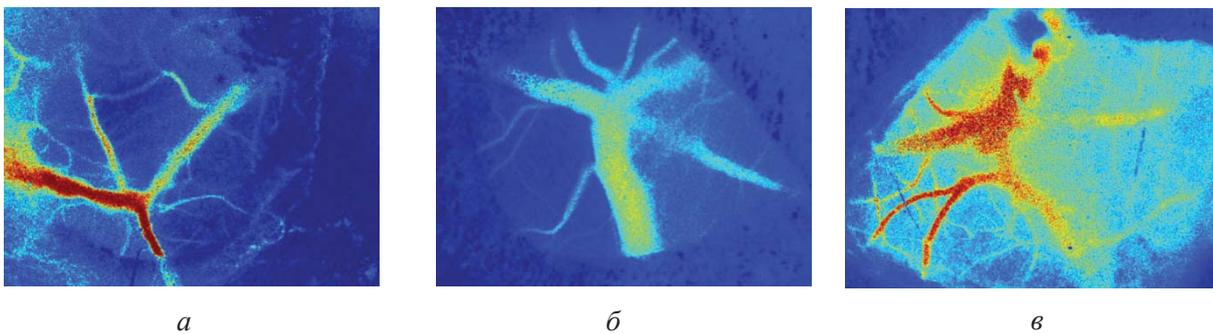


Рис. 3. Эффекты изопротеренола на перфузию тканей мозга в области сагиттального синуса: *а* – в условиях нормы; *б* – 4 ч после стресса (прединсультная группа); *в* – 24 ч после стресса (крысы с инсультом)

В целом результаты исследования показали, что развитие стресс-индуцированного геморрагического инфаркта мозга у новорожденных крыс сопровождается развитием патологической релаксации церебральных вен, что провоцирует появление венозной недостаточности и снижение оттока крови из мозга. Данные критические изменения в мозговом кровотоке предшествуют появлению интракраниальных геморрагий и могут быть прогностическими критериями риска развития инсульта мозга в первые дни после рождения. Высокая чувствительность бета-2-адренорецепторов к их фармакологической стимуляции на стадии прединсульта свидетельствует о том, что адренергические механизмы вазорелаксации играют важную роль в нарушении венозного кровотока мозга и открывают перспективу для дальнейшего изучения фармакологической коррекции указанных процессов и предотвращения развития геморрагического инфаркта мозга у новорожденных детей.

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

Список литературы

1. *Annemieke J. B.* Hemorrhage in full-term newborns : a hospital-based cohort study // *Neuroradiology*. 2010. Vol. 52. P. 567–576.
2. *Lo W. D.* Childhood hemorrhagic stroke : An important but understudied problem // *J. of Child Neurology*. 2011. Vol. 26 (9). P. 1174–1185.
3. *Gupta S. N.* Intracranial hemorrhage in term newborn : management and outcomes // *Pediatr Neurol*. 2009. Vol. 40. P. 1–12.
4. *Whitby E. H.* Frequency and natural history of subdural heamorrhages in babies and relation to obstetric factor // *Lancet*. 2004. № 363. P. 846–851.
5. *Looney C. B.* Intracranial hemorrhage in asymptomatic neonates : prevalence on MR images and relationship to obstetric and neonatal risk factors // *Radiology*. 2007. Vol. 242. P. 535–541.
6. *Ballabh P.* Intraventricular hemorrhage in premature infants : mechanism of disease // *Pediatr Res*. 2010. Vol. 67(1). P. 1–8.
7. *Meek J.* Low cerebral blood flow is a risk factor for severe intraventricularhaemorrhage // *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed*. 1999. July. Vol. 81(1). F15–F18.
8. *Pavlov A. N.* Multiresolution analysis of pathological changes in cerebral venous dynamics in newborn mice with intracranial hemorrhage : adrenorelateddva-



- sorelaxation // *Physiol. Measurement*. 2014. Vol. 35. P. 1983–1999.
9. *Semyachkina-Glushkovskaya O. B.* 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.
 10. *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.
 11. *Edvinsson L.* Adrenergic mechanisms In : *Cerebral Blood Flow and Metabolism* / eds. L. Edvinsson, E. T. MacKenzie, J. McCulloch. N.Y. : Raven Press, 1993.
 12. *Edvinsson L.* Perivascular nerves in brain vessels. In: *Cerebral Blood Flow and Metabolism* / eds. L. Edvinsson, D. Krause. Philadelphia : Lippincott, Williams & Wilkins, 2002.
 13. *Bevan J. A.* Adrenergic regulation of vascular smooth muscle // Chapt. 18 in *The Handbook of Physiology. The Cardiovascular System. Vascular Smooth Muscle*, Amer. Physiol. SocBethesda. 1981. Sect. 2. Vol. II. P. 515–566.
 14. *Busija D. W.* Factors involved in the physiological regulation of cerebral circulation // *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 1984. Vol. 101. P. 161–211.
 15. *McCalden T. A.* Sympathetic control of the cerebral circulation // *J. Auton. Pharmacol.* 1981. Vol. 1. P. 421–431.
 16. *Yoshikazu K.* Role of adenosine A2 receptors in regulation of cerebral blood flow during induced hypotension // *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 2010. April. Vol. 30(4). P. 808–815.
 17. 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 laboratory animals. 8th ed. Washington : The Nat. Acad. Press, 2011. URL: <http://oacu.od.nih.gov/regs/guide/guide.pdf> (accessed 28 February 2013).
 18. Пат. 2506805 РФ. Способ моделирования развития мелкоочаговых мозговых геморрагий в коре головного мозга у новорожденных крыс / Семьячкина-Глушковская О. В., Заявл. 2012145191 от 24.10.2012; Опубл. 27.01.2014; Бюл. № 3.