

on gastric mucosa in rats // Jpn. J. Pharmacol. - 1996. - Vol. 72(2). - P. 137-147.

14. Sibia V., Pagani F., Rindi G. et al. Central ghrelin gastroprotection involves nitric oxide/prostaglandin cross-talk // Br J Pharmacol. - 2008. - Vol. 154(3). - P. 688-697.

Координаты для связи с авторами: Животова Елена Юрьевна — канд. мед. наук, ст. науч. сотр. ЦНИЛ ДВГМУ, elena-jivotova@yandex.ru; Масленникова Наталья Викторовна — науч. сотрудник ЦНИЛ ДВГМУ, тел.:

8(4212) 32-99-64; Флейшман Марина Юрьевна — канд. мед. наук, вед. науч. сотр. ЦНИЛ, e-mail: marfl@yandex.ru; Лебедько Ольга Антоновна — доктор мед. наук, вед. науч. сотр. НИИ ОМиД, e-mail: leoaf@mail.ru; Сазонова Елена Николаевна — зав. кафедрой нормальной физиологии ДВГМУ, e-mail: sazen@mail.ru; Тимошин Сергей Сергеевич — зав. ЦНИЛ ДВГМУ, тел.: 8(4212) 32-99-64, e-mail: timoshinss@yandex.ru.



УДК 616 - 053.1 : 612.82 - 599.323.4

Е.Н. Сазонова, А.А. Симанкова, С.Ю. Крыжановская, С.С. Тимошин

ВЛИЯНИЕ АНТЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ НА НЕКОТОРЫЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС В РАННЕМ ПЕРИОДЕ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Дальневосточный государственный медицинский университет¹,

680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел.: 8(4212)32-63-93, e-mail: nauka@mail.ru;

НИИ охраны материнства и детства СО РАМН², 680022, ул. Воронежская, 49, кор. 1, e-mail: iomid@yandex.ru;

Дорожная клиническая больница ст. Хабаровск-1 ОАО «РДЖ»³,

680022, ул. Воронежская, 49, тел.: 8(4212) 98-03-58, г. Хабаровск

Аntenатальная гипоксия вызывает существенные изменения функционирования многих систем организма, при этом, в первую очередь, страдает центральная нервная система. До 72% новорожденных, перенесших гипоксию в антенатальном и интранатальном периодах, имеют психоневрологический дефицит различной степени тяжести [4]. Проблему последствий антенатальных гипоксических поражений головного мозга нельзя считать решенной. Особенно актуальным является выявление связей изменений в нервной ткани на клеточном уровне с выраженностью неврологического дефицита и расстройствами высшей нервной деятельности [5, 8]. Этот вопрос и определил цель предлагаемого исследования.

Материалы и методы

В работе использовали потомство рандомбредных 3-месячных белых крыс-самок, подвергнутых гипоксическому воздействию с 14 по 19 сут гестации. Использование белых крыс в качестве модели антенатальных гипоксических повреждений ЦНС оправдано имеющимися данными о выраженном сходстве между грызунами и высшими млекопитающими по церебральному кровоснабжению и биологии нервных клеток [10]. Беременных крыс-самок помещали в барокамеру СБК-48 натошак и «поднимали» на высоту 9000 м над уровнем моря, что соответствовало давлению 224 мм рт.ст. и парциальному давлению кислорода 42 мм. рт.ст. Ежесуточную 4-часовую экспозицию проводили с 9 до 13 ч в течение 6 дн. По

данным литературы, такая гипоксия может быть расценена как тяжелая [7].

После рождения крысят, в каждом выводке оставляли по 8-10 животных, у которых проводили регистрацию ряда показателей развития. Уравнивание выводков было необходимо для исключения влияния на регистрируемые параметры нутритивного фактора. Осуществляли наблюдение за подопытными животными до достижения ими 17-суточного возраста. В динамике оценивали массу тела животных. В 1- и 7-суточном возрасте определяли массу головного мозга гравиметрическим методом. Исследование пролиферативной активности нейрональных структур осуществляли методом автордиографии с меченым тритием тимидином у 7-суточных животных. Подсчитывали индекс меченых ядер (ИМЯ, %) в неокортексе собственной теменной доли и гиппокампе. Для оценки функционального состояния ЦНС в неонатальном возрасте (с 1 по 7 сут жизни) проводили тест на отрицательный геотропизм и тест на удержание животного на передних лапах в висающем положении на горизонтальной проволоке [3]. Статистическую обработку полученных экспериментальных данных осуществляли по критерию Стьюдента при помощи пакета прикладных программ Statistika 5.0. Всего в эксперименте было использовано 76 животных.

Результаты и обсуждение

Исследование в динамике массы тела животных, перенесших антенатальную гипоксию, выявило достовер-

ное снижение показателя в неонатальном возрасте (рис. 1). Уменьшение массы тела белых крыс, перенесших антенатальную гипоксию, в течение периода новорожденности и первого месяца жизни описано в литературе [3]. В последующие возрастные периоды происходит нивелирование отличий между контрольными и подопытными животными по показателю массы тела. Более того, мы зарегистрировали транзиторное превышение массы тела подопытных животных над контрольными показателями в возрасте 9-10 сут. Сходная динамика массы тела подвергнутых антенатальной гипоксии белых крыс в раннем постнатальном периоде описана в литературе [9].

Воздействие антенатальной гипоксии индуцировало достоверное снижение абсолютной массы мозга экспериментальных животных (табл. 1). Нами выявлено, что эффект снижения массы мозга животных, перенесших антенатальную гипоксию, сохраняется и при сопоставлении экспериментальных групп «контроль»–«гипоксия», стандартизованных по массе тела. Таким образом, снижение массы мозга подопытных животных не может быть обусловлено только микросомией. Масса мозга является достаточно информативным показателем. Работами Б.Я. Рыжавского и соавт. [6] было установлено наличие выраженной прямой зависимости между массой мозга новорожденных животных и показателями толщины коры передней теменной и собственно теменной доли, диаметром ядер и количеством ядрышек в нейронах неокортекса и гиппокампа.

Одной из возможных причин уменьшения массы мозга подопытных животных может быть снижение пролиферативной активности нейроцитов. При анализе ДНК-синтетических процессов в нейрональных структурах 7-суточных белых крыс, перенесших антенатальную гипоксию, нами было выявлено достоверное уменьшение ИМЯ в неокортексе собственно теменной доли и гиппокампе (рис. 2). Методика автордиографии не позволяет достоверно идентифицировать тип клеток (нейроцит/глиоцит) с включением 3Н-тимидина. Этот вопрос требует дальнейшего изучения. Вместе с тем, снижение пролиферативной активности исследованных нейрональных структур соответствует сведениям о недоразвитии всех слоев неокортекса у животных, перенесших антенатальную гипоксию в постимплантационный период [1].

Таким образом, использованная нами модель антенатальной гипоксии индуцировала существенные структурные изменения в головном мозге подопытных белых крыс — нами было выявлено уменьшение массы головного мозга и достоверное снижение пролиферативной активности клеток мозга в неонатальном периоде.

Таблица 1

Показатели массы мозга белых крыс, подвергнутых антенатальной гипоксии

Показатель	Контроль	Гипоксия
1-суточные животные	269,55±11,99	228,18±6,85* p=0,007
7-суточные животные	585,45±16,64	492,31±14,19* p=0,0003

Примечание. * — p<0,05 по отношению к контролю.

Резюме

Целью работы являлось выяснение особенностей раннего постнатального развития мозга у новорожденных крыс, перенесших антенатальную гипоксию с 14 по 19 сут гестации. Обнаружено достоверное снижение массы тела подопытных животных. Воздействие антенатальной гипоксии индуцировало достоверное снижение абсолютной массы мозга у 1- и 7-суточных животных; с помощью автордиографии с 3Н-тимидином выявлено достоверное снижение ДНК-синтетической активности клеток мозга у 7-суточных подопытных животных. У новорожденных животных, перенесших антенатальную гипоксию, наблюдалось существенное снижение функциональных показателей зрелости ЦНС в тестах отрицательного геотропизма и виса на горизонтальной проволоке.

Ключевые слова: антенатальная гипоксия, мозг, поведенческие реакции, синтез ДНК.

E.N. Sazonova, A.A. Simankova, C.Yu. Krizhanovskaya, S.S. Timoshin

EFFECT OF ANTENATAL HYPOXIA ON SOME STRUCTURAL AND FUNCTIONAL INDEXES OF WHITE RATS BRAIN IN THE EARLY PERIOD OF POSTNATAL ONTOGENESIS

The Far eastern state medical university;
Khabarovsk Faculty of State Founding Scientific research
institute of Mother and Child Care,
Khabarovsk; Railroad hospital, Khabarovsk

Summary

The aim of the study was to investigate the physiological development of the brain in pups subjected to antenatal hypoxia from 14th till 19 day of gestation. We had found that body weight of the rats was significantly decreased in neonatal period. The exposure to antenatal hypoxia led to a significant decrease in absolute brain mass of experimental animals, resulting in significant decrease in proliferative activity of brain cells. Animals of experimental group manifested a delayed physiological development due to a marked reduction in the functional parameters of maturity of the CNS in neonatal period.

Key words: antenatal hypoxia, brain, behavioral responses, DNA synthesis.

Наблюдаемые структурные нарушения сопровождались выраженными функциональными изменениями. Новорожденные животные, перенесшие антенатальную гипоксию, достоверно хуже выполняли тест отрицательного геотропизма. Так, у 1-суточных крысят подопытной группы наблюдалось достоверное уменьшение угла поворота в 1,7 раза: средний показатель поворота в контроле составил 71,53±12,20°, в опыте — 40,98±9,41°. Воздействие антенатальной гипоксии достоверно, в 2,8 раза, снижало количество одностуточных животных, способных к полному повороту (180°), в тесте отрицательного геотропизма: в контрольной группе полный поворот осуществляли 12,60±2,94% животных, в подопытной группе — 4,52±1,67%. Отчетливая статистическая тенденция к снижению показателей выполнения теста отрицательного

Таблица 2

Влияние антенатальной гипоксии на выполнение теста отрицательного геотропизма (в усл. баллах)

Показатель	Контроль	Гипоксия
2-суточные животные	1,583±0,166	1,000±0,156*; p=0,01
5-суточные животные	2,028±0,193	1,575±0,198; p=0,09
7-суточные животные	2,650±0,098	2,650±0,137

Примечание. — p<0,05 по отношению к контролю.

геотропизма сохранялась до 5 сут постнатального развития: у 5-суточных животных контрольной группы угол поворота составил $120,00 \pm 12,61^\circ$; в подопытной группе — $88,63 \pm 12,83^\circ$ (p=0,09). Анализ теста отрицательного геотропизма в баллах по Н.М. Дубровской, И.А. Журавину (2008) [2] приведен в табл. 2. Нарушение показателей зрелости ЦНС после перенесенной антенатальной гипоксии проявилось у 7-суточных животных в виде достоверного уменьшения времени виса животных на горизонтальной проволоке. Имело место почти двухкратное высокодостоверное снижение показателя: в контроле — $11,03 \pm 1,86$ с; в опыте — $5,70 \pm 0,95$ с (p=0,01).

Выполнение приведенных тестов (отрицательного геотропизма и виса на горизонтальной проволоке) требует высокой координации движений головы, туловища и конечностей и в значительной степени зависит от развития сенсомоторных областей переднего мозга. Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о существенном снижении функциональных показателей зрелости ЦНС новорожденных животных, перенесших антенатальную гипоксию.

Полученные результаты определяют необходимость дальнейших экспериментальных исследований с целью анализа отдаленных последствий наблюдаемых изменений и обоснования эффективности лечебно-профилактических мероприятий при антенатальной гипоксии в неонатологии и педиатрии.

Выводы

1. Антенатальная гипоксия индуцирует достоверное снижение массы тела и массы мозга новорожденных белых крыс.
2. У 7-суточных животных, перенесших антенатальную гипоксию, наблюдается достоверное снижение ДНК-синтетической активности клеток неокортекса собственной теменной доли и гиппокампа.
3. Новорожденные животные, перенесшие антенатальную гипоксию, характеризуются снижением функциональных показателей зрелости ЦНС по тестам отрицательного геотропизма и виса на горизонтальной проволоке.

Л и т е р а т у р а

1. Граф А.В., Гончаренко Е.Н., Соколова Н.А. и др. Антенатальная гипоксия: участие в развитии патологии ЦНС в онтогенезе // Нейрохимия. - 2008. - Т. 25, №1-2. - С. 11-16.
2. Дубровская Н.М., Журавин И.А. Онтогенетические особенности поведения крыс, перенесших гипоксию на 14-е или 18-е сутки эмбриогенеза // Журн. высш. нервн. деятельности. - 2008. - №6. - С. 718-724.

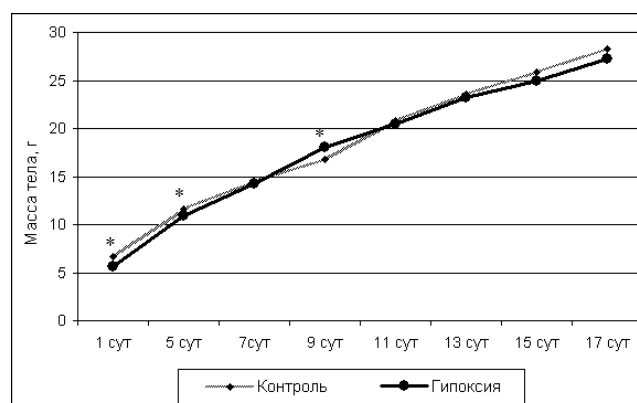


Рис. 1. Масса тела белых крыс контрольной и подопытной групп в раннем постнатальном периоде.
* — p<0,05 по отношению к контролю

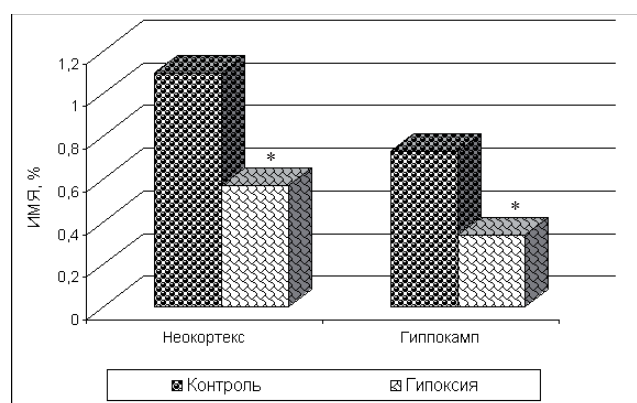


Рис. 2. ДНК-синтетическая активность нейрональных структур у 7-суточных белых крыс, перенесших антенатальную гипоксию.
* — p<0,05 по отношению к контролю

3. Журавин И.А., Дубровская Н.М., Туманова Н.Л. Постнатальное физиологическое развитие крыс после острой пренатальной гипоксии // Рос. физиол. журнал. - 2003. - №5. - С. 522-532.
4. Игнатъева Р.К. Перинатальные проблемы в России. - М., 2006. - 40 с.
5. Лебедев С.В., Карасев А.В., Рогаткин С.О. и др. Проблемы и перспективы экспериментального моделирования перинатальных гипоксически-ишемических повреждений центральной нервной системы // Вестн. Рос. АМН. - 2009. - № 2. - С. 21-26.
6. Рыжавский Б.Я. Развитие головного мозга: отдаленные последствия влияния некомфортных условий. - Хабаровск, 2009. - 278 с.
7. Савченков Ю.И., Лобынцев К.С. Очерки физиологии и морфологии функциональной системы мать — плод. - М.: Медицина, 1980. - С. 72-105.
8. Almlı C.R., Levy T.J., Han B.H. et al. BDNF protects against spatial memory deficits following neonatal hypoxia-ischemia // Exp. Neurol. - 2000. - Vol. 166. - P. 99-114.
9. Gross J., Burgoyne R. D., Rose S. P. Influence of prenatal hypoxia on brain development: effect on body weight, brain weight, DNA, protein, acetylcholinesterase, 3-quinuclidinyl benzilate binding, and in vivo incorporation of lysine into subcellular fraction // Pediatr Res. - 1999. - Vol. 46, №2. - P. 41-45.

10. Vanucci R.C., Vanucci S.J. A model of perinatal hypoxic-ischemic brain damage // Ann.N.Y.Acad. Sci. - 1997. - Vol. 32. - P. 234-249.

Координаты для связи с авторами: Сазонова Елена Николаевна — доктор мед. наук, вед. науч. сотр. ЦНИЛ ДВГМУ, зав. кафедрой нормальной физиологии ДВГМУ,

тел.: 8(924) 206-34-63, e-mail:sazen@mail.ru; Симанкова Анна Александровна — студентка 5 курса педиатрического факультета ДВГМУ, тел.: 8(962) 229-12-26; Крыжановская Светлана Юрьевна — канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник ЦНИЛ ДВГМУ; Тимошин Сергей Серафимович — зав. ЦНИЛ ДВГМУ, тел.: 8(4212) 32-99-64, e-mail: timoshinss@yandex.ru.



УДК 616 - 053.1 : 612.82 - 599.323.4

Е.Н. Сазонова, А.А. Симанкова, О.А. Лебедько, С.Ю. Крыжановская, С.С. Тимошин

ВЛИЯНИЕ АНТЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ БЕЛЫХ КРЫС

Дальневосточный государственный медицинский университет¹,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел.: 8(4212) 32-63-93, e-mail nauka@mail.ru;
НИИ охраны материнства и детства СО РАМН²,
680022, ул. Воронежская, 49, кор. 1, e-mail: iomid@yandex.ru;
Дорожная клиническая больница ст. Хабаровск-1 ОАО «РЖД»³,
680022, ул. Воронежская, 49, тел.: 8(4212) 98-03-58, г. Хабаровск

Аntenатальная гипоксия вызывает существенные изменения в функционировании центральной нервной системы млекопитающих. Резидуальные последствия перинатального гипоксического поражения нервной системы проявляются не только на раннем этапе постнатального онтогенеза, но и продолжают существовать в более поздние возрастные периоды [1]. В ранее проведенном исследовании нами были показаны выраженные структурно-функциональные нарушения ЦНС у новорожденных белых крыс, подвергнутых антенатальной гипоксии.

Целью настоящего исследования явилось изучение долгосрочных последствий антенатального гипоксического поражения головного мозга в модели на животных.

Материалы и методы

В работе использовали потомство рандомбредных 3-месячных белых крыс-самок, подвергнутых гипоксическому воздействию с 14 по 19 сут гестации. Беременных крыс-самок помещали в барокамеру СБК-48 натошак и «поднимали» на высоту 9000 м над уровнем моря, что соответствовало давлению 224 мм рт.ст. и насыщению кислорода 42 мм рт.ст. Ежесуточную 4-часовую экспозицию проводили с 9 до 13 ч в течение 6 дн. После рождения крысят в каждой выводке оставляли по 8-10 животных, у которых проводили регистрацию ряда показателей развития. Уравнивание выводков было необходимо для исключения влияния на регистрируемые параметры нутритивного фактора. Осуществляли наблюдение за подопытными животными до достижения ими репродуктивного возраста. В динамике оценивали массу тела животных. 30-суточных белых крыс подвергали тестированию в «открытом поле» и приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ).

Повторное тестирование в ПКЛ осуществляли в подгруппе крыс-самцов в 60-суточном возрасте.

После эвтаназии мозг 60-суточных животных подвергали гравиметрии. Для анализа процессов свободнорадикального окисления (СРО) в гомогенатах полушарий мозга 60-суточных животных проводили хемилюминесцентное исследование (ХМЛ). Регистрацию ХМЛ осуществляли на люминесцентном спектрометре LS 50B «PERKIN ELMER». Стандартизацию сигнала и математическую обработку кривых ХМЛ выполняли с помощью встроенной программы Finlab. Спонтанную и индуцированную Fe^{2+} ХМЛ исследовали по методу [2]. Определяли: светосумму за 1 мин спонтанной ХМЛ ($S_{сп.}$), величина которой коррелирует с интенсивностью свободнорадикальных процессов; максимум быстрой вспышки (H_1), индуцированной ХМЛ, свидетельствующий о содержании гидроперекисей липидов; светосумму ($S_{инд.1}$) за 2 мин после «быстрой» вспышки, отражающую скорость образования перекисных радикалов липидной природы. Кинетику ХМЛ, инициированную H_2O_2 в присутствии люминола, анализировали по двум параметрам: максимуму свечения (H_2), указывающему на потенциальную способность биологического объекта к перекисному окислению, и светосумме за 2 мин ХМЛ ($S_{инд.2}$), величина которой свидетельствует об активности антиоксидантной антирадикальной защиты. Интенсивность ХМЛ, измеренную в милливольтах, рассчитывали на 1 г влажной ткани и выражали в условных единицах.

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных осуществляли по критерию Стьюдента при помощи пакета прикладных программ Statistika 5,0. Всего в эксперименте было использовано 56 животных.