

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

**РОЛЬ СТРЕССА В НАРУШЕНИИ БАРЬЕРНОЙ ФУНКЦИИ МОЗГА У  
ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ ДИПЛОМНОЙ РАБОТЫ

студентки 2 курса 241 группы

Направления 06.04.01 – Биология

Биологического факультета

Улановой Марии Васильевны

Научный руководитель  
заведующий кафедрой  
физиологии человека и животных,  
д.н.б., доцент

О.В Семячкина-Глушкинская

Заведующий кафедрой  
д.б.н., доцент

О.В Семячкина-Глушкинская

Саратов 2018

## **ВВЕДЕНИЕ**

В течение последних десятилетий одним из распространенных заболеваний является ишемический инсульт (ИИ), который приобретает все большую значимость в связи с высокой частой встречаемостью цереброваскулярной патологией, высоким уровнем смертности и инвалидизации населения [1]. ИИ занимает второе место после инфаркта миокарда [2]. Главными предпосылками к развитию инсульта головного мозга являются, такие факторы как, стресс и хроническое высокое артериальное давление [3-5]. Причины развития инсульта остаются неизвестными, однако, стрессу и высокому артериальному давлению уделяется большое внимание как основным факторам риска сосудистых "катастроф" мозга.

В последние годы учеными активно обсуждаются роль гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), который контролирует гомеостаз тканей мозга за счет регулирования сосудистой проницаемости различных веществ, в развитии инсульта [6-8]. Известно, что развитие инсульта сопровождается резким повышением проницаемости сосудов головного мозга, т.е. нарушением ГЭБ [9]. Это сопровождается проникновением белков, токсичных для тканей мозга и макрофагов, которые вызывают воспалительные процессы губительные для многих функций мозга [10,11].

В наших предварительных исследованиях было показано, что ГЭБ может быть индикатором пред-инсультного состояния, т.е. по оценке сосудистой проницаемости можно прогнозировать риск развития инсульта, например, у гипертензивных объектов. Эта идея требует детального изучения, на что была направлена данные исследования.

Целью данной научной работы явилось изучение проницаемости ГЭБ до и после инсульта, возникающего у гипертензивных крыс на фоне стресса.

Для достижения цели были сформулированы следующие задачи:

1. Изучить изменения проницаемости ГЭБ при развитии высокого артериального давления.
2. Изучить изменения барьерной функции мозга на фоне высокого артериального давления и дополнительного острого стресса.

### **Научная новизна.**

Впервые в опытах на крысах с применением разработанной оригинальной модели развития стресс-индуцированного инсульта у гипертензивных было выявлено, что ГЭБ открывается для низкомолекулярных соединений (например, для гадолиния) в пред-инсультный период и может быть важным прогностическим показателем риска развития инсульта, например, у гипертензивных пациентов, что можно установить по данным магнитно-резонансной томографии с применением контрастного вещества - гадолиния.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. В условиях хронического стресса наблюдается развитие артериальной гипертензии, которая сопровождается необратимыми ишемическими поражениями тканей мозга.
2. Сочетание острого и хронического стресса на фоне артериальной гипертензии провоцируют развитие инсульта, который сопровождается нарушением ГЭБ;
3. Пред-инсультный период характеризуется повышением проницаемости ГЭБ к низкомолекулярным соединениям, что является прогностическим критерием риска развития инсульта.

## Материалы и методы

Работа выполнена на базе кафедры физиологии человека и животных Саратовского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, ЦКП «Симбиоз» ИБФРМ РАН, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, СГМУ им. В.И. Разумовского,

Эксперименты проводили на взрослых былых беспородных самцах крыс весом 250-280 грам. Животных разделили на две группы:

1 группа - контрольные животные ( $n=73$ )

2 группа - гипертензивные крысы ( $n = 93$ )

Все процедуры были выполнены в соответствии с «Руководством по уходу использованию лабораторных животных». Крыс содержали в стандартных условиях вивария Саратовского Государственного Университета: температура -  $25\pm2$  ° С, влажность - 55% и 12/12 часовом цикле свет/темнота [12].

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

На первом этапе эксперимента изучили изменения артериального давления у всех крыс, проживающих в условиях перенаселения в течение 4-х месяцев. Хронический стресс сопровождался постепенным развитием гипертензии у всех животных. Первый месяц исследования не характеризовался какими-либо изменениями в артериальном давлении ( $108\pm3$  мм рт.ст. в опытной группе и  $101\pm2$  мм рт.ст. в контрольной группе). На втором, третьем и четвертом месяце наблюдалось постепенное увеличение числа крыс с повышенным артериальным давлением ( $134 \pm 5$ ,  $p < 0,05$ ;  $141 \pm 3$ ,  $p < 0,05$ ,  $157 \pm 4$ ,  $p < 0,05$  по сравнению с  $101\pm2$  мм рт.ст., соответственно) (Рисунок 11). Таким образом, наиболее яркие результаты по

показателям уровня артериального давления и числу гипертензивных животных наблюдалось на 4 месяце исследования.

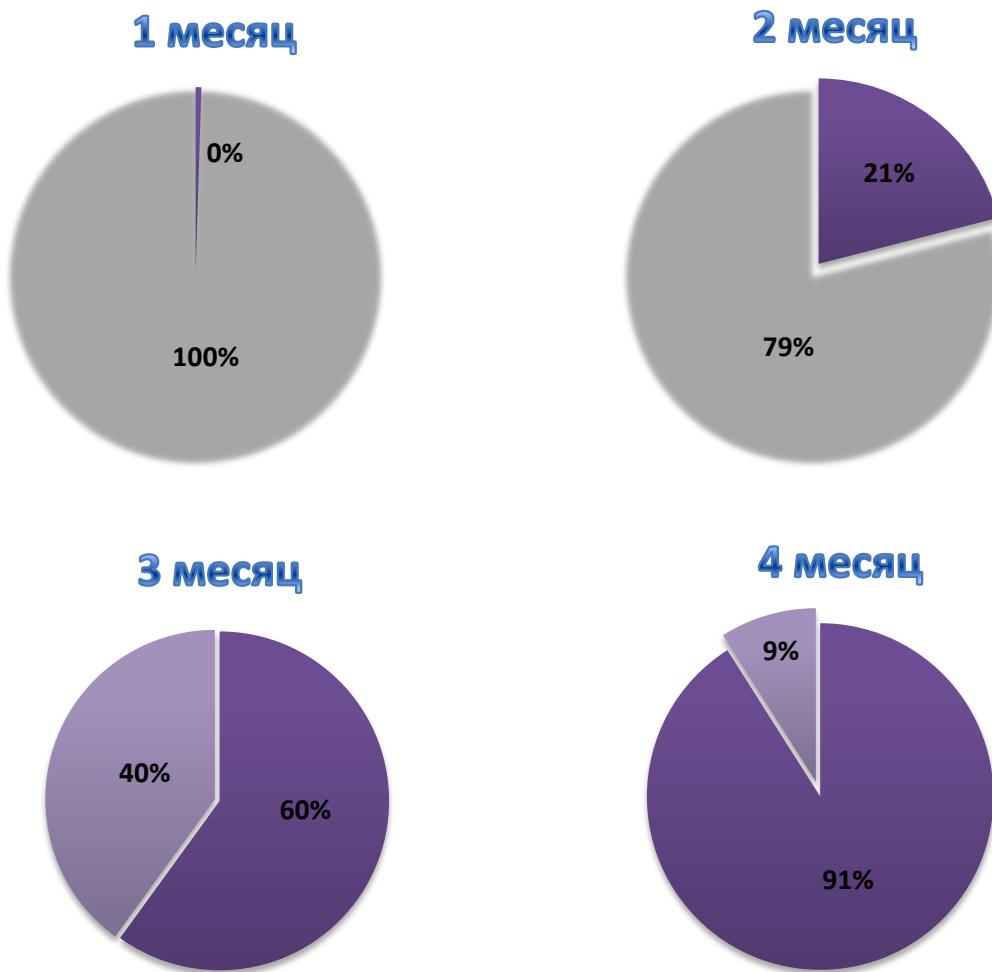


Рисунок 11 - Соотношение крыс с нормальным (  ) и высоким артериальным давлением(  ).

Результаты ясно показывают, что хронический стресс играет потенцирующую роль в формировании гипертензии. Наши результаты согласуются с данными других исследователей, свидетельствующих о том, что хронический социальный стресс, в том числе эмоциональный стресс на работе, семейные конфликты и т.д., сопровождается развитием артериальной гипертензии и может рассматриваться в качестве одной из основных причин возникновения этого заболевания [57-60].

На следующем этапе исследований изучали изменения мозгового кровотока с помощью лазерной системы спекл-визуализации. Результаты

исследования показали развитие ишемии в коре головного мозга у всех гипертензивных крыс (снижение мозгового кровотока на 17%,  $p<0.05$ , по сравнению со здоровыми животными) (Рисунок 12).

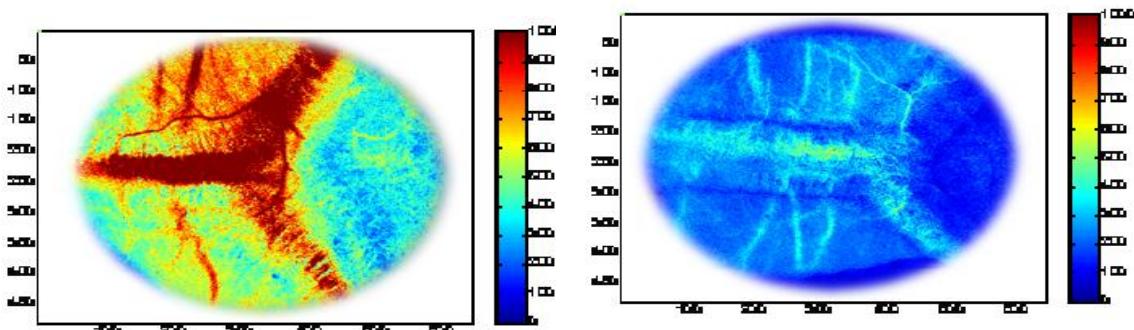


Рисунок 12 - Спекл-изображения сагиттального синуса и микрососудов вокруг него в норме (слева) и на фоне артериальной гипертензии (справа, показана ишемия, т.е. снижение мозгового кровотока в указанных сосудах).

Оптические данные подтверждались результатами гистологического анализа. Так, в коре головного мозга и подкорковых структурах нашли факторы «ишемического каскада»: образование клеток-теней или гипоксии, разряженное пространство вокруг нейронов и апоптозные тельца (Рисунок 13). Однако ни у одного животного не были обнаружены признаки инсульта, а также изменения проницаемости ГЭБ.

На фоне исследования кровотока мозга у животных изучали проницаемость ГЭБ. Для этого использовали классические методы внутривенного введения декстрана и гадолиния. Исследования показали, что эти вещества не проходят через ГЭБ ни у здоровых, ни у гипертензивных крыс.

Результаты свидетельствуют о том, что гипертензия сопровождается патологическими изменениями в сосудах мозга, приводя к развитию ишемии, что, однако, не сопровождается инсультом или поражениями ГЭБ. Иными словами, хронически высокое артериальное давление без дополнительных

отягощающих воздействий не является непосредственным провоцирующим фактором развития инсульта.

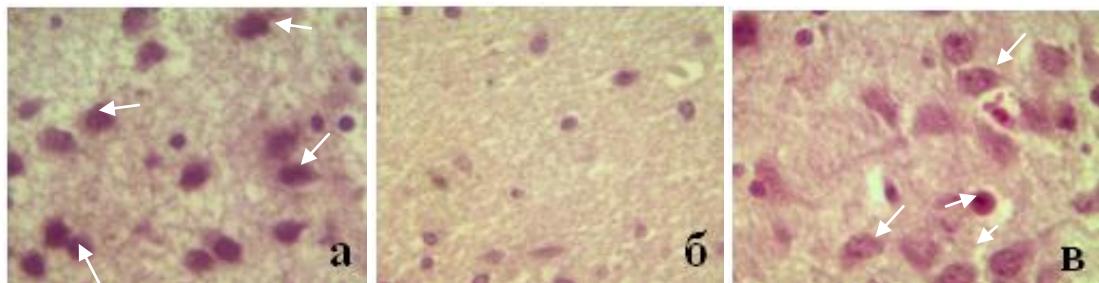


Рисунок 13 - Данные гистологического анализа головного мозга гипертензивных крыс, отражающие развитие «ишемического каскада»: а – клетки-тени (показаны стрелкой), б – разряженное пространство между нейронами, в – апоптозные тельца (показано стрелкой).

Поскольку в опытах с моделированием развития гипертензии на фоне хронического стресса мы не обнаружили развитие инсульта, на следующем этапе научных работ изучали влияние дополнительного острого стресса в виде сильного звука на устойчивость к развитию инсульта у крыс со стресс-индуцированной гипертензией.

Гистологический анализ показал, что инсульт развивается у 86% (20 из 23) гипертензивных животных.

Пред-инсультное состояние характеризуется увеличением проницаемости ГЭБ для гадолиния (522Да) и сопровождается развитием периваскулярной эдемой в мягкой мозговой оболочке мозга у гипертензивных крыс (Рисунок 14).

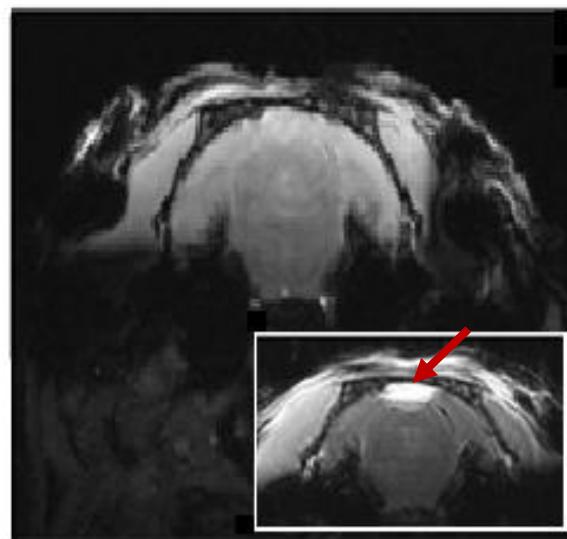


Рисунок 14 - Магнитно-резонансная томография тканей головного мозга гипертензивной крысы в пред-инсультном состоянии с применением гадолиния. На большом изображении показана норма, в белом квадрате стрелкой указано место проникновения гадолиния в ткани мозга (отмечено стрелкой яркое свечение), что отражает повышение проницаемости ГЭБ для гадолиния.

В пост-инсультном состоянии отмечалось повышение проницаемости ГЭБ как для низкомолекулярного гадолиния, так и для высокомолекулярного декстрана (70кДа) (Рисунок 15).

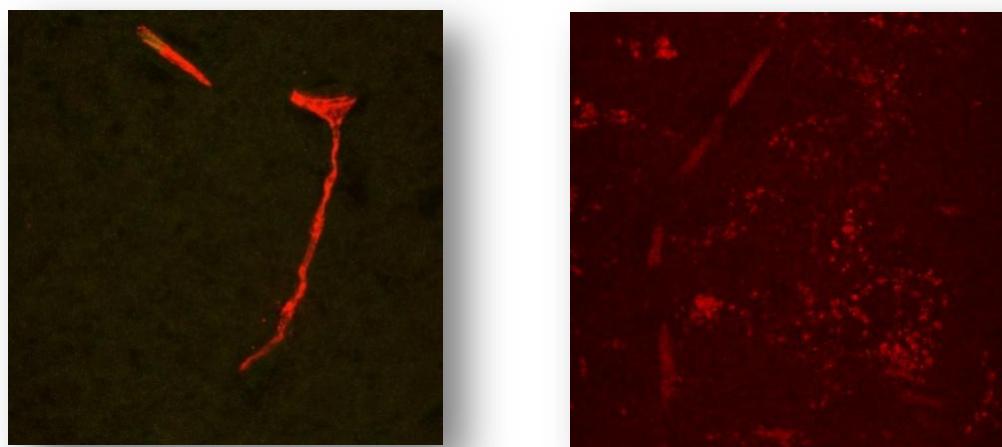


Рисунок 15 - Изображения сосудов головного мозга, сделанные с помощью конфокальной микроскопии. В норме (слева) декстран находится в

сосудах головного мозга, у гипертензивных крыс (справа) после воздействия тяжелого звукового стресса декстран проходит через ГЭБ.

Таким образом, уже в пред-инсультное состояние отмечается повышение проницаемости ГЭБ к низкомолекулярным веществам, что усугубляется в пост-инсультный период. В это время отмечается повышение проницаемости ГЭБ как для низко-, так и для высокомолекулярных веществ, что, очевидно, связано с повреждением сосудистой стенки при инсульте.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В научных исследованиях было установлено, что сочетание двух факторов, таких как хронически высокое артериальное давление и стресс провоцируют развитие инсульта у крыс, что сопровождается нарушением барьерной функции мозга. Пред-инсультное состояние характеризуется повышением проницаемости сосудов мозга к низкомолекулярным соединениям и является прогностическим критерием риска развития инсульта. Применение метода МРТ с гадолинием в качестве контрастного соединения может служить скрининговым подходом в группах риска, например, у пациентов с хронически высоким артериальным давлением, для прогноза развития инсульта.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Алферова, В. В. Клиническое значение гуморальных компенсаторных реакций в остром периоде ишемического инсульта / В. В. Алферова, М. Г. Узбеков, Э. Ю Мисионжник. // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2011. № 8. С. 36-40.
2. Стародубцева, О.С. Анализ заболеваемости инсультом с использованием информационных технологий / О. С. Стародубцева, С. В. Бегичева // Медицинские науки. 2012. № 8. С. 424-427.
3. Johansson, B.B. «Hypertension mechanisms causing stroke» / B.B. Johansson // ClinExpPharmacol Physiol. 1999. Vol. 26. №7. P. 563-565.
4. Saini M1, Blood pressure lowering and stroke / M1. Saini, A. Shuaib // Expert Rev Neurother. 2010. Vol. 10. №2. P. 225-241.
5. Eggers, A.E. A chronic dysfunctional stress response can cause stroke by stimulating platelet activation, migraine, and hypertension / A.E. Eggers // Medical Hypotheses. 2005. Vol. 65. №3. P. 542–545.
6. Исмагилов, М.Ф. Ишемический мозговой инсульт: терминология, эпидемиология, принципы диагностики, патогенетические подтипы, терапия острого периода заболевания / М.Ф. Исмагилов и др // Неврологический вестник. 2005. Т. 37. С.67-76.
7. Гусев, Е. И. Современные патогенетические аспекты формирования хронической ишемии мозга / Е. И. Гусев, А. С. Чуканова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2015. №115. С. 4-8.
8. Одинак, М.М. Повреждение и защита гематоэнцефалического барьера при ишемии / М.М Одинак., И.А. Вознюк // Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. 2003. С. 146-171.
9. Semyachkina-Glushkovskaya, O. Loud music and the specific sound stress open the blood-brain barrier: new fundamental, biomedical, and social aspects / O. Semyachkina-Glushkovskaya, V. Chekhonin, D. Bragin // Journal of Biomedical Photonics and Engineering. 2018. Vol.1, P.102-114.

10. Prakash, R. Blood-brain barrier breakdown and neovascularization processes after stroke and traumatic brain injury / R. Prakash, ST.Carmichael // CurrOpin Neurol. 2015. Vol.28. №6. P. 556-64.
11. Yung, Y. Blood-brain barrier breakdown in acute and chronic cerebrovascular disease / Y.Yung, G.A. Rosenberg // Stroke. 2011. Vol. 42. № 11. P. 3323—3328.
12. Committee for the Updare of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Institute for Laboratory Animal Research, Division on Earth and Life Studies, National Research Councilof the laboratory animals. 8th ed. Washington: The National Academies Press, 2011. URL:<http://oacu.od.nih.gov/regs/guide/guide.pdf> (accessed: 28 February 2013).

