

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСЕНА НА СОКРАТИМОСТЬ МИОКАРДА КРЫС ПОСЛЕ ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

В. В. Русаков, В. Т. Долгих, Л. Г. Шикунова*

ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия Росздрава,

* ГУ НИИ общей реаниматологии РАМН, Москва

Effects of Hypoxen on Rat Myocardial Contractility after Severe Brain Injury

V. V. Rusakov, V. T. Dolgikh, L. G. Shikunova*

Omsk State Medical Academy, Russian Agency for Health Care

* Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences

Целью исследования — изучить влияние гипоксена на сократительную функцию миокарда крыс, перенесших тяжелую ЧМТ. **Материалы и методы.** Опыты были проведены на 69 белых крысах-самцах с использованием методики изолированного сердца по Е. Т. Фоллен и др. Функциональные резервы сердца после ЧМТ оценивали с использованием гипоксической пробы с последующей реоксигенацией и нагрузки ритмом высокой частоты. **Результаты.** Применение гипоксена (внутрибрюшинно в дозе 60 мг/кг) за 24 и 1 ч до тяжелой ЧМТ способствовало увеличению скорости сокращения и расслабления миокарда левого желудочка травмированных крыс. Выявлено возрастание резистентности сердец животных, получавших препарат до или после травмы, к гипоксии-реперфузии и нагрузке ритмом высокой частоты. Введение препарата животным сопровождалось не только сохранением запасов антиоксидантов, но даже увеличивало их содержание в крови. **Заключение.** Результаты экспериментов с использованием гипоксена подтверждают значимость в формировании посттравматических изменений сократимости миокарда таких патогенетических факторов как гипоксия и окислительный стресс. **Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, сердце, гипоксен, коррекция функционально-метаболических нарушений.

Objective: to study the effects of hypoxen on the myocardial contractility of rats with severe brain injury (BI). **Materials and methods.** Experiments were made on 69 male albino rats, by using the isolated isovolumetrically contracted heart procedure as described by E. T. Fallen et al. Post-BI cardiac functional reserves were estimated by a hypoxic test, followed by reoxygenation and a high-frequency rhythm load. **Results.** The intraperitoneal injection of hypoxen in a dose of 60 mg/kg one and 24 hours before severe BI contributed to increases in the rates of left myocardial contraction and relaxation in the injured rats. There was an increase in the resistance of the hearts in the animals receiving the drug before or after injury to hypoxia-reperfusion and high-frequency rhythm loads. The administration of the drug to the animals not only sustained the reserves of antioxidants, but even increased their blood levels. **Conclusion.** The results of the experiments using hypoxen confirmed the significance of pathogenetic factors, such as hypoxia and oxidative stress, in the development of posttraumatic myocardial contractile changes. **Key words:** brain injury, heart, hypoxen, correction of functional and metabolic impairments.

Нарушение доставки кислорода к тканям, утилизации его в процессах биологического окисления, а также значительное увеличение потребности клеток в кислороде вследствие развития синдрома гиперметаболизма способствуют формированию в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы (ЧМТ) гипоксии [1–3]. Дефицит кислорода может являться стартовым сигналом, запускающим каскад биохимических нарушений, приводящих к функциональным, а затем и структурным изменениям в уже поврежденном головном мозге, то есть может выступать в качестве вторичного повреждающего фактора [4]. Причем, как известно, изменения происходят не только в ЦНС. Формируются патофизиологические сдвиги, захватывающие практически все органы и системы организма [4–6]. В ранее опубликованных работах [7, 8] нами были описаны функционально-метаболические изменения сердца травмированных крыс, в развитии которых также может иметь определенное значение гипоксия.

Одним из направлений улучшения энергетического обмена кардиомиоцитов, который является основной мишенью для гипоксии [9], является формирование искусственных редокс-систем, шунтирующих перегруженную электронами дыхательную цепь [10]. Препаратом с подобным механизмом действия является гипоксен. В литературе имеются сведения об эффективном его использовании при ишемической болезни сердца, хронической сердечной недостаточности, хронических заболеваний легких, ишемических повреждениях ЦНС [11, 12].

Цель нашего исследования — изучить влияние гипоксена на сократительную функцию миокарда крыс, перенесших тяжелую ЧМТ.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 69 белых беспородных крысах-самцах массой 160–250 г. Контрольную группу для

Таблица 1

Влияние гипоксена на биохимические показатели сыворотки крови крыс, перенесших тяжелую ЧМТ ($M \pm m$)

Показатель	Значение изучаемых показателей в группах			
	Контроль ($n=20$)	I ($n=16$)	II ($n=10$)	III ($n=11$)
Глюкоза, ммоль/л	7,44 \pm 0,38	9,0 \pm 0,64*	8,41 \pm 0,62	7,27 \pm 0,31**
Лактат, ммоль/л	2,55 \pm 0,17	3,24 \pm 0,23*	2,57 \pm 0,15**	2,38 \pm 0,21**
K ⁺ , ммоль/л	4,69 \pm 0,09	5,01 \pm 0,14	4,87 \pm 0,12	4,62 \pm 0,08**
Na ⁺ , ммоль/л	144,0 \pm 1,7	146,0 \pm 1,5	139,0 \pm 3,2	146,0 \pm 2,6
Ca, ммоль/л	2,29 \pm 0,08	1,81 \pm 0,12*	2,23 \pm 0,06**	2,27 \pm 0,05**
Ca ²⁺ , ммоль/л	1,17 \pm 0,04	1,12 \pm 0,07	1,15 \pm 0,05	1,09 \pm 0,04
АсАТ, МЕ/л	144,0 \pm 16,7	205,0 \pm 21,5	152,0 \pm 12,1	131,0 \pm 14,8**

Примечание. Здесь и в табл. 2: I группа — крысы, перенесшие тяжелую ЧМТ; II — животные, которым непосредственно после травмы внутрибрюшинно вводили гипоксен; III — крысы, получавшие гипоксен за 24 и 1 ч до ЧМТ. Достоверность различий ($p < 0,05$); * — по сравнению с контролем; ** — по сравнению с ЧМТ.

биохимических исследований составили 20 интактных животных, на 10 из которых изучена сократимость миокарда. Тяжелую ЧМТ моделировали на 49 наркотизированных эфиром крысах посредством удара по средней линии теменной области головы животного свободно падающим грузом вычисленной массы [13]. 15 крыс погибли в течение 1 ч после травмы. Выжившие животные разделены на 3 группы: I — крысы, перенесшие тяжелую ЧМТ ($n=16$), II — животные, которым непосредственно после травмы внутрибрюшинно вводили гипоксен (любезно предоставленный нам ЗАО «Корпорация Олифен», Россия) в дозе 60 мг/кг ($n=10$), III — крысы, получавшие гипоксен (60 мг/кг) за 24 и 1 ч до ЧМТ ($n=11$). Через 1 ч после травмы под нембуталовым наркозом (25 мг/кг) животным вскрывали грудную клетку и забирали сердце, сократительную функцию которого изучали на модели изолированного изолюмически сокращающегося сердца по Е. Т. Fallen et al. [14]. Функциональные резервы сердца после ЧМТ оценивали с использованием следующих приемов: 1) гипоксическая проба, при которой в течение 10 мин перфузия сердца осуществлялась раствором с меньшим напряжением кислорода (вместо 600—150 мм рт. ст.) и без глюкозы, с последующей 20-минутной реоксигенацией; 2) нагрузка ритмом высокой частоты, когда частота стимуляции сердца внезапно увеличивалась с 240 до 300 и 400 мин⁻¹. Для получения сыворотки кровь, забранную через 1 ч после травмы, центрифугировали при 2700 g в течение 30 мин на центрифуге Электрон ЦЛМН-Р10-01. Активность аспаратаминотрансферазы (АсАТ), содержание лактата, глюкозы и кальция общего определяли с помощью реагентов фирмы «Hospitex» (Италия) на автоматическом биохимическом анализаторе «Марс» производства фирмы Medison (Корея). Количество калия, натрия и ионизированного кальция исследовали с помощью ионоселективного метода на анализаторе электролитов «EasyLyte». Биохимические исследования выполнены в Центральной научно-исследовательской лаборатории ОмГМА (зав. — д. м. н., профессор Т. И. Долгих). Статистическую обработку результатов проводили с использованием t -критерия Стьюдента и коэффициента корреляции Пирсона.

Результаты и обсуждение

Тяжелая ЧМТ, вызывая комплекс нейроэндокринных реакций организма, включающий активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатико-адреналовой систем, нарушение продукции паратиреоидного гормона и кальцитонина, способствовала изменению биохимических показателей крови травмированных животных. Это проявилось формированием через 1 ч после травмы гипергликемии, гиперлактаемии и гипокальциемии (табл. 1). Выявлялась тенден-

ция к росту концентрации K⁺ и активности АсАТ. Метаболические изменения сочетались со снижением на 25,5% скорости расслабления миокарда левого желудочка изолированных сердец травмированных крыс (536 \pm 37 мм рт. ст./с по сравнению с 719 \pm 47 мм рт. ст./с в контроле, $p < 0,05$).

Введение животным до или непосредственно после травмы гипоксена сопровождалось уменьшением содержания в сыворотке крови лактата, что, по мнению И.И. Деметьевой [15], свидетельствует об эффективности лекарственного средства, применяемого в критическом состоянии для коррекции гипоксии. При этом нами была выявлена отрицательная корреляционная зависимость между концентрацией молочной кислоты и скоростью сокращения миокарда левого желудочка крыс, получавших гипоксен. Коэффициент корреляции во II группе животных составил $r = -0,67$ ($p < 0,05$), в III группе — $r = -0,71$ ($p < 0,02$).

При применении гипоксена непосредственно после травмы ни один из показателей сократительной функции изолированных сердец не отличался от значений в контроле ($p > 0,05$). Более значительным был эффект препарата, вводимого животным перед травмой. В этом случае скорость сокращения миокарда левого желудочка превышала аналогичный показатель в группе сравнения на 35,9% (980 \pm 52 мм рт. ст./с по сравнению с 721 \pm 46 мм рт. ст./с, $p < 0,01$), а скорость расслабления — на 21,8% (653 \pm 42 мм рт. ст./с по сравнению с 536 \pm 37 мм рт. ст./с, $p < 0,05$).

Изолированные сердца травмированных крыс, получавших гипоксен, оказались более устойчивыми к повреждающему действию гипоксии-реоксигенации. К завершению периода реоксигенации развиваемое левым желудочком давление во II группе животных превышало данный показатель в группе сравнения на 29,7% ($p < 0,05$), а скорости сокращения и расслабления были выше, соответственно, на 23,9% ($p < 0,05$) и 33,7% ($p < 0,02$). В III группе к окончанию эксперимента развиваемое давление, скорости сокращения и расслабления превышали значения в группе сравнения соответственно, на 57,4, 50,7 и 64,0% ($p < 0,001$). Сердца животных, получавших гипоксен за 24 и 1 ч до травмы, оказались менее чувствительны к гипоксии даже по сравнению с контролем. Скорости сокращения и расслабления к 10-й

Таблица 2

Влияние ЧМТ и применения гипоксена на величины развиваемого левым желудочком давления и дефекта диастолы при нагрузке ритмом ($M \pm m$)

Частота стимуляции	Группа	Значение изучаемых показателей	
		развиваемое давление, мм рт. ст.	дефект диастолы, мм рт. ст. с
240 мин ⁻¹	Контрольная (n=10)	43,9±2,7	—
	I (n=13)	38,1±2,1	—
	II (n=10)	38,4±2,9	—
	III (n=11)	42,1±3,1	—
300 мин ⁻¹	Контрольная	49,8±2,9	—
	I	39,8±2,5*	2,2±0,2
	II	43,6±2,9	0,7±0,1**
	III	48,4±3,2**	—
400 мин ⁻¹	Контрольная	48,3±3,6	3,4±0,6
	I	42,3±2,3	9,6±1,7*
	II	45,6±3,4	5,3±0,6*,**
	III	51,8±3,9**	4,1±0,6**

мин гипоксической пробы составляли, соответственно, 315±21 мм рт. ст./с и 175±13 мм рт. ст./с (в контроле — 229±18 мм рт. ст./с и 189±17 мм рт. ст./с, $p < 0,05$).

На следующем этапе исследования мы изучили влияние гипоксена на функционирование механизмов транспорта Ca^{2+} в кардиомиоцитах животных в посттравматическом периоде. Введение препарата непосредственно после травмы привело к уменьшению величины дефекта диастолы при нагрузке ритмом высокой частоты (табл. 2). Значения этого показателя при частоте стимуляции 300 мин⁻¹ были меньше, по отношению к группе сравнения, в 3,1 раза ($p < 0,001$), а при частоте 400 мин⁻¹ — на 44,8% ($p < 0,05$). Однако указанные величины достоверно превосходили значения в контроле.

При применении препарата до травмы дефект диастолы при переходе к частоте 300 мин⁻¹ не выявлялся, а диастолическое давление было на 23,4% ($p < 0,02$) ниже, чем в группе крыс, не получавших гипоксен. Частота стимуляции 400 мин⁻¹ сопровождалась формированием в 2,3 раза ($p < 0,02$) меньшего дефекта диастолы при сниженном на 36,5% ($p < 0,05$) диастолическом давлении. Развиваемое левым желудочком давление при этом превышало значения в группе сравнения. Указанные признаки свидетельствовали о сохранности механизмов транспорта Ca^{2+} в кардиомиоцитах, а значит о неизменности структурно-функциональных характеристик таких компонентов сарколеммы и саркоплазматического ретикулума, как потенциалуправляемые кальциевые каналы, функционально связанные между собой Na^+/K^+ -насос и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник сарколеммы, Ca^{2+} -насоса саркоплазматического ретикулума.

Эффективность применения гипоксена в литературе объясняется более полным извлечением кислорода из притекающей крови за счет конформационных изменений порфирина, что сопровождается восстановлением активности НАД-оксидазного пути окисления на участке I митохондриального ферментного комплекса и сопряженных с ним процессов окислительного фосфорилирования. Кроме этого, препарат обеспечивает непрерывность и интенсивность потока восстановленных

эквивалентов с I на III комплекс дыхательной цепи, митохондриальной, по-видимому, убихиноновое звено. В результате увеличивается выработка макроэргов и стабилизируется энергетический баланс в миокарде [11, 12].

Однако, было бы ошибочно связывать все выявленные у травмированных животных, получавших гипоксен, изменения исключительно с антигипоксантами. Лекарственное средство обладает также антиоксидантным действием. Последнее обусловлено наличием тиосульфатной группы, что позволяет гипоксену защищать мембранные структуры за счет связывания и инактивации свободных радикалов [12]. Кроме этого, нами было обнаружено влияние гипоксена на уровень общей антиоксидантной способности сыворотки крови травмированных крыс. Введение препарата животным сопровождалось не только сохранением запасов антиоксидантов, но даже увеличивало их содержание в крови. Общая антиоксидантная способность сыворотки крови крыс II и III групп соответственно возрастала до 1,641±0,103 моль/л и 1,727±0,060 моль/л (в группе сравнения — 0,955±0,041 моль/л, $p < 0,001$).

Как результат предупреждения гипоксических и свободнорадикальных повреждений мембран кардиомиоцитов можно, вероятно, расценить уменьшение на 36,1% активности АсАТ в сыворотке крови крыс III группы (табл. 1). Изменение уровня глюкозы при использовании препарата может быть связано с улучшением ее транспорта (наряду с кислородом) в клетки, то есть с инсулиноподобной активностью лекарства. Для объяснения выявленных позитивных сдвигов в электролитном балансе требуется проведение дополнительных исследований.

Заключение

Таким образом, применение гипоксена за 24 и 1 ч до тяжелой ЧМТ способствовало увеличению скорости сокращения и расслабления миокарда левого желудочка сердца травмированных крыс. Это сочеталось с возрастанием резистентности сердца жи-

вотных, получавших препарат до или после травмы, к гипоксии-реперфузии и нагрузке ритмом высокой частоты. Результаты экспериментов с применением гипоксена подтверждают значимость в формировании

посттравматических изменений сократимости миокарда таких патогенетических факторов как гипоксия и, возможно, окислительный стресс.

Литература

1. Чурляев Ю. А. Нарушения негазообменных функций легких и их роль в развитии острого респираторного дистресс-синдрома при тяжелой черепно-мозговой травме. Общая реаниматология 2005; 1 (5): 17–21.
2. Лекманов А. У., Ертулева Ю. В. Особенности синдрома гиперметаболизма у детей в критических состояниях. Анестезиология и реаниматология 2006; 1: 74–77.
3. Rockswold G. L., Quickel R. R., Rockswold S. B. Hypoxia and traumatic brain injury. J. Neurosurg. 2006; 104 (1): 170–171.
4. Царенко С. В. Нейрореаниматология. Интенсивная терапия черепно-мозговой травмы. М.: Медицина; 2005.
5. Schaller B. Craniocerebral trauma — new pathophysiological and therapeutic viewpoints. Swiss. Surg. 2002; 8 (4): 145–158.
6. Bissonnette B., Vinchon M. Traumatic head injury in children: physiopathology and clinical management. Ann. Fr. Anesth. Reanim. 2002; 21 (2): 133–140.
7. Русаков В. В., Долгих В. Т. Нарушение механизмов, ответственных за транспорт Ca^{2+} в кардиомиоцитах крыс, перенесших тяжелую черепно-мозговую травму. Политравма 2006; 1: 75–78.
8. Русаков В. В., Долгих В. Т. Сократимость миокарда после черепно-мозговой травмы. Анестезиология и реаниматология 2005; 6: 54–56.
9. Лукьянова Л. Д. Митохондриальная дисфункция — типовой патологический процесс, молекулярный механизм гипоксии. В кн.: Лукьянова Л. Д. (ред.) Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты. М.; Воронеж: Истоки; 2004. 8–50.
10. Оковитый С. В. Некоторые подходы к классификации антигипоксантов. В кн.: Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция. Материалы 4 Рос. конф., Москва, 12–14 октября 2005. М.; 2005. 84–85.
11. Андрианов В. П., Бойцов С. А., Смирнов А. В. и др. Применение антигипоксантов олифена и амтизола для лечения больных с хронической недостаточностью кровообращения IIБ стадии. Терапевт. арх. 1996; 5: 74–78.
12. Смирнов В. С., Кузьмич М. К. Гипоксен. СПб.: ФАРМиндекс; 2001.
13. Соколова Т. Ф. Иммунореактивность организма при тяжелой черепно-мозговой травме: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Омск; 1986.
14. Fallen E. T., Elliott W. G., Gorlin R. Apparatus for study of ventricular function and metabolism in the isolated rat. J. Appl. Physiol. 1967; 22 (4): 836–839.
15. Деметьева И. И. Метаболический мониторинг лекарственной терапии у больных в критическом состоянии (лекция). Клинич. лаб. диагностика 1999; 5: 25–32.

Поступила 20.07.06

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ

Научно-практический журнал «Общая реаниматология»,
входящий в перечень ВАК РФ, предназначен для врачей анестезиологов-реаниматологов
и научных сотрудников

Тематика журнала: патогенез, клиника, диагностика, лечение, профилактика и патологическая анатомия критических, терминальных и постреанимационных состояний. Вопросы оказания догоспитальной помощи при критических состояниях. Вопросы обучения населения и медицинского персонала приемам оказания неотложной помощи при критических состояниях.

Аудитория: лечебные учреждения; высшие учебные заведения медицинского профиля; медицинские учреждения последипломного образования, Федеральные и региональные органы управления здравоохранением, медицинские научно-исследовательские институты; медицинские библиотеки.

ПОДПИСКА

В любом почтовом отделении связи по каталогу «Роспечать»

- индекс 46338 — для индивидуальных подписчиков
- индекс 46339 — для предприятий и организаций