

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МОЗГА И ЦЕРЕБРАЛЬНЫЙ КРОВОТОК В ПОСТИШЕМИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ

В. В. Александрин, В. Л. Кожура, И. С. Новодержкина, Е. Ю. Паршина

ГУ НИИ общей реаниматологии РАМН,
лаборатория экспериментальной терапии терминальных состояний, Москва

Postishemic Cerebral Function and Blood Flow

V. V. Aleksandrin, V. L. Kozhura, I. S. Novoderzhkina, Ye. Yu. Parshina

Laboratory of Experimental Therapy for Terminal States, Research Institute of General Reanimatology,
Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Изучали влияние массивной кровопотери на взаимосвязь уровня мозгового кровотока и функционального состояния мозга крыс в постшемическом периоде. Состояние тревожности исследовали в приподнятом крестообразном лабиринте. Регистрацию мозгового кровотока проводили с помощью лазерного доплеровского флоуметра. Одночасовая массивная кровопотеря существенно повысила уровень тревожности у 75% крыс через 7 и 20 суток. У 25% животных поведение не претерпело существенных изменений. У подопытных животных с сохранившимися поведенческими показателями обнаружена устойчивость мозгового кровотока к ишемическому/реперфузионному воздействию, в то время, как у крыс с повышенным уровнем тревожности наблюдалась реакция отсроченной постшемической гипоперфузии. Таким образом, обнаружена взаимосвязь между поведением и устойчивостью мозгового кровотока к ишемическому/реперфузионному воздействию.

The impact of massive blood loss on cerebral blood flow-function relationships was studied in rats in the postischemic period. Anxiety was examined in the raised cross-shaped labyrinth. Cerebral blood flow was registered by a laser Doppler flowmeter. One-hour massive blood flow substantially increased the level of anxiety in 75% of the rats following 7 and 20 days. There were no significant behavior changes in 25% of the animals. Experimental animals with preserved behavioral parameters showed cerebral blood flow resistance to ischemia and reperfusion while rats with increased anxiety were found to have delayed postischemic hypoperfusion. Thus, a relationship was found between the behavior of the rats and the resistance of cerebral blood flow to ischemia and reperfusion.

Массивная кровопотеря является одной из самых частых причин гибели больных и пострадавших в условиях техногенных и массовых катастроф. По данным В. А. Неговского, от 20 до 70% больных, перенесших геморрагический шок, страдают постгипоксической энцефалопатией [1]. Несмотря на большое число исследований в этой области на разных моделях массивной кровопотери, включая клиническую смерть, причины этого явления изучены недостаточно. Это связано в значительной степени и с отсутствием точных данных об изменениях мозгового кровотока и его связи с психоэмоциональным состоянием пострадавшего организма.

Цель исследования — изучить влияние массивной кровопотери на взаимосвязь уровня мозгового кровотока и функционального состояния мозга животных в постшемическом периоде.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 60 белых беспородных крысах-самцах массой 280–320 г. Для наркоза использовали этиминал натрия внутривенно (15–20 мг/кг массы животного). После наркотизации интубировали трахею (или выполняли трахеостомию), катетеризировали яремную вену справа и проводили ИВЛ воздухом в течение 1 часа (дыхательный объем 2 мл, частота дыха-

ния 40 в мин). Опытной группе животных с помощью инфузомата в течение 15 мин вводили 1 мл раствора лиофилизированного очищенного тромбластина (20 мг/кг, производство НПО «Ренам»). Животным группы сравнения вместо раствора тромбластина вводили внутривенно раствор Рингера в том же объеме (1 мл). В дальнейшем, через 1,2–3 часа, 1 и 3 суток после введения тромбластина наркотизированных крыс выводили из эксперимента декапитацией. Кусочки легких фиксировали в нейтральном 10% растворе формалина и заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином, проводилась ШИК-реакция. Выполняли морфометрические исследования с последующей статистической обработкой с использованием t-критерия Стьюдента. При проведении морфометрических исследований измеряли диаметры альвеол, толщину межальвеолярных перегородок, диаметры просветов бронхов. В гистологических срезах проводилось тридцать измерений, на основании которых определялась величина средней арифметической и ошибка средней арифметической. Все эксперименты были разделены на следующие группы: контроль — 6, группа сравнения (наркоз, ИВЛ, введение раствора Рингера) — 20, опытная группа (наркоз, ИВЛ, введение тромбластина) — 34. На основании проведенных экспериментов предложен способ моделирования острого повреждения легких (приоритетная справка №2004134555 от 29.11.2004, Роспатент).

Результаты

В 1-й серии экспериментов исследовали влияние часовой гипотензии на показатели мозгового

Таблица 1

Показатели поведения в приподнятом крестообразном лабиринте у контрольных и подопытных крыс, перенесших часовую гипотензию, через 7 и 20 суток ($M \pm m$)

Группы крыс	Время в открытом рукаве лабиринта, сек	Число выходов в открытые рукава	Число свешиваний	Число выглядываний	Число умываний
2-я серия (контроль)					
Исходно	20,3±2,6	2,6±0,6	2,0±0,4	10,3±0,8	3,4±1,0
Повторно через 7 суток	13,8±3,8	2,2±0,6	0,8±0,8	8,5±0,7	5,0±1,5
3-я серия					
Исходно	29,8±7,3	3,7±0,8	3,3±0,9	10,2±1,4	4,0±0,8
Повторно через 7 суток	1,7±0,2	1,2±0,3	0,0	3,7±0,9	9,0±1,2
Достоверность	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,01$
4-я серия					
Группа «а»					
Исходно	73,3±15,9	2,7±1,4	4,3±2,6	10,3±0,9	2,7±0,3
Повторно через 20 суток	8,3±1,5	0,7±0,7	0,0	4,0±0,6	9,0±4,2
Достоверность	$p < 0,05$			$p < 0,01$	
Группа «б»					
Исходно	69,7±7,4	6,0±1,0	7,3±2,0	7,7±3,8	2,3±2,0
Повторно через 20 суток	67,3±7,8	4,7±0,7	6,7±3,0	9,7±2,3	3,3±2,8

Таблица 2

Показатели мозгового кровотока у ложнопериоперированных (контрольных) и подопытных крыс, перенесших часовую гипотензию, через 7 и 20 суток ($M \pm m$)

Группы крыс	Мозговой кровоток на 20 мин реперфузии, в % к исходному	Мозговой кровоток на 40 мин реперфузии, в % к исходному
2-я серия ($n=4$)	80,3±14,9	58,3±7,5
3-я серия ($n=6$)	98,3±24,4	72,2±10,5
4-я серия :		
группа «а» ($n=3$)	120,3±3,7	66,7±10,5
группа «б» ($n=3$)	202,3±55,7	126,7±10,0 *

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с группой «а».

кровотока. Исходное АД у крыс составляло $80,0 \pm 2,2$ мм рт. ст. Гипотензия снижала локальный мозговой кровоток в теменной коре до $56,9 \pm 2,9$ % от исходного уровня. Последующая реинфузия повышала АД до $85,7 \pm 5,3$ мм рт. ст. У 3 (43%) крыс мозговой кровоток восстанавливался до $101,7 \pm 1,7$ % исходного, а у 4 (57%) крыс – до $70,5 \pm 7,2$ % исходного уровня ($p < 0,05$).

Во 2-й, 3-й и 4-й сериях исследовали поведение животных в приподнятом крестообразном лабиринте. После первого тестирования крысы всех серий различались только по времени пребывания в открытом рукаве лабиринта: 2-я серия – $20,3 \pm 2,0$ сек (15–26 сек); 3-я серия – $29,8 \pm 7,3$ сек (4–48 сек); 4-я серия – $71,6 \pm 7,9$ сек (55–105 сек) ($p < 0,05$ по сравнению со 2-й и 3-й сериями) (табл. 1). По всем остальным поведенческим параметрам (число выходов в открытые и закрытые рукава лабиринта, число свешиваний, число вертикальных стоек, число умываний) достоверных различий не было. У контрольных крыс во 2-й серии на 7-е сутки после «ложной» операции изменения в поведении отсутствовали, что свидетельствует об отсутствии привыкания к обстановке лабиринта. После часовой гипотензии, во время повторного тестирования через 7 суток, время пребывания животных 3-й серии в открытом рукаве лабиринта резко сократилось в 18,6 раза, число выходов в открытые рукава лабиринта уменьшилось в 3 раза, число

выглядываний сократилось в 2,8 раза, число умываний возросло в 2,3 раза (табл. 1). При повторном тестировании через 20 суток после часовой гипотензии крысы 4-й серии разделились на две группы:

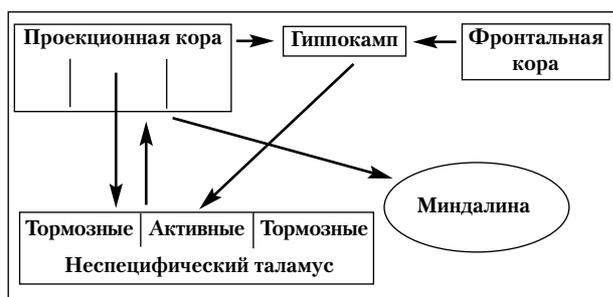
«а» – животные ($n=3$), время пребывания которых в открытом рукаве лабиринта сократилось в 8,8 раза, число выходов в открытые рукава лабиринта и число свешиваний уменьшилось в 4 и 2,6 раза, соответственно (табл. 1).

«б» – особи ($n=3$), у которых параметры поведения почти не изменились.

В опытах с 10-минутной глобальной преходящей ишемией головного мозга у крыс 2-й серии (контроль) и 3-й серии на 40-й минуте реперфузии локальный мозговой кровоток составлял 58,3 и 72,2 %, соответственно. У животных 4-й серии в группе «а» кровоток к 40-й минуте составил 66,7% от исходного, однако, в группе «б» он был значительно выше, 127% от исходного ($p < 0,05$) (табл. 2).

Обсуждение результатов

Поведение крыс в приподнятом крестообразном лабиринте представляет собой интегральный результат трех мотиваций: ориентировочно-исследовательского рефлекса, норкового рефлекса (рефлекс предпочтения темноты) и страха высоты [2]. Поскольку крыса находится в условиях свободного



Взаимодействие петли обратной связи: «проекционная кора: 3–4 слои нейронов → 5–6 слои нейронов → неспецифические ядра таламуса → 5–6 слои нейронов» с гиппокампом и миндалиной.

выбора, то норковую реакцию и страх высоты можно объединить в рефлекс избегания опасности. В таком случае поведение в приподнятом крестообразном лабиринте можно рассматривать как результат антагонистического взаимодействия (конкуренцию) двух мотиваций: исследовательской и избегания опасности (степень выраженности последнего показателя психологически оценивается как уровень тревожности) [4]. Показателями изменения исследовательского поведения являлось количество заходов в открытый рукав лабиринта, количество свешиваний, стоек и выглядываний. Показателями повышения уровня тревожности являлись: снижение времени нахождения в открытом рукаве лабиринта, снижение числа заходов в него, снижение количества свешиваний, стоек и выглядываний. Число умываний расценивалось как показатель дезинтеграции целенаправленного поведения под влиянием интерферирующих факторов внешней среды, т.к. показано, что при консуматорном поведении, к которому относится и груминг, наблюдается десинхронизация тета-ритма в гиппокампе [4]. Эти выводы согласуются с достоверной положительной корреляцией между временем, проведенным в открытом рукаве лабиринта и числом выглядываний ($r = 0,53, p < 0,002$) и отрицательной корреляцией между временем, проведенным в открытом рукаве лабиринта и количеством умываний ($r = -0,566, p < 0,001$).

Исходно у крыс 2-й и 3-й серий наблюдался относительный баланс между мотивациями опасности и исследования, в то время как у крыс 4-й серии преобладало исследовательское поведение. После часовой гипотензии у крыс 3-й и частично 4-й серий (группа «а») произошло нарушение баланса мотиваций опасности и исследования в сторону повышения уровня тревожности.

Рассмотрим возможный механизм наблюдаемых изменений.

Ориентировочно-поисковые реакции тесно связаны с работой гиппокампа, который обеспечивает селективное внимание [5] путем устранения интерферирующего влияния фоновой информации на находящиеся в фокусе внимания новые или значимые стимулы [6]. В то же время показано, что

формирование таких эмоциональных реакций как тревога и страх обеспечивается функционированием миндалины [7]. Поэтому мы полагаем, что на уровне мозговых структур антагонизм между исследовательским поведением и реакцией избегания опасности реализуется через конкуренцию миндалины и гиппокампа.

Исходно любой новый стимул запускает работу петли обратной связи [6]: «проекционная кора: 3–4 слои нейронов → 5–6 слои нейронов → неспецифические ядра таламуса → 5–6 слои нейронов», благодаря которой колонка, несущая энграмму нового стимула, формирует вокруг себя кольцо заторможенных колонок, и новый стимул какое-то время может проходить в другие отделы мозга (на уровне ЭЭГ этот процесс проявляется как десинхронизация), в частности в миндалину и фронтальную кору (см. рисунок). До тех пор, пока колонка с энграммой затормаживает соседние колонки, она боится от интерферирующих влияний. Чтобы продлить этот процесс в работу включается гиппокамп, который путем избирательных тормозных воздействий на неспецифические ядра таламуса закрепляет уже существующий статус-кво в связке «неспецифические ядра таламуса → 5–6 слои нейронов». В это время новый стимул анализируется в миндалине на предмет опасности и, если он опасности не представляет, анализ продолжается во фронтальной коре, которая, образуя цепочку: «фронтальная кора → гиппокамп», создает условия для длительной фокусировки внимания на стимуле и реализации исследовательской реакции. Вследствие этого, чем больше исходно активирована миндалина, тем больше вероятность, что стимул будет восприниматься как угрожающий фактор. С другой стороны, чем хуже работает гиппокамп, тем менее выражена ориентировочно-исследовательская реакция.

Как следует из данных 1-й серии, часовая гипотензия приводит к снижению уровня мозгового кровотока до 57% от исходного, что можно расценивать как ишемию средней тяжести или длительный геморрагический шок. Наблюдаемые нами поведенческие изменения были сходными с теми, которые были отмечены у крыс, перенесших 12-минутную полную остановку кровообращения [8]. Причем, как показали морфологические исследования, изменения поведения были связаны с нарушением пирамидных нейронов гиппокампа [9].

Известно, что гиппокамп является наиболее ранимой структурой мозга при действии разнообразных патологических факторов, в первую очередь ишемии, при которой в нем наблюдаются дегенеративные изменения [8, 9, 11]. Ранее нами было показано, что даже пятиминутное снижение мозгового кровотока до 50% исходного уровня вызывало в гиппокампе при последующей реинфузии проявление эффекта постишемической гипоперфузии, в то время как кровоток в неокортексе восстанавливался

[10]. Миндалина также является отделом лимбической системы мозга, селективно повреждаемым при гипоксии. Ведущими механизмами повреждения нейронов миндалины и гиппокампа являются эксцитотоксическое действие возбуждающих аминокислот и активация кальций-зависимых механизмов деструкции. Так, по данным В. В. Семченко [11] у крыс численная плотность синаптических контактов через 1-е сутки postanоксического периода (6-минутная механическая асфиксия) в секторе СА3 снижается на 35%, а в миндалине — на 54% и восстановление ее не завершается в течение 30 суток.

Мы полагаем, что у крыс 3 и 4 (группа «а») серий на фоне гипотензии произошло повреждение нейронных связей в гиппокампе и миндалине. Поскольку в первую очередь при ишемии страдают тормозные нейроны [11], то повреждение гиппокампа ослабило его тормозные влияния на таламические структуры и, тем самым, снизило его фильтрующее воздействие на входные сигналы. Снижение тормозных влияний в миндалине, наоборот, привело к ее гиперактивации [11] и снижению порога реагирования на потенциально опасные стимулы (в частности, светлый рукав лабиринта и высоту). Вследствие этого на поведенческом уровне произошло снижение ориентировочно-исследовательской активности и усиление состояния тревожности.

Возникает вопрос, чем может быть обусловлено сохранение поведенческих реакций при повторном тестировании у животных группы «б»? Согласно исследованиям Л. Д. Лукьяновой [13], по отношению к гипоксическому воздействию (к которому можно отнести и часовую геморрагическую гипотензию) среди крыс встречаются как низко- так и высокоустойчивые особи. Последние, в частности, характеризуются устойчивостью к недостатку кислорода не только со стороны центральной нервной системы, но и вегетативных функций. Возможно, что именно такие крысы и оказались в группе «б». В пользу развиваемых

представлений свидетельствуют результаты исследований ишемических/реперфузионных изменений локального мозгового кровотока.

Известно, что постишемическая отсроченная гипоперфузия является комплексным фактором, обусловленным как гипоксическими изменениями сосудистого тонуса, так и постишемическим снижением функциональной активности нервных клеток [12]. Поэтому, наблюдая особую устойчивость поведенческих реакций, а следовательно, и структур мозга к ишемии у части крыс (группа «б»), можно было бы ожидать проявления подобных особенностей и со стороны мозгового кровообращения. Также необходимо отметить, что сама по себе часовая гипоксия оказывает эффект прекодиционирования: повышает резистентность сосудистого эндотелия к ишемическому/реперфузионному повреждению [14]. Поэтому можно допустить, что у крыс группы «б» произошло «наложение» исходной устойчивости к гипоксии на эффект прекодиционирования, благодаря чему у этих особей не только сохранилось исходное поведение в приподнятом крестообразном лабиринте, но и «парадоксальным» образом не проявился феномен отсроченной гипоперфузии, который во многом опосредуется через сосудистый эндотелий [11].

Выводы

1. Одночасовая массивная кровопотеря существенно повысила уровень тревожности у 75% крыс через 7 и 20 суток. У 25% животных поведение не претерпело существенных изменений.

2. У подопытных животных с сохранившимися поведенческими показателями обнаружена устойчивость мозгового кровотока к ишемическому/реперфузионному воздействию, в то время, как у крыс с повышенным уровнем тревожности наблюдалась реакция отсроченной постишемической гипоперфузии.

Литература

1. *Неговский В. А.* Очерки по реаниматологии. М: Медицина; 1986.
2. *Латин И. П.* Модели тревоги на мышах: оценка в эксперименте и критика методики. Эксперим. и клинич. фармакология 2000; 63 (3): 58–62.
3. *Александрин В. В., Кожура В. Л., Новодержкина И. С., Мороз В. В.* Влияние перфторана на отсроченную гипоперфузию после глобальной переходящей ишемии головного мозга. Анестезиология и реаниматология 2004; 6: 48–49.
4. *Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М: Высшая школа; 1991.
5. *Соколов Е. Н., Незлина Н. И., Полянский В. Б., Евтихин Д. В.* Ориентировочный рефлекс: «реакция прицеливания» и «пржектор внимания». Журн. высш. нервной деятельности 2001; 4: 421–437.
6. *Александрин В. В.* Возможный механизм акцептора результатов действия. В кн.: Физиология и психология мотиваций. Воронеж: ВГУ; 2003: 33–38.
7. *Kim J., Rison R., Fanselow M.* Effect of amygdala, hippocampus and periaqueductal gray lesions on short- and long- term contextual fears. Behav. Neurosci. 1993; (107): 1093–1098.
8. *Горенкова Н. А., Назаренко И. В., Волков А. В. и др.* Постреанимационные нарушения интегративной деятельности мозга как проявление энцефалопатии (экспериментальное исследование). Общая реаниматология 2005; 1(2): 12–19.
9. *Заржецкий Ю. В., Аврущенко М. Ш., Мутускина Е. А., Трубина И. Е.* Функциональная и структурная характеристика обучения на положительные и отрицательные стимулы у реанимированных крыс. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2000; приложение 2: 9–13.
10. *Александрин В. В., Александров П. Н.* Раннее проявление постишемической гипоперфузии в гиппокампе. Neuroxia Medical J. 2000; 1: 2–3.
11. *Семченко В. В., Степанов С. С., Алексеева Г. А.* Постаноксическая энцефалопатия. Омск; 1999.
12. *Lipton P.* Ischemic cell death in brain neurons. Physiological Reviews 1999; 79 (4): 1431–1532
13. *Лукьянова Л. Д.* Дизрегуляция аэробного энергетического обмена — типовой патологический процесс. В кн.: Руководство: Дизрегуляторная патология под ред. акад. Г. Н. Крыжановского. М: Медицина; 2002: 188–216.
14. *Власов Т. Д., Коржевский Д. Э., Полякова Е. А.* Ишемическая адаптация головного мозга крысы как метод защиты эндотелия от ишемического/реперфузионного повреждения. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова 2004; 90 (1): 40–48.

Поступила 16.02.05