

Асфиксическая остановка кровообращения с комплексом реанимационных мероприятий в экспериментальной модели

А. Ю. Дубенский^{1,2}, И. А. Рыжков^{3*}, К. Н. Лапин³, С. Н. Калабушев³,
Л. А. Варнакова³, З. И. Цоколаева³, В. Т. Долгих³, А. В. Гречко⁴

¹ Институт высшего и дополнительного профессионального образования
Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии,
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

² Национальный медико-хирургический центр им. Н. И. Пирогова Минздрава России,
Россия, 105203, г. Москва, ул. Нижняя Первомайская, д. 70

³ Научно-исследовательский институт общей реаниматологии им. В. А. Неговского
Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии,
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

⁴ Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии,
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

Для цитирования: А. Ю. Дубенский, И. А. Рыжков, К. Н. Лапин, С. Н. Калабушев, Л. А. Варнакова, З. И. Цоколаева, В. Т. Долгих, А. В. Гречко. Асфиксическая остановка кровообращения с комплексом реанимационных мероприятий в экспериментальной модели. *Общая реаниматология*. 2024; 20 (2): 55–64. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2024-2-55-64> [На русск. и англ.]

***Адрес для корреспонденции:** Иван Александрович Рыжков, riamed21@gmail.com; Алексей Юрьевич Дубенский, dubkoal@gmail.com

Резюме

Большинству моделей асфиксической остановки кровообращения (ОК) присущ ряд недостатков, таких как отсутствие единых критериев фиксации остановки и восстановления спонтанного кровообращения, небольшая длительность и ограниченный объем постреанимационной интенсивной терапии, низкая схожесть с практикой реанимационных мероприятий в современной клинической анестезиологии-реаниматологии.

Цель исследования: усовершенствовать экспериментальную модель асфиксической ОК за счет стандартизации экспериментальных процедур и применения комплекса реанимационных мероприятий, соответствующего практике ведения пациентов с ОК в клинической анестезиологии-реаниматологии.

Материалы и методы. Эксперименты провели на 34 крысах самцах линии Wistar с разделением на 2 группы: I группа — ложно оперированные животные (ЛО, $n=12$) и II группа — животные с асфиксической остановкой кровообращения и последующей реанимацией (ОК, $n=22$). Для индукции асфиксии в группе ОК анестезированным крысам вводили рокурония бромид с последующей регистрацией электрокардиограммы (ЭКГ), артериального давления (АД) с помощью инвазивного метода и параметров лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) для оценки перфузии кожи. Длительность собственно ОК составляла 2 мин, после чего проводили комплекс реанимационных мероприятий с последующей интенсивной терапией в течение 2 ч. Оценивали динамику показателей кровообращения (ЭКГ, АД, ЛДФ), газового состава и кислотно-основного состояния (КОС) артериальной крови.

Результаты. В исходном состоянии после периода стабилизации группы животных не отличались ни по одному из исследуемых параметров. После применения критериев исключения в последующем анализе учитывали 11 животных группы ЛО и 18 — группы ОК. В первые минуты после успешно проведенных реанимационных мероприятий в группе ОК отмечали тахикардию (ЧСС, мин⁻¹, ЛО vs ОК): 218 [205; 236] vs 286 [272; 305], $p \leq 0,0001$, а также восстановление кожной перфузии до субнормальных показателей. На 10-й мин постреанимационного периода у животных группы ОК отмечали снижение перфузии кожи (М, пф. ед., ЛО vs ОК): 14,7 [12,1; 16,5] vs 10,1 [7,0; 12,5], $p=0,0014$, декомпенсированный смешанный ацидоз (рН, ЛО vs ОК): 7,42 [7,40; 7,43] vs 7,20 [7,13; 7,23], $p \leq 0,0001$, однако группы не различались по значениям АД (АД, мм рт. ст., ЛО vs ОК): 60 [58; 72] vs 67 [62; 82], $p=0,482$. К 120-й мин постреанимационного периода на фоне проводимой интенсивной терапии группы не различались по большинству исследуемых показателей. В группе ОК после реанимации умерло 3 из 18 животных.

Закключение. При асфиксии ОК у крыс наступает по механизму электромеханической диссоциации. Использование ЛДФ для оценки периферического кровотока позволяет стандартизировать тяжесть ишемически-реперфузионных повреждений и улучшить воспроизводимость модели. Применение комплекса реанимационных мероприятий обоснованно с биоэтических позиций и позволяет улучшить транслируемость результатов доклинических исследований в клиническую медицину.

Ключевые слова: остановка кровообращения; асфиксия; реанимационные мероприятия; экспериментальная модель; крыса

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Asphyxial Circulatory Arrest with a Complex of Resuscitation Measures in an Experimental Model

Alexey Y. Dubensky^{1,2}, Ivan A. Ryzhkov^{3*}, Konstantin N. Lapin³, Sergey N. Kalabushev³, Lydia A. Varnakova³, Zoya I. Tsokolaeva³, Vladimir T. Dolgikh³, Andrey V. Grechko⁴

¹ Institute of Higher and Additional Professional Education,
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology,
25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia

² N. I. Pirogov National Medical Surgical Center, Ministry of Health of Russia,
70 Nizhnyaya Pervomayskaya Str., 105203 Moscow, Russia

³ V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology,
25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia

⁴ Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology,
25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia

Summary

The majority of asphyxial circulatory arrest (CA) models have a number of disadvantages, such as the lack of uniform criteria for fixing CA and recovery of spontaneous circulation, short duration of CA episode and limited volume of post-resuscitation intensive care, poor similarity with resuscitation measures in current clinical anesthesiology/intensive care settings.

The aim of the study: to improve the experimental model of asphyxial CA by standardizing experimental procedures and using a complex of resuscitation measures replicating current CA management in clinical anesthesiology-intensive care.

Materials and methods. The experiments were conducted on 34 male Wistar rats, distributed into 2 groups: Group I included animals subjected to sham procedure (SP, $N=12$) and Group II – animals subjected to asphyxial circulatory arrest (CA, $N=22$) and subsequent resuscitation. Asphyxia in anesthetized rats was induced by rocuronium bromide injection, followed by recording of electrocardiogram (ECG), parameters of invasive blood pressure (BP) measurement and laser Doppler fluxmetry (LDF) to assess skin perfusion. CA episode was maintained for 2 min, followed by a series of resuscitation measures and intensive therapy for 2 h. Circulatory parameters (ECG, BP, LDF), gas composition and arterial blood acid-base state (ABS) dynamics were evaluated.

Results. Monitored parameters were comparable in both groups at baseline after stabilization period. After exclusion criteria were applied 11 animals from SP group and 18 — from CA were included in the analysis. Tachycardia (heart rate, beats/min⁻¹, SP vs CA) was documented in the CA group: 218 [205; 236] vs 286 [272; 305], $P<0.0001$), as well as recovery of skin perfusion to subnormal parameters in the first minutes after successful resuscitation. At minute 10 in the post-resuscitation period worsening of skin perfusion (M, perfusion units, SP vs CA): 14.7 [12.1; 16.5] vs 10.1 [7.0; 12.5], $P=0.0014$, and decompensated mixed acidosis (pH, SP vs CA): 7.42 [7.40; 7.43] vs 7.20 [7.13; 7.23], $P<0.0001$) were documented in the CA group, however BP values were comparable (BP, mmHg, SP vs CA): 60 [58; 72] vs 67 [62; 82], $P=0.482$). At minute 120 post-resuscitation and at the end of intensive care period, both groups demonstrated similar values of the monitored parameters. Three out of 18 animals in the CA group died after resuscitation.

Conclusion. Electromechanical dissociation underlies CA in rats subjected to asphyxia. The use of LDF to assess peripheral blood flow makes it possible to standardize the severity of ischemic reperfusion injuries and improve reproducibility of the model. Series of resuscitation measures in experimental setting is justified from a bioethical point of view, and makes it possible to improve repeatability of preclinical research results in clinical practice.

Keywords: *circulatory arrest; asphyxia; resuscitation measures; experimental model; rat*

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Read the full-text English version at www.reanimatology.com

Введение

Остановка кровообращения (ОК) — это критическое состояние, при котором отсутствует эффективное кровообращение. Принято выделять внегоспитальную и внутригоспитальную/интрагоспитальную остановку кровообращения. Согласно данным Европейского Совета по реанимации, частота внегоспитальной остановки кровообращения в Европе составляет 67–170 случаев на 100000 населения в год, а выживаемость в этих случаях (с выпиской из госпиталя) — около 8% [1]. Доля внегоспитальной

остановки кровообращения в общей структуре ОК колеблется от 45 до 55% [2]. Интрагоспитальная остановка кровообращения может развиться у любого госпитализированного пациента. По данным L. W. Andersen и соавт., ежегодно количество случаев интрагоспитальной ОК в США достигает 290000. Чаще всего ОК развивается вследствие кардиальной патологии (50–60%), а частота ОК вследствие дыхательной недостаточности варьирует от 15 до 40% [3].

В настоящее время, несмотря на развитие новых медицинских технологий, совершенство-

вание протоколов реанимационных мероприятий и поддерживающей терапии в постреанимационном периоде, инвалидизация и летальность при внезапной остановке сердца остается удручающей [4] и за прошедшее десятилетие практически не изменилась (10,4%) [5]. Так, по данным К. К. Patel и соавт., исходы интрагоспитальной остановки кровообращения значительно варьируют в зависимости от условий оказания медицинской помощи: выживаемость при интрагоспитальной ОК колеблется от 45 до 85%, а выживаемость в течение года варьирует от 5 до 35% [6].

По этиологии ОК подразделяют на первичную, вследствие кардиальных причин, и вторичную, развивающуюся под воздействием экстракардиальных факторов [7]. В большинстве случаев причиной первичной остановки кровообращения являются фибрилляция желудочков (ФЖ) или желудочковая тахикардия (ЖТ) без пульса, при которых эффективной оказывается электрическая дефибрилляция сердца [8].

Наиболее частыми причинами вторичной ОК являются: прогрессирующая дыхательная и циркуляторная гипоксия, тяжелые метаболические нарушения (ацидоз, гипо- и гиперкалиемия), гипотермия, напряженный пневмоторакс, тампонада сердца и отравления, которые рассматриваются как «обратимые причины», требующие экстренной коррекции при критических состояниях организма [9]. Асфиксическая ОК развивается вследствие нарушения газообмена, что приводит к тяжелой гипоксемии, нарастанию гиперкапнии и гипоксии тканей. Влияние развивающегося респираторного ацидоза и гипоксии на синоатриальный узел и проводящую систему сердца приводит к брадиаритмии. При сохранении асфиксии и нарушении газообмена брадикардия сменяется электромеханической диссоциацией (ЭМД) или асистолией [10,11].

Экспериментальные модели асфиксической ОК у лабораторных животных в большей степени воспроизводят механизмы ОК в педиатрической практике и у пациентов с острой дыхательной недостаточностью различного генеза [12]. Одна из первых таких моделей была разработана в 1995 г. Katz L. и соавт. [13]. Асфиксическая ОК достигалась путем отключения анестезированного галотаном лабораторного животного от аппарата искусственной вентиляции легких (ИВЛ) в условиях нейромышечной блокады. Диагностика ОК осуществлялась при снижении артериального давления (АД) ниже 10 мм рт. ст. Проводимые реанимационные мероприятия отражали клинические подходы того времени. Впоследствии данная модель модер-

низировалась за счет применения разных вариантов анестезии, длительности асфиксии и изменения объема проводимых реанимационных мероприятий [14,15].

Описанные экспериментальные модели асфиксической ОК имеют ряд общих недостатков. Отсутствие стандартного подхода к выбору анестезирующего агента может косвенно влиять на макро- и микрогемодинамические показатели, приводя к искажению полученных данных [16]. Длительность ОК варьирует в зависимости от индивидуальных особенностей лабораторного животного, что напрямую влияет на успешность реанимационных мероприятий. Так, при длительности ОК 7 мин вероятность восстановления спонтанного кровообращения менее 50% [17]. Из других недостатков стоит отметить отсутствие единых четких критериев фиксации остановки и восстановления спонтанного кровообращения, небольшая длительность (30–120 мин) и ограниченный объем постреанимационной интенсивной терапии, низкая схожесть с практикой реанимационных мероприятий в современной клинической анестезиологии-реаниматологии.

Цель исследования — усовершенствовать экспериментальную модель асфиксической ОК за счет стандартизации экспериментальных процедур и применения комплекса реанимационных мероприятий, соответствующего практике ведения пациентов с ОК в клинической анестезиологии-реаниматологии.

Материал и методы

Провели проспективное рандомизированное контролируемое экспериментальное исследование (*in vivo*) в Научно-исследовательском институте общей реаниматологии им. В. А. Неговского Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реаниматологии (ФНКЦ РР) на 34 половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 250–350 г. Животных разделили на 2 группы: I группа — ложно оперированные животные (ЛО, $n=12$), II группа — животные с асфиксической остановкой кровообращения и последующей реанимацией (ОК, $n=22$). За 12 ч до начала эксперимента животных лишали корма при свободном доступе к воде.

Исследование проводили в соответствии с принятыми национальными и международным биоэтическими стандартами (Директива 2010/63/EU). Протокол исследования был одобрен Локальным этическим комитетом ФНКЦ РР (протокол № 4/21/7 от 29.09.2021).

Использовали следующие критерии исключения: тяжелые осложнения или летальный исход в ходе проведения эксперимента до индукции остановки кровообращения (побочные эффекты анестезии, осложнения проводимых хирургических манипуляций),

достижение гуманной конечной точки исследования (тяжелая травма, боль и страдание животного, которые не могут быть облегчены доступными средствами).

Анестезия и хирургические манипуляции. У всех животных, включенных в эксперимент, использовали комбинированную анестезию: тилетамин/золазепам («Золетил 100», Virbac,) 20 мг/кг + ксилазин («Ксиланит», ООО «НИТА-ФАРМ», Россия) 5 мг/кг внутривенно с дополнительным введением Золетила 10 мг/кг при признаках просыпания животного.

С целью инвазивного измерения артериального давления (АД) и отбора проб артериальной крови, а также введения фармпрепаратов и осуществления протокола постреанимационной интенсивной терапии катетеризировали левую сонную артерию и левую внутреннюю яремную вену полиэтиленовым катетером PE-50 (OD 0,95 мм, ID 0,58 мм, SciCat, Россия) по ранее описанному методу [18]. Катетер при необходимости промывали 0,1–0,2 мл раствора нефракционированного гепарина (20 ЕД/мл) для поддержания его проходимости.

Интубация трахеи и ИВЛ. Для обеспечения адекватной вентиляции в подготовительном периоде и при проведении реанимационных мероприятий интубировали трахею с использованием прямой ларингоскопии венозным катетером 16G. После обеспечения нейромышечной блокады с помощью внутривенного введения рокурония бромида 1,4 мг/кг массы тела проводили ИВЛ аппаратом SAR-1000 (CWE Inc., США) в режиме CMV/VC. Дыхательный объем (V_T) рассчитывали по номограмме, представленной в руководстве по эксплуатации аппарата ИВЛ (около 0,7 мл на 100 г массы тела), фракция кислорода (FiO_2) = 21%, частота дыхания (f) 60 мин⁻¹, соотношение вдох/выдох (I:E) = 1:2. При сохранении спонтанных вдохов, вводили повторную дозу рокурония бромида.

Подготовительные мероприятия. Крысу фиксировали в положении на спине на подогреваемой платформе монитора MouseMonitor S (INDUS Instruments, США) (рис. 1). С целью измерения и контроля центральной температуры тела устанавливали ректальный термометр. Целевые значения центральной температуры составляли 36,0–37,0°C. Для предупреждения потерь тепла животное укрывали изоляционным материалом. Период стабилизации животного перед началом измерений составлял 15–20 мин.

Измерение АД. Артериальный катетер с помощью тройника и инфузионной линии соединяли с трансдюсером Deltran DPT-100 (Utah Medical Products, США). Аналоговый сигнал давления с трансдюсера и прибора BP-100 (CWE Inc., США) передавали на прибор PowerLab16/35 (ADInstruments, Австралия), соединенный с персональным компьютером (ПК). Оцифрованный сигнал АД регистрировали, сохраняли в памяти жесткого диска ПК и анализировали с помощью программного обеспечения LabChart Pro 8. По данным кривой артериального давления рассчитывали среднее артериальное давление ($AD_{ср.}$) за период измерения (5 мин).

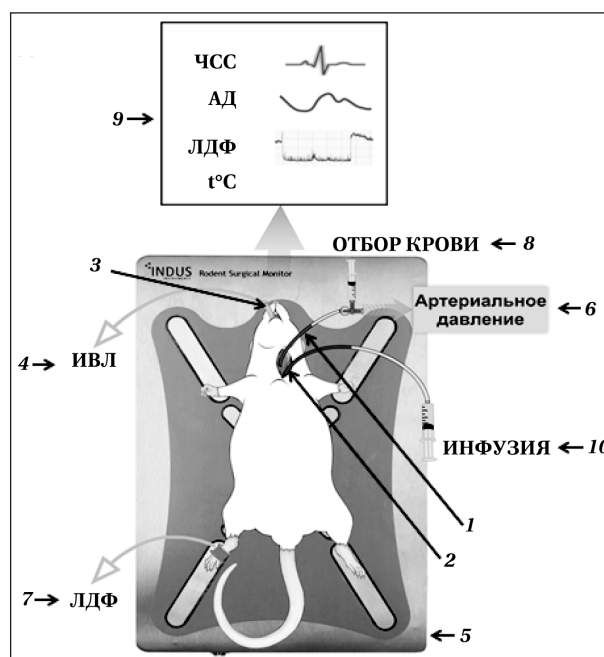


Рис. 1. Общая графическая схема эксперимента по моделированию асфиксической остановки кровообращения.

Примечание. 1 — артериальный катетер; 2 — венозный катетер; 3 — интубационная трубка; 4 — аппарат ИВЛ для мелких лабораторных животных; 5 — подогреваемая платформа монитора функциональных параметров мелких лабораторных животных; 6 — прибор для прямого измерения АД; 7 — прибор ЛДФ; 8 — проба артериальной крови для оценки газового состава и кислотно-основного состояния; 9 — графическое изображение регистрируемых физиологических параметров (ЭКГ, АД, температуры тела, ЛДФ); 10 — шприц-дозатор для продолженной внутривенной инфузии в постреанимационном периоде.

Регистрация ЭКГ. Аналоговый сигнал ЭКГ с поверхностных электродов платформы MouseMonitor S (INDUS Instruments, США) передавали на прибор PowerLab16/35 (ADInstruments, Австралия), соединенный с ПК. Оцифрованный сигнал ЭКГ в трех стандартных отведениях (I, II, III) регистрировали, сохраняли в памяти жесткого диска ПК и анализировали с помощью программного обеспечения LabChart Pro 8. По данным ЭКГ рассчитывали усредненную частоту сердечных сокращений (ЧСС) за период измерения (5 мин).

Анализ газового состава и кислотно-основного состояния (КОС) артериальной крови. Артериальную кровь (0,2 мл) забирали из артериального катетера в «инсулиновый» шприц (1,0 мл) после предварительной аспирации из катетера остатков промывающего раствора. Стенки шприца предварительно смачивали раствором нефракционированного гепарина 5000 ЕД/мл (не более 50 мкл). Анализ газов и КОС артериальной крови (pH, pCO_2 , pO_2 , BE, HCO_3^- , SO_2 и концентрации лактата) проводили с помощью картриджей с реактивами CG4+ для анализатора iSTAT 1 (Abbott Point of Care Inc., США).

Регистрация перфузии кожи методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). Правую заднюю

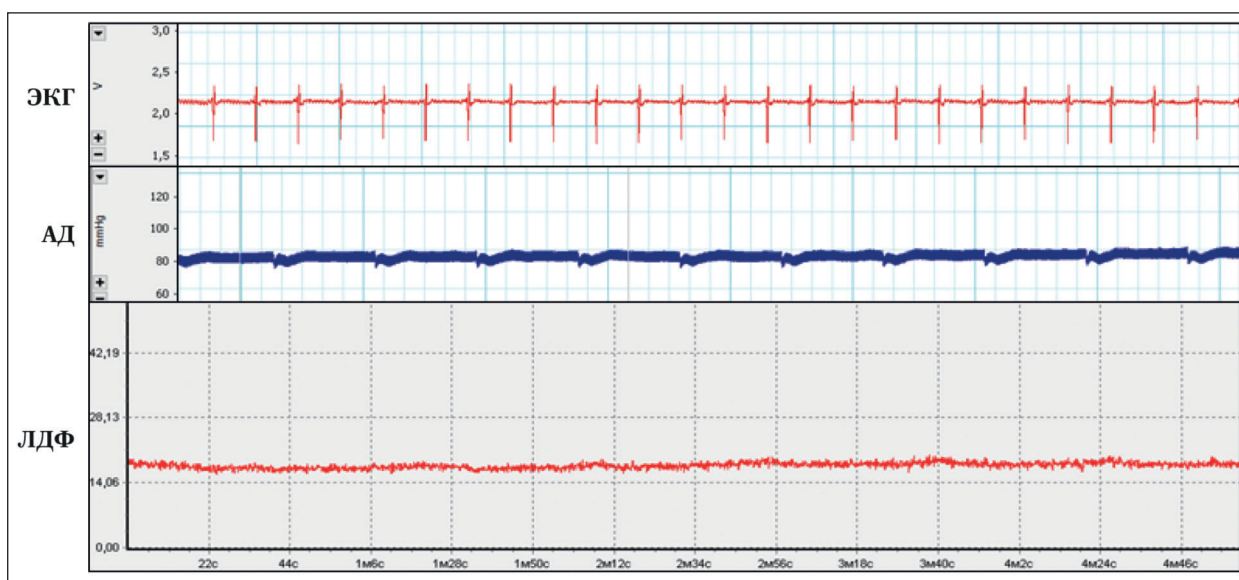


Рис. 2. Регистрируемые сигналы артериального давления (АД), электрокардиограммы (ЭКГ) и лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) у анестезированной крысы в исходном состоянии (до индукции асфиксии).

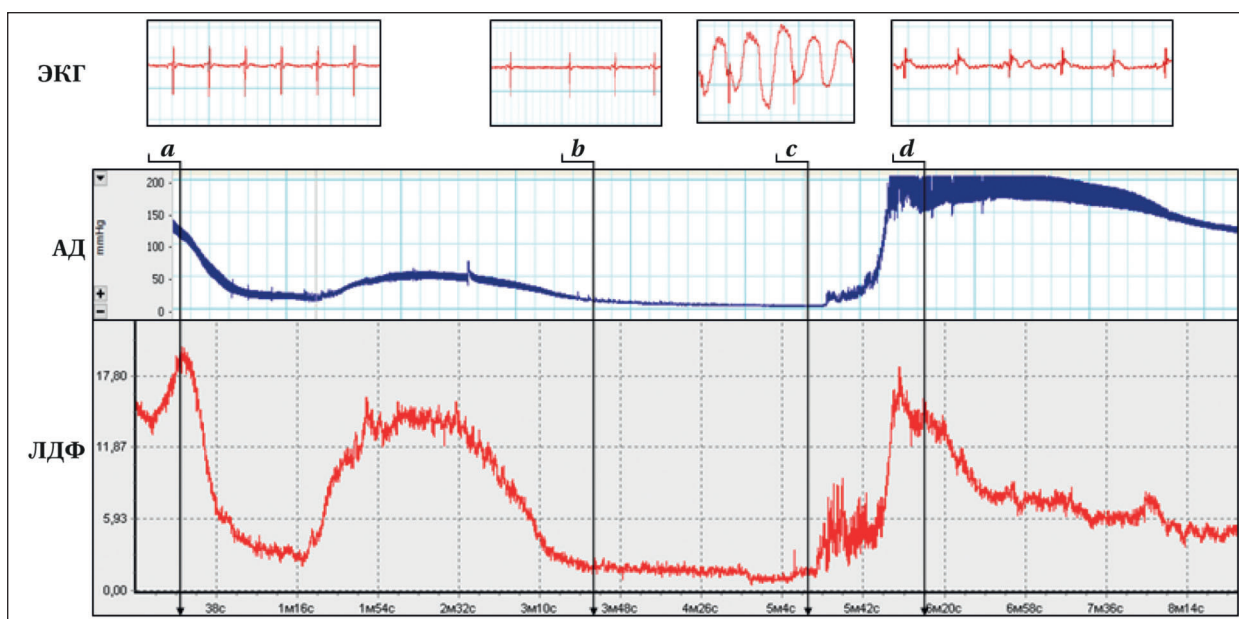


Рис. 3. Динамика показателей ЭКГ, АД и ЛДФ в процессе индукции асфиксии, остановки кровообращения и проведения реанимационных мероприятий.

Примечание. *a* — индукция асфиксии; *b* — начало остановки кровообращения; *c* — начало реанимационных мероприятий; *d* — восстановление спонтанного кровообращения. В приведенном примере на 2-й мин асфиксии у анестезированного животного регистрировали транзитное повышение АД и кожной перфузии, чему предшествовало их выраженное снижение (агональный период).

лапу крысы протирали влажной марлевой салфеткой с целью очистки поверхности кожи. Оптический зонд прибора ЛАЗМА МЦ-3 (ООО НПП «ЛАЗМА», Россия) устанавливали перпендикулярно в центральной части подошвенной поверхности ступни животного. Для фиксации к поверхности кожи наконечника зонда использовали полоску мягкого пластыря, обернутую вокруг наконечника и лапы животного. Длительность регистрации ЛДФ — 5 мин. С помощью программного обеспечения версии LDF 3.2.0.475 (ООО НПП «ЛАЗМА», Россия) расчи-

тывали среднюю величину перфузии (М), измеренную в условных перфузионных единицах (пф. ед.).

Модель асфиксической остановки кровообращения и проведение реанимационных мероприятий. После регистрации показателей в исходном состоянии (рис. 2) моделировали ОК по ранее описанному методу [19] с внесенными авторскими модификациями. Животному повторно вводили миорелаксант (рокурония бромид 1,4 мг/кг), после чего отсоединяли дыхательный контур аппарата ИВЛ (рис. 3). Продолжали мониторировать ЭКГ, АД

и ЛДФ с целью определения момента ОК. При снижении среднего АД (AD_{cp}) до 20 мм рт. ст. в сочетании с выраженной брадикардией и снижением кожной перфузии до уровня «биологического нуля» ЛДФ (3–4 пф. ед.) считали, что эффективная перфузия тканей отсутствует, и фиксировали начало остановки кровообращения (рис. 3). Реанимационные мероприятия осуществляли через 2 мин ОК (рис. 3). Возобновляли аппаратную ИВЛ в режиме CMV/VC с параметрами: $FiO_2 = 100\%$, $f \times 80 \text{ мин}^{-1}$, $I:E=1:2$, V_t — по номограмме для крыс. Проводили компрессии грудной клетки в переднезаднем направлении в положении крысы лежа на спине с частотой 200 мин^{-1} , глубина компрессий составляла 1/3 от переднезаднего размера грудной клетки животного, после каждой компрессии следовала полная декомпрессия грудной клетки. Внутривенно вводили адреналин — $0,005 \text{ мг/кг}$.

После проведения минутного цикла компрессии грудной клетки прекращали, оценивали сердечный ритм, уровень AD_{cp} и кожную перфузию. В случае сохранявшейся ОК продолжали реанимационные мероприятия с оценкой ритма сердца каждую минуту. Повторное введение адреналина — $0,005 \text{ мг/кг}$ проводили каждые 5 мин реанимационных мероприятий. Одновременно продолжали контролировать ЭКГ, АД и ЛДФ. При неэффективности проводимых реанимационных мероприятий в течение 10 мин реанимационные мероприятия прекращали. При восстановлении спонтанного кровообращения (увеличение AD_{cp} выше 50 мм рт. ст., увеличение перфузии кожи выше «биологического нуля» ЛДФ), (рис. 3) продолжали ИВЛ кислородом, мониторируя АД, ЭКГ, ЛДФ, инфузию раствора NaCl 0,9% со скоростью 10 мл/кг/ч .

Через 5 мин после оживления оценивали газовый состав и КОС артериальной крови, по результатам которых корректировали параметры ИВЛ. В случае тяжелого метаболического ацидоза ($pH < 7,2$, $BE < -10 \text{ ммоль/л}$) осуществляли инфузию 4% раствора $NaHCO_3$ в дозе 1 ммоль/кг . Через 2 ч постреанимационного периода (после завершения измерений) проводили тест на наличие спонтанного дыхания: дыхательный тест отсоединяли от эндотрахеальной трубки и в течение 2 мин регистрировали попытки спонтанных вдохов.

Временные точки исследования. Исследуемые показатели регистрировали в исходном состоянии животного после периода стабилизации (временная точка 1), на 5–10-й мин (временная точка 2) и на 115–120-й мин (временная точка 3) после восстановления спонтанного кровообращения. Животным группы ЛО выполняли те же измерения и манипуляции, что и в группе ОК, за исключением индукции асфиксии, ОК и реанимационных мероприятий (компрессии грудной клетки, введение адреналина, $FiO_2 = 100\%$ при ИВЛ).

Обработка данных и статистический анализ. Измеряемые параметры в ходе эксперимента регистрировали в карте течения эксперимента (масса тела, температура тела, КОС артериальной крови) и

с помощью соответствующего программного обеспечения в памяти жесткого диска ПК (ЭКГ, АД, ЛДФ). После завершения эксперимента анализировали первичные данные с расчетом исследуемых показателей. Размер выборки рассчитали в программе StatMate 2.0 (GraphPad Software, USA) на основе ранее проведенной серии экспериментов по изучению микроциркуляции в коже крысы с учетом вариабельности показателей кожной перфузии (по данным ЛДФ), предполагаемой летальности в группе ОК около 30% и мощности метода более 0,9. Значение M , использованное для расчета расчета выборки, составило 16,22 пф. ед., стандартное отклонение — 2,22 пф. ед. Результаты обработали статистически с помощью пакета программ Statistica 13.0 (StatSoft, США) и Prism 8 (GraphPad Software, USA). Поскольку большинство исследуемых показателей имели распределение, отличное от нормального (на основании теста Шапиро–Уилка), для оценки достоверности различий соответствующих показателей между группами использовали критерий U Манна–Уитни, а для оценки изменения показателя внутри группы — критерий Фридмана (для попарных сравнений — критерий Вилкоксона с поправкой Бонферрони). Результаты представили в виде медианы и межквартильного размаха: $Me [25\%; 75\%]$. Уровень $p < 0,05$ считали статистически значимым.

Результаты и обсуждение

Согласно критериям исключения, из группы ЛО ($n=12$) исключили 1 животное, из группы ОК ($n=22$) — 4 животных. Таким образом, в последующем анализе учитывали 11 животных группы ЛО и 18 — группы ОК. В группе ЛО летальных исходов не было, а в группе ОК после реанимации погибло 3 животных из 18 (16,7%).

В группе ОК оценивали время от индукции асфиксии до момента снижения AD_{cp} ниже 20 мм рт. ст. в сочетании с выраженной брадикардией и снижением кожной перфузии до уровня «биологического нуля» ЛДФ (3–4 пф. ед.) (фиксация ОК). Среднее время от индукции асфиксии до фиксации ОК составило 220 с [180; 255], а общее время от индукции асфиксии до восстановления спонтанного кровообращения — 330 с [300; 375] в группе ОК. У одной трети животных группы ОК после индукции асфиксии отмечали транзитное уменьшение АД ниже 20 мм рт. ст., снижение показателя M , по данным ЛДФ, до уровня «биологического нуля» с постепенным возвращением к субнормальным значениям, при этом на ЭКГ не фиксировали патологических ритмов. Данные эпизоды расценивали, как агональный период, и удлиняли время от индукции асфиксии до фиксации ОК.

В первые минуты при восстановлении спонтанного кровообращения у животных группы ОК отмечали следующие изменения исследуемых функциональных показателей: артериальная гипертензия до 200/160 мм рт. ст., по-

Таблица. Показатели кровообращения, газового состава и кислотно-основного состояния артериальной крови крыс в исходном состоянии и в раннем постреанимационном периоде; Me (LQ; UQ).

Показатели	Исходное состояние			5–10 мин постреанимационного периода			115–120 мин постреанимационного периода		
	Группа ЛО, n=11	Группа ОК, n=18	p	Группа ЛО, n=11	Группа ОК, n=18	p	Группа ЛО, n=11	Группа ОК, n=15	p
АД _{ср.} , мм рт. ст.	70 [65; 78]	72 [65; 77]	0,912	60 [58; 72]	67 [62; 82]	0,482	63 [57; 68]	63 [#] [62; 67]	0,892
ЧСС, мин ⁻¹	222 [210; 231]	238 [217; 253]	0,159	218 [205; 236]	286 [272; 305]	0,0001	232 [206; 257]	247 [236; 261]	0,055
M, пф. ед.	14,8 [13,0; 16,5]	15,9 [13,4; 17,4]	0,610	14,7 [12,1; 16,5]	10,1 [#] [7,0; 12,5]	0,0014	15,4 [13,0; 17,4]	14,9 [13,2; 16,1]	0,443
pH	7,41 [7,38; 7,43]	7,43 [7,40; 7,50]	0,674	7,42 [7,40; 7,43]	7,20 [#] [7,13; 7,23]	<0,0001	7,44 [7,40; 7,46]	7,47 [7,33; 7,53]	0,437
pCO _{2арт.} , мм рт. ст.	37,8 [34,1; 41,3]	38,4 [34,7; 41,9]	0,991	37,8 [32,7; 42,4]	51,3 [#] [41,2; 60,9]	0,0001	34,7 [31,5; 39,7]	33,9 [#] [30,3; 52,9]	0,861
pO _{2арт.} , мм рт. ст.	70 [59; 86]	69 [63; 79]	0,851	78 [64; 91]	120 [#] [83; 139]	0,0045	82 [75; 91]	291 [#] [194; 376]	0,0001
BE, ммоль/л	0 [-1; 1]	1 [-1,5; 3]	0,554	-0,5 [-2,7; 1,7]	-9 [#] [-11; -8]	<0,0001	-1,0 [-2,0; 0,5]	-2,0 [-4,0; 3,0]	0,965
Лактат, ммоль/л	1,16 [1,02; 1,53]	1,16 [0,88; 1,65]	0,782	1,13 [1,52; 5,42]	5,58 [#] [4,65; 6,90]	<0,0001	1,21 [0,95; 1,94]	1,47 [1,16; 2,57]	0,473
SaO ₂ , %	93 [90; 97]	94 [92; 96]	0,974	95 [93; 97]	98 [93; 99]	0,087	96 [95; 97]	100 [#] [99; 100]	0,0001
HCO ₃ , ммоль/л	24,2 [23,4; 25,4]	25,4 [23,1; 26,9]	0,588	24,2 [17,1; 25,6]	18,4 [#] [17,2; 20,8]	0,0002	23,3 [20,3; 24,6]	24,3 [#] [21,0; 25,8]	0,650
p/F	333 [297; 404]	337 [314; 385]	0,991	337 [285; 390]	121 [#] [93; 136]	<0,0001	390 [358; 425]	295 [#] [202; 359]	0,0338

Примечание. АД_{ср.} — артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений; M — показатель средней величины перфузии; pCO_{2арт.} — напряжение углекислого газа в артериальной крови; pO_{2арт.} — напряжение кислорода в артериальной крови; BE — дефицит оснований; SaO₂ — насыщение артериальной крови кислородом; HCO₃ — концентрация бикарбоната; p/F — индекс оксигенации; p — точное значение p для ЛО vs ОК; [#] — p<0,05 vs исходное состояние (с поправкой Бонферрони на множественное сравнение).

вышение показателя M до субнормальных значений, синусовая тахикардия. В исходном состоянии группы животных не отличались ни по одному из исследуемых параметров (табл.). Показатели АД_{ср.} не имели статистической разницы между группами как на 10-й мин постреанимационного периода, так и через 2 ч от восстановления спонтанного кровообращения. ЧСС оказалась статистически выше в группе ОК по сравнению с ЛО на 10-й мин постреанимационного периода (табл.). Средняя величина перфузии кожи (M) была снижена в группе ОК на 10-й мин постреанимационного периода, однако, на 120-й мин группы уже не различались по данному показателю (табл.).

Закономерно на 10-й мин постреанимационного периода у животных группы ОК отмечали выраженную гиперкапнию, гиперлактатемию, а также увеличение дефицита оснований с развитием декомпенсированного ацидоза смешанного типа. Кроме того, выявляли гипероксемию у животных группы ОК по сравнению с ЛО на фоне проведения аппаратной ИВЛ с 100% фракцией кислорода, при этом индекс оксигенации (p/F) был снижен (табл.). Через 2 ч от восстановления спонтанного кровообращения показатели КОС и газового состава крови между группами не имели статистической разницы (за исключением более высокой оксигенации крови в группе «ОК»), что свидетельство-

вало об эффективности проводимой интенсивной терапии и аппаратной ИВЛ в группе ОК (табл.). У всех выживших животных группы ОК через 2 ч после восстановления кровообращения регистрировали спонтанное дыхание после прекращения ИВЛ на фоне угнетенного сознания.

Экспериментальные модели асфиксической ОК у лабораторных животных в большей степени воспроизводят механизмы остановки кровообращения вследствие экстракардиальных причин у пациентов различного профиля и в современной экспериментальной медицине используются все чаще [12].

Проведенный литературный поиск открыл ряд методических решений для моделирования асфиксической остановки кровообращения, а также позволил выявить и учесть, как их преимущества, так и недостатки. В качестве анестезирующих агентов могут быть использованы как ингаляционные анестетики (севофлюран и изофлюран) [20, 21], так и средства для общей неингаляционной анестезии (пентобарбитал и хлоралгидрат) [15, 22]. В случае с ингаляционными анестетиками анестезия прекращается до индукции асфиксии. Методически это приводит к минимизации влияния анестезии на патогенез ишемически-реперфузионных повреждений в рамках формирования полиорганной дисфункции [23], однако не отражает патогенез ОК в клинической анестезиологии.

При проведении данного экспериментального исследования использовали комбинацию антагониста NMDA-рецепторов тилетамина/золазепам и агониста центральных $\alpha 2$ -адренорецепторов ксилазина (ветеринарный аналог декс-медетомидина) с учетом их минимальных кардиореспираторных влияний, достаточной глубины анестезии и миорелаксации для проведения манипуляций, в том числе и инвазивных [16].

Несмотря на общность методов, применяемых разными авторами при моделировании асфиксической ОК, изучение литературных источников указывает на выраженную гетерогенность моделей, что влечет за собой недостаточную сопоставимость и воспроизводимость полученных экспериментальных данных [24].

В целом оценка методических подходов в существующих моделях позволяет выделить ряд общих недостатков. В большинстве экспериментальных моделей для определения момента ОК используются определенные значения АД, которые значительно варьируют в разных источниках (от 10 мм рт. ст. до 30 мм рт. ст.) [15, 25]. При этом авторы не оценивают перфузию органов и тканей, а длительность ОК чаще всего устанавливается на основании общей длительности асфиксии, а не ОК как таковой, приводя к снижению стандартизации тяжести ишемически-реперфузионных повреждений организма.

С целью дополнительной верификации момента остановки сердца и восстановления спонтанного кровообращения после реанимации применили метод ЛДФ для оценки перфузии кожи параллельно с мониторингом ЭКГ и АД. Длительность остановки кровообращения фиксировали от момента ЭМД, критериями которой служили: снижение АДср ниже 20 мм рт. ст. на протяжении не менее 10 с, выраженная брадикардия (менее 100 мин⁻¹ для крыс) или другой агональный ритм сердца (идиовентрикулярный ритм, блокады и т. п.), перфузия кожи на уровне «биологического нуля» ЛДФ.

Поддерживающая терапия в постреанимационном периоде во многих работах ограничена по времени и объему и в целом не соответствует современным реанимационным протоколам (недостаточная длительность ИВЛ, отсутствие четких протоколов применения препаратов вазопрессорного и инотропного действия, отсутствие протоколов волемической поддержки и коррекции КОС и т. д.). Данный факт снижает трансляционный потенциал результатов доклинического исследования для клинической анестезиологии-реаниматологии [26, 27]. При проведении нами поддерживающей интенсивной терапии (ИТ) в постреанимационном периоде исследования показатели АДср. не имели статистической разницы между группами ни на 10-й,

ни на 120-й мин постреанимационного периода, а выраженный в группе ОК смешанный ацидоз компенсировался к 120-й мин, что свидетельствует о эффективности ИТ.

Таким образом, результаты экспериментов показали, что применение продленной неингаляционной комбинированной анестезии, фиксация момента ОК и восстановления спонтанного кровообращения с применением ЛДФ, проведение комплекса мер интенсивной терапии в постреанимационном периоде не менее 2 ч, улучшили качество моделирования асфиксической ОК за счет уменьшения вариабельности функциональных параметров животных, улучшения воспроизводимости модели и ее схожести с особенностями течения постреанимационной болезни у людей в клинических условиях. Усовершенствование проводили на базе уже описанных в специальной литературе методических приемов. В частности, учли опыт моделирования асфиксической ОК с реанимацией для оценки нейропротективных эффектов гипотермии и глибенкламида, описанный К. Huang и соавт. [17].

Ограничением исследования является применение комбинации неингаляционных анестетиков для обеспечения анестезии. Несмотря на ряд преимуществ, по сравнению с ингаляционными анестетиками (низкая выраженность кардиореспираторных проявлений, достаточная глубина седации и миорелаксации для проведения хирургических манипуляций, достаточная степень аналгезии лабораторного животного), применение комбинированной анестезии приводит к снижению схожести модели с внегоспитальной ОК, а также может способствовать искажению экспериментальных данных в перспективе исследований свойств лекарственных средств. Также необходимо учитывать токсические эффекты кислорода и ограничивать длительность ИВЛ с высокой фракцией кислорода [28]. Кроме того, в представленном варианте моделирование асфиксической ОК является технически непростым процессом, требующим как применения специального оборудования, так и выработки соответствующих навыков у экспериментатора. Большое клиническое значение имеет исследование отдаленных (3–7 сут и дольше) исходов постреанимационной болезни у лабораторных животных при большей длительности ОК (4–8 мин), что, однако, ассоциировано с дополнительными организационными (необходимость продленной интенсивной терапии) и биоэтическими вопросами (применимость гуманной конечной точки эксперимента).

Заключение

При асфиксии на фоне общей анестезии ОК у крыс наступает по механизму электро-

механической диссоциации. Раздельный учет времени остановки дыхания и кровообращения, а также применение ЛДФ для оценки периферического кровотока позволяют стандартизировать тяжесть ишемически-реперфузионных повреждений и улучшить воспроизводимость модели. Применение комплекса

реанимационных мероприятий, приближенного к современным стандартам ведения пациентов в клинической анестезиологии-реаниматологии, обоснованно с биоэтических позиций и позволяет улучшить транслируемость результатов доклинических исследований в клиническую медицину.

Литература

- Nolan J. P., Sandroni C., Böttiger B. W., Cariou A., Cronberg T., Friberg H., Genbrugge C., et al. European Resuscitation Council and European Society of Intensive Care Medicine guidelines 2021: post-resuscitation care. *Intensive Care Med.* 2021; 47 (4): 369–421. DOI: 10.1007/s00134-021-06368-4. PMID: 33765189.
- DiLibero J., Misto K. Outcomes of in-hospital cardiac arrest. *Crit Care Nurs Clin North Am.* 2021; 33 (3): 343–356. DOI: 10.1016/j.cnc.2021.05.009. PMID: 34340795
- Andersen LW, Holmberg M. J., Berg K. M., Donnino M. W., Granfeldt A. In-hospital cardiac arrest: a review. *JAMA.* 2019; 321 (12): 1200–1210. DOI: 10.1001/jama.2019.1696. PMID: 30912843.
- Николовски С. С., Божич Н. Б., Фишер З., Лазич А. Д., Тянич Е. З., Раффе В. И. Влияние сердечно-легочной реанимации с поддержкой диспетчером скорой медицинской помощи на восстановление эффективного кровообращения и краткосрочную выживаемость. *Общая реаниматология.* 2021; 17 (5): 52–64. Nikolovski S. S., Bozic N. B., Fiser Z. Z., Lazic A. D., Tijanic J. Z., Raffay V. I. Dispatcher-assisted cardiopulmonary resuscitation — influence on return of spontaneous circulation and short-term survival. *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya.* 2021; 17 (5): 52–64. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2021-5-52-64.
- Virani S. S., Alonso A., Benjamin E. J., Bittencourt M. S., Callaway C. W., Carson A. P., Chamberlain A. M., et al. Heart disease and stroke statistics-2020 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 2020; 141 (9): e139–e596. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000757. PMID: 31992061
- Patel K. K., Spertus J. A., Khariton Y., Tang Y., Curtis L. H., Chan P. S., AHA Get with the Guidelines — resuscitation investigators. Association between prompt defibrillation and epinephrine treatment with long-term survival after in-hospital cardiac arrest. *Circulation.* 2018; 137 (19): 2041–2051. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030488. PMID: 29279412.
- Мороз В. В., Бобринская И. Г., Васильев В. Ю., Кузовлев А. Н., Перепелица С. А., Смелая Т. В., Спиридонова Е. А., с соавт. Сердечно-легочная реанимация. Москва: ФНКИЦ РР, МГМСУ, НИИОР. 2017. Moroz V. V., Bobrinskaya I. G., Vasiliev V. Yu., Kuzovlev A. N., Perepelitsa S. A., Smelaya T. V., Spiridonova E. A., et al. Cardiopulmonary resuscitation. Moscow: FSCC ICR, MSMSU, RI GR, 2017. (in Russ.). ISBN 978-5-9500558-0-5.
- Неговский В. А. Очерки по реаниматологии. Москва: Медицина; 1986. Negovsky V. A. Essays on intensive care. Moscow: Meditsina; 1986. (in Russ.).
- Rajan S., Folke F., Hansen S. M., Hansen C. M., Kragholm K., Gerds T. A., Lippert F. K., et al. Incidence and survival outcome according to heart rhythm during resuscitation attempt in out-of-hospital cardiac arrest patients with presumed cardiac etiology. *Resuscitation.* 2017; 114: 157–163. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2016.12.021. PMID: 28087286.
- Varvarousis D., Varvarousi G., Iacovidou N., D'Aloja E., Gulati A., Xanthos T. The pathophysiologies of asphyxial vs dysrhythmic cardiac arrest: implications for resuscitation and post-event management. *Am J Emerg Med.* 2015; 33 (9): 1297–304. DOI: 10.1016/j.ajem.2015.06.066. PMID: 26233618
- Брагина Н. В., Маркова Т. Г., Горбачев В. И. Постреанимационная болезнь. *Анестезиология и реаниматология.* 2021; (4): 140–150. Bragina N. V., Markova T. G., Gorbachev V. I. Post-resuscitation disease. *Anesthesiol.Reanimat=Anesteziologiya i Reanimatologiya.* 2021; (4): 140–150. (in Russ.). DOI: 10.17116/anaesthesiology2021041140.
- Yu S., Wu C., Zhu Y., Diao M., Hu W. Rat model of asphyxia-induced cardiac arrest and resuscitation. *Front Neurosci.* 2023; 16: 1087725. DOI: 10.3389/fnins.2022.1087725. PMID: 36685224.
- Katz L., Ebmeyer U., Safar P., Radovsky A., Neumar R. Outcome model of asphyxial aardiic arrest in rats. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1995; 15 (6): 1032–1039. DOI: 10.1038/jcbfm.1995.129. PMID: 7593335
- Dave K. R., Raval A. P., Prado R., Katz LM., Sick T. J., Ginsberg M.D., Busto R., et al. Mild cardiopulmonary arrest promotes synaptic dysfunction in rat hippocampus. *Brain Res.* 2004; 1024 (1–2): 89–96. DOI: 10.1016/j.brainres.2004.07.050. PMID: 15451369.
- Hu T., Wang J., Wang S., Li J., Chen B., Zuo F, Zhang L., et al. Effects of the duration of postresuscitation hyperoxic ventilation on neurological outcome and survival in an asphyxial cardiac arrest rat model. *Sci Rep.* 2019; 9 (1): 16500. DOI: 10.1038/s41598-019-52477-y. PMID: 31712629.
- Дубенский А. Ю., Рыжков И. А., Лапин К. Н., Цоколаева З. И., Калабушев С. Н., Варнакова Л. А., Долгих В. Т., с соавт. Влияние вида анестезии на показатели кровообращения у крыс. *Вестник СурГУ. Медицина.* 2023; 16 (2): 79–86. Dubensky A. Yu., Ryzhkov I. A., Lapin K. N., Tsokolaeva Z. I., Kalabushev S. N., Varnakova L. A., Dolgikh V. T., et al. Influence of anesthesia type on the blood circulation in rats. *Bulletin of SurGU. Medicine=Vestnik SurGU. Meditsina.* 2023; 16 (2): 79–86 (in Russ.). DOI: 10.35266/2304-9448-2023-2-79-86.
- Huang K., Wang Z., Gu Y., Hu Y., Ji Z., Wang S., Lin Z., et al. Glibenclamide is comparable to target temperature management in improving survival and neurological outcome after asphyxial cardiac arrest in rats. *J Am Heart Assoc.* 2016; 5 (7): e003465. DOI: 10.1161/JAHA.116.003465. PMID: 27413041.
- Лапин К. Н., Рыжков И. А., Мальцева В. А., Удун Е. В. Катетеризация сосудов мелких лабораторных животных при проведении биомедицинских исследований: технологические аспекты метода: обзор. *Бюллетень сибирской медицины.* 2021; 20 (3): 168–181. Lapin K. N., Ryzhkov I. A., Maltseva V. A., Udu E. V. Vascular catheterization of small laboratory animals during biomedical research: technological aspects of the method: review. *Bulletin of Siberian Medicine=Bulletin Sibirskoy Meditsiny.* 2021; 20 (3): 168–181 (in Russ.). DOI: 10.20538/1682-0363-2021-3-168-181.
- Wang-Fischer Y. (ed.). Manual of stroke models in rat. Boca Raton: CRC Press; 2009: 332.
- Keilhoff G., Esser T., Titze M., Ebmeyer U., Schild L. High-potential defense mechanisms of neocortex in a rat model of transient asphyxia induced cardiac arrest. *Brain Res.* 2017; 1674: 42–54. DOI: 10.1016/j.brainres.2017.08.018. PMID: 28827077.
- Tungalag T., Yoo Y.-J., Tae H.-J., Yang D. K. Olanzapine-induced therapeutic hypothermia attenuates renal injury in rats after asphyxial cardiac arrest and resuscitation. *Antioxidants (Basel).* 2022; 11 (3): 443. DOI: 10.3390/antiox11030443. PMID: 35326094.

22. Zhou X., Liu Y., Huang Y., Zhu S., Zhu J., Wang R. Hypertonic saline infusion suppresses apoptosis of hippocampal cells in a rat model of cardiopulmonary resuscitation. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 5783. DOI: 10.1038/s41598-017-05919-4. PMID: 28724904.
23. Murakami M., Niwa H., Kushikata T., Watanabe H., Hirota K., Ono K., Ohba T. Inhalation anesthesia is preferable for recording rat cardiac function using an electrocardiogram. *Bio Pharm Bull.* 2014; 37 (5): 834–839. DOI: 10.1248/bpb.b14-00012. PMID: 24790005.
24. Vognsen M., Fabian-Jessing B. K., Secher N., Løfgren B., Dezfulian C., Andersen L. W., Granfeldt A. Contemporary animal models of cardiac arrest: a systematic review. *Resuscitation.* 2017; 113: 115–123. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2017.01.024. PMID: 28214538.
25. Uray T., Dezfulian C., Palmer A. A., Miner K. M., Leak R. K., Stezoski J. P., Janesko-Feldman K. Cardiac arrest induced by asphyxia versus ventricular fibrillation elicits comparable early changes in cytokine levels in the rat brain, heart, and serum. *J Am Heart Assoc.* 2021; 10 (5): e018657. DOI: 10.1161/JAHA.120.018657. PMID: 33599149.
26. Nolan J. P., Soar J., Cariou A., Cronberg T., Moulaert V. R. M., Deakin C. D., Bottiger B. W. European resuscitation Council and European Society of Intensive Care Medicine guidelines for post-resuscitation care 2015: Section 5 of the European resuscitation Council guidelines for post-resuscitation care 2015. *Resuscitation.* 2015; 95: 202–222. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2015.07.018. PMID: 26477702.
27. Diao M.-Y., Zheng J., Shan Y., Xi S., Zhu Y., Hu W., Lin Z. Hypothermia prevents hippocampal oxidative stress and apoptosis via the GSK-3 β /Nrf2/HO-1 signaling pathway in a rat model of cardiac arrest-induced brain damage. *Neurol. Res.* 2020; 42 (9): 773–782. DOI: 10.1080/01616412.2020.1774210. PMID: 32529954.
28. Долгих В. Т., Говорова Н. В., Орлов Ю. П., Корпачева О. В., Доровских Г. Н., Еришов А. В. Патофизиологические аспекты гипероксии в практике анестезиолога реаниматолога (мини-обзор). *Общая реаниматология.* 2017; 13 (3): 83–93. Dolgikh V. T., Govorova N. S., Orlov Yu. P., Korpacheva O. S., Dorovskikh G. N., Yershov A. S. Pathophysiological aspects of hyperoxia in anesthesiologist-reanimatologist's practice. *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya.* 2017; 13 (3): 83–93. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2017-3-83-93.

Поступила 13.11.2023
Принята 20.02.2024