

РАННИЕ ПОСТИШЕМИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВОТОКА И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПЕРФТОРАНОМ

В. В. Александрин, В. Л. Кожура, И. С. Новодержкина, В. В. Мороз

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

Early Postischemic Cerebral Circulatory Disorders and Their Correction with Perfluorane

V. V. Aleksandrin, V. L. Kozhura, I. S. Novoderzhkina, V. V. Moroz

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

Цель исследования. Целью настоящего исследования явилось изучение условий и механизма проявления постишемических феноменов невосстановления кровотока (no-reflow) и отсроченной гипоперфузии, а также их коррекция перфтораном. **Материалы и методы.** Оба феномена воспроизводились с помощью методики глобальной ишемии головного мозга у крыс. **Результаты.** Показано, что феномен невосстановления кровотока обусловлен коллапсом пинальных артериол, который происходит в период ишемии и продолжается во время реперфузии. Феномен отсроченной постишемической гипоперфузии обусловлен повышением тонуса пинальных артериол. **Заключение.** Внутриагтеримальное введение перфторана снижает проявление обеих феноменов за счет лучшей доставки кислорода в ишемизированную ткань мозга и, возможно, за счет блокады кальциевых каналов. **Ключевые слова:** церебральная ишемия, феномен невосстановления кровотока, отсроченная гипоперфузия, перфторан.

Objective: to study the conditions and mechanism of postischemic no-reflow and delayed hypoperfusion and to correct them with perfluorane. **Materials and methods:** Both phenomena were reproduced by using a rat model of global cerebral ischemia. **Results:** no-reflow was shown to be caused by pial arteriolar collapse that occurred in ischemia and lasted during reperfusion. Delayed postischemic hypoperfusion was induced by increased pial arteriolar tone. **Conclusion:** Intraarterial injection of perfluorane alleviates the manifestation of both phenomena due to better oxygen supply to ischemic brain tissue and, probably, to calcium channel blockage. **Key words:** cerebral ischemia, no-reflow, delayed hypoperfusion, perfluorane.

Начало изучению ранних постишемических нарушений микроциркуляции в мозге было положено Ш. А. Ames et al. [1], который с помощью введения частичек коллоидной сажи на морфологических срезах обнаружил запустевание части капилляров коры мозга у кроликов в реперфузионный период после 5–7 минут глобальной ишемии. Это явление, названное феномен no-reflow (невосстановления кровотока, непроходимости сосудов), через несколько лет было обнаружено и у других лабораторных животных, в том числе крыс [2]. В более поздних исследованиях было показано, что no-reflow можно предотвратить за счет достижения достаточного уровня перфузионного давления, и тогда он сменяется другим феноменом: «гиперемия — отсроченная гипоперфузия» [3]. Несмотря на многолетнее изучение обоих феноменов, один из исследователей, N. V. Todd [4] признался, что их трудно увязать между собой, хотя вначале исследователи и предполагали во многом совпадающие механизмы обоих явлений, как то: сдавление капилляров отечным эндотелием или закупорка их просвета тромбоцитами и эрит-

роцитами. Вследствие подобной неясности многие ученые стали отождествлять оба феномена и использовать сами термины как синонимы [5, 6].

В связи с этим, целью настоящего исследования явилось изучение условий и механизма проявления обоих феноменов, а также их коррекции.

Материалы и методы

Эксперименты проведены в осенне-зимний период на 82 белых беспородных крысах-самцах массой 250–300 г (питомник «Столовая» РАМН). Животных содержали в условиях вивария при искусственном световом режиме (12:12, день/ночь) и свободном доступе к воде и пище по 3 особи в клетке. В ночь перед экспериментом животные лишались пищи при сохранении свободного доступа к воде. Было проведено 6 серий экспериментов. Всех животных анестезировали (хлоралгидрат, 400 мг/кг, в/б) и подвергали 10-минутной глобальной преходящей ишемии головного мозга путем обратимого пережатия обеих общих сонных артерий с параллельным снижением АД до 40–45 мм рт. ст. за счет кровопотери (до 40% объема циркулирующей крови или $2,5 \pm 0,2$ мл/100 г веса) с последующей реинфузией в бедренную артерию [7, 8].

Во время экспериментов регистрировали мозговой кровоток, артериальное давление и проводили наблюдение над пинальной сосудистой сетью. Регистрацию локального мозгового кровотока проводили в области теменной коры головного моз-

Таблица 1

Средние гемодинамические показатели у крыс в 1–5 сериях: исходно, при ишемии и при реперфузии

Регистрируемые показатели	1-я	2-я	3-я	4-я	5 серия
Артериальное давление, мм Нг					
Исходно	85,0±1,8	80,4±1,8	80,3±2,3	72,9±1,1 [^]	71,7±3,2 [^]
Ишемия	42,3±1,4	42,7±1,5	44,3±1,2	43,9±1,3	44,2±1,6
40 мин реперфузии	69,0±3,7*	57,9±2,3*	57,8±3,7*	58,6±3,1**	61,7±4,7
Мозговой кровоток, %					
Исходно	100	100	100	100	100
Ишемия	12,2±0,8	10,4±0,7	13,1±1,0	12,0±0,9	27,8±2,4 ^{^^}
40 мин реперфузии	53,9±4,1	43,3±7,2	69,3±6,4 [^]	19,4±3,9	85,1±4,9 ^{^^}
Гематокрит, %					
Исходно	44,3±0,7	45,1±0,8	44,1±0,7	42,8±0,8	43,1±0,8
40 мин реперфузии	43,4±0,8	43,1±0,7	42,0±0,7	40,9±0,8	41,2±0,7

Примечание. * – $p < 0,001$ по сравнению с 1-й серией; ** – $p < 0,01$ по сравнению с исходным; [^] – $p < 0,05$ по сравнению со 2-й серией; ^{^^} – $p < 0,05$ по сравнению с 1-й серией.

Таблица 2

Характер изменений мозгового кровотока на 40-й минуте реперфузии

№ серии	Количество опытов, % (абсол.)	Кровоток при ишемии, в % к исходному	Максимальное АД при реперфузии, мм Нг	Характер кровотока на 40-й мин реперфузии	Кровоток на 40-й мин реперфузии
1	100 (15)	12,2 ± 0,8	83,7 ± 4,2	отсроченная гипоперфузия	53,9 ± 4,1
2	75 (9)	14,7 ± 0,7	68,3 ± 2,7	отсроченная гипоперфузия	52,1 ± 7,3
	25 (3)	14,0 ± 1,0	60	no-reflow	16,0 ± 0,6
3	68 (11)	12,9 ± 0,7	73,6 ± 3,1	отсроченная гипоперфузия	62,8 ± 5,1
	6 (1)	17	50	no-reflow	17
	26 (4)	15,5 ± 1,5	72,5 ± 7,5	восстановление до исходного уровня	100
4	25 (3)	12,7 ± 2,4	73,3 ± 3,3	отсроченная гипоперфузия	29,3 ± 4,3
	33 (4)	12,0 ± 1,4	57,5 ± 2,5*	no-reflow	12,0 ± 1,4
	42 (5)	10,6 ± 1,1	64,0 ± 4,0	апноэ	
5	58 (7)	25,4 ± 3,0	80,0 ± 5,3	отсроченная гипоперфузия	74,4 ± 5,7*
	42 (5)	33,2 ± 3,4	68,0 ± 8,6	восстановление до исходного уровня	100

Примечание. * – $p < 0,001$ по сравнению с 1-й серией.

га крыс (бассейн средней мозговой артерии) с помощью лазерного доплеровского флоуметра ALF-21 (диаметр игольчатого датчика 0,8 мм) фирмы Transonic Systems Inc. (США). Анализировался уровень мозгового кровотока на 40-й минуте реперфузии, поскольку ранее было показано, что при данной модели ишемии к указанному времени развивается отсроченная гипоперфузия [7, 8]. Одновременно в бедренной артерии проводили регистрацию артериального давления электроманометром BPR-01 (Венгрия). Для наблюдения за пинальными сосудами в черепной кости стоматологической фрезой выпиливали окошко 3×4 мм. Регистрацию диаметра сосудов проводили с помощью микроскопа МБС-2 через интактную твердую мозговую оболочку, которую в процессе эксперимента орошали теплым физиологическим раствором. Для инфузии использовали стандартный физиологический раствор (0,9% изотонический раствор хлорида натрия) и «Перфторан» (ОАО НПФ «Перфторан», г. Пушкино). При обработке результатов вычислялись средние и стандартные отклонения массивов данных. Для предотвращения свертывания крови животным вводили гепарин в дозе 100 МЕ/кг. При сравнении характеристик массивов использовали параметрические (Стьюдента) и непараметрические (Фишера) критерии.

В 1-й контрольной серии ($n=15$) постишемическую реинфузию осуществляли аутокровью в полном объеме. Во 2-й серии ($n=12$) 1 мл реинфузируемой крови замещали 1 мл физиологического раствора. В 3-й серии ($n=16$) 1 мл реинфузируемой крови замещали 1 мл перфторана. В 4-й серии ($n=12$) за полчаса до ишемии проводили замену 1 мл крови на 1 мл физиологического раствора и далее эксперимент вели по протоколу 2-й серии. В 5-й серии ($n=12$) за полчаса до ишемии проводили замену 1 мл крови на 1 мл перфторана и далее эксперимент вели по протоколу 2-й серии. В 6-й серии ($n=15$) эксперименты проводили по протоколам 1,4 и 5-й се-

рий и при этом осуществляли наблюдение за пинальной сосудистой сетью, причем в нескольких опытах одновременно регистрировали мозговой кровоток

Результаты и обсуждение

В 1-й серии опытов (реперфузия: аутокровь) отмечалось достоверное снижение АД и отсроченная гипоперфузия ($53,9 \pm 4,1\%$ от исх.) на 40 минуте реперфузии во всех случаях (табл. 1, 2). Во 2-й серии (реперфузия: аутокровь + физ. р-р), несмотря на 6% гемодилюцию, средние гемодинамические показатели не отличались от результатов 1-й серии, за исключением более низкого уровня АД на 40-й минуте реперфузии ($57,9 \pm 2,3$ мм рт. ст. против $69,0 \pm 3,7$ мм рт. ст., $p < 0,05$) (табл. 1). Однако, структурные показатели внутри серии были иные: отсроченная гипоперфузия встречалась в 75% опытов, а в 25% мозговой кровоток оставался на ишемическом уровне, то есть имел место феномен no-reflow (табл. 2). Примечательно, что максимальное АД в начале реперфузии при этом не превышало 60 мм рт. ст.

В 3-й серии экспериментов (реперфузия: аутокровь + перфторан) средний мозговой кровоток на 40-й минуте реперфузии был достоверно выше, чем во 2-й серии ($69,3 \pm 6,4\%$ против $43,3 \pm 7,2\%$ от исх., $p < 0,05$, табл. 1). Структурный анализ серии

делает понятным это отличие: отсроченная гипоперфузия наблюдалась только в 58%, по-reflow — в 6%, а в 26% опытов кровотоки восстанавливались до исходного уровня (табл. 2).

В 4-й серии экспериментов (гемодилюция физ. раствором — ишемия — реперфузия: аутокровь + физ. р-р) средний мозговой кровоток на 40-й минуте реперфузии был достоверно ниже, чем во всех предыдущих сериях ($19,4 \pm 3,9$ % от исх., $p < 0,05$), хотя уровень АД в этот период достоверно не различался (табл. 1). Структурный анализ показывает причину подобного снижения: отсроченная гипоперфузия наблюдалась в 25%, а в 33% опытов проявлялся феномен по-reflow (в остальных случаях крысы не доживали до 40-минутной отметки и погибали от остановки дыхания) (табл. 2). Как и в предыдущих сериях, максимальный уровень АД при реперфузии в случае с по-reflow не превышал 60 мм рт. ст., что было достоверно ниже, чем в опытах с гипоперфузией ($p < 0,05$).

В 5-й серии экспериментов (гемодилюция перфтораном — ишемия — реперфузия: аутокровь + физ. р-р) средний мозговой кровоток на 40-й минуте реперфузии был достоверно выше, чем во всех предыдущих сериях ($85,1 \pm 4,9$ % от исх., $p < 0,05$), хотя уровень АД в этот период достовер-

но не различался (табл. 1). Структурный анализ серии раскрывает причину: отсроченная гипоперфузия наблюдалась только в 58%, а в остальных 42% случаях наблюдалось восстановление кровотока (табл. 2).

В 6-й серии экспериментов проводили прижизненные наблюдения над пиальной сетью в условиях реперфузии аутокровью, физиологическим раствором и гемодилюции физиологическим раствором и перфтораном. Было обнаружено, что в норме направление потока крови в пиальных сосудах было следующим: крупные артериолы (60–80 мкм) — разветвления — мелкие артериолы (30–40 мкм) — прекортикальные артериолы (15–20 мкм) — капиллярная сеть — прекортикальные вены — мелкие вены — крупные вены (рис. 1). В период ишемии (без предшествующей гемодилюции) наблюдалась констрикция (коллапс) прекортикальных артериол, вплоть до полного закрытия просвета, и резкое замедление кровотока в прекортикальных венах, вплоть до стаза. Артериолы большего диаметра также уменьшали свой просвет. В части венул диаметром 100 мкм наблюдался ретроградный ток крови (прекортикальная вена — вена — прекортикальная вена), в то время, как в более крупных венах (200–300 мкм) ток крови сохранялся нормальный, хотя и был замедленный. Регистрация

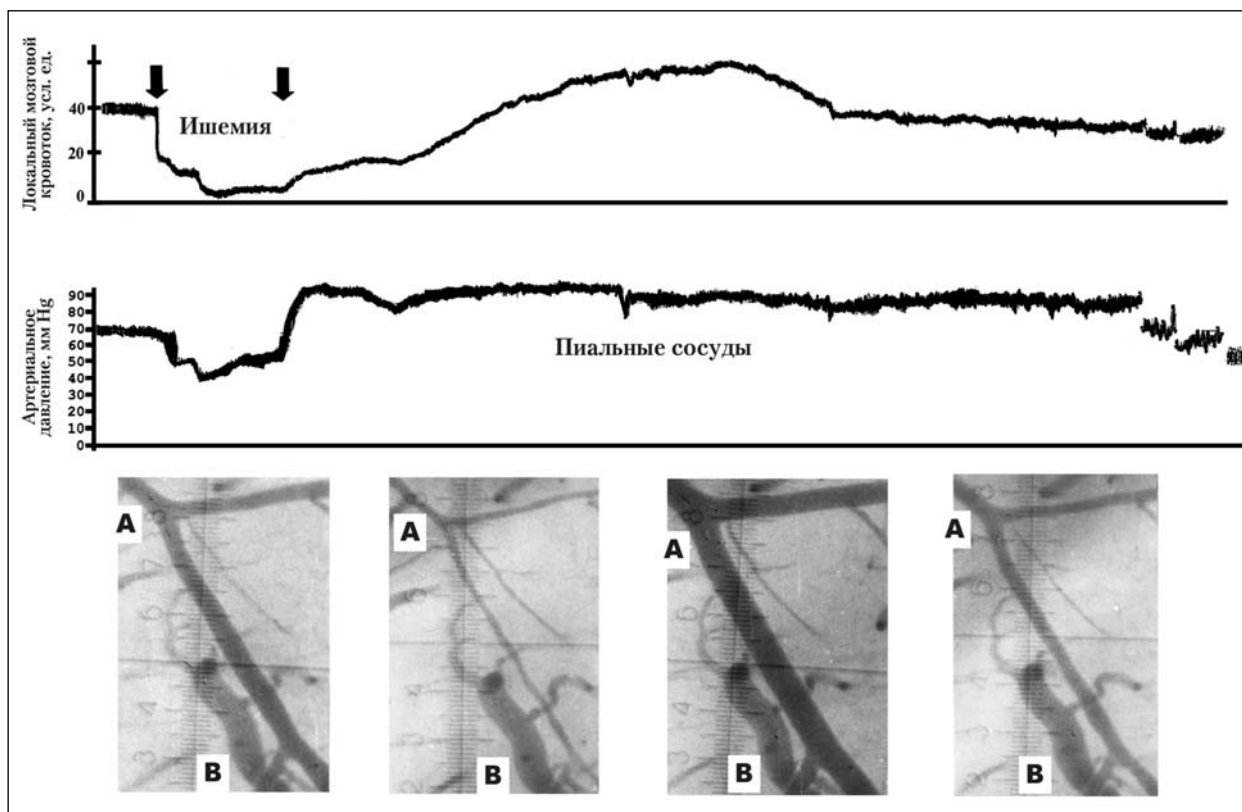


Рис. 1. Динамика локального мозгового кровотока, артериального давления и диаметра пиальных сосудов в исходном состоянии, при ишемии и после реперфузии в условиях отсутствия феномена по-reflow.

Здесь и на рис. 2. Условные обозначения: А — артериолы, В — вены. Стрелками обозначены: начало ишемии и начало реперфузии. Биомикроскопия пиальных сосудов крысы, ув. 50.

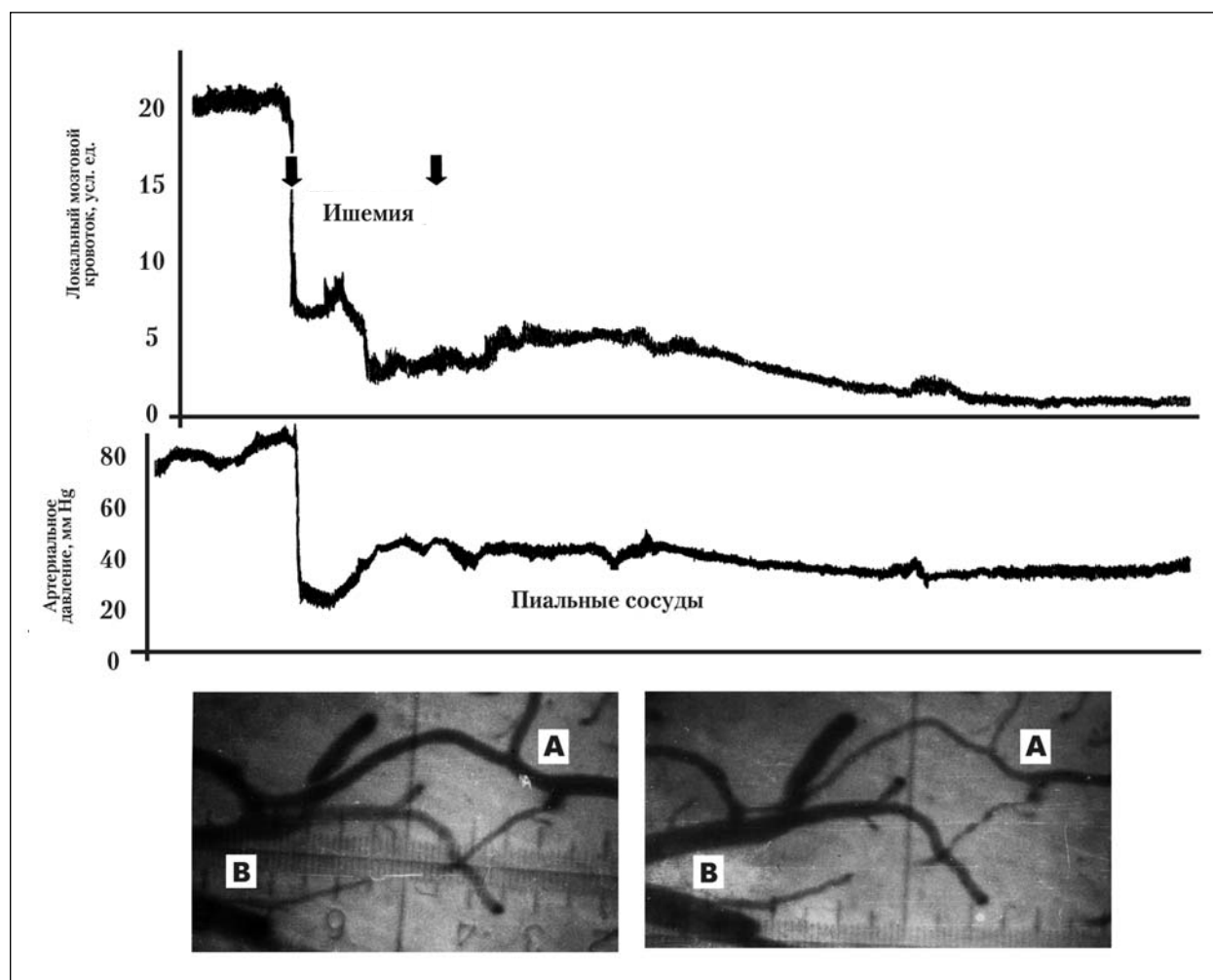


Рис. 2. Динамика локального мозгового кровотока, артериального давления и диаметра пиальных сосудов в исходном состоянии, при ишемии и реперфузии в условиях проявления феномена *po-reflow*.

мозгового кровотока в этот период демонстрировала резкое снижение уровня кровотока до 12–15% от исходного уровня. После реинфузии в течение 1–10 минут наблюдалось восстановление диаметра пиальных артериол и восстановление направления и скорости кровотока во всех сосудах. Далее в процессе реперфузии наблюдалась дилатация артериол, в части опытов выше исходного диаметра, которая достигала максимума к 20-й минуте реперфузии, с постепенным снижением диаметра ниже исходного уровня к 40-й минуте реперфузии. При регистрации мозгового кровотока в этот период (20 мин реперфузии) наблюдалась гиперемическая реакция (до 150% от исходного уровня), которая к 40-й минуте сменялась уменьшением и стабилизацией мозгового кровотока значительно ниже исходного уровня: 40–50% (отсроченная гипоперфузия) (рис. 1). Однако подобные реакции наблюдались только в том случае, если реперфузионное давление превышало 60 мм рт. ст. При уровне АД 60 мм рт. ст. и ниже в 44% случаев наблюдалось сохранение констрикции артериол на весь период реперфузии. При регистрации мозгового кровотока в это время отмечалось сохра-

нение его ишемического уровня (феномен *po-reflow*) (рис. 2). При доишемической гемодилуции перфтораном коллапса артериол при ишемии не наблюдалось.

Как следует из представленных результатов, феноменологически оба явления: *po-reflow* и отсроченная гипоперфузия — сходны, поскольку в обоих случаях наблюдается постишемическое снижение мозгового кровотока значительно ниже исходной величины. Однако, несмотря на сходство, существуют и два принципиальных отличия:

1. Разные сроки проявления обоих феноменов: *po-reflow* наблюдается практически сразу после окончания ишемии, а отсроченной гипоперфузии часто предшествует 20–30 минутная фаза гиперемии.

2. Разный уровень снижения кровотока: при *po-reflow* — это кровоток, близкий к ишемическому (15% и ниже), а при отсроченной гипоперфузии — это 30–80% от исходного уровня.

В проведенном нами исследовании показано, что в период ишемии наблюдается коллапс пиаль-

ных артериол. Подобный феномен был описан А. С. Burton в 1962 г. [9] и назван «критическим спадением». «Критическое спадение» наблюдается у артериол, обладающих развитым гладкомышечным слоем и наступает задолго до того, как перфузионное давление приблизится к нулю. Одним из объектов исследования этого явления является боталлов проток новорожденных крыс, на котором было показано, что процесс коллапса инициируется простагландинами [10].

Рассмотрим возможный механизм коллапса, учитывая особенности применяемой нами модели ишемии. Показано, что глобальная ишемия переднего мозга у крыс приводит к многократному повышению концентрации глутамата в межклеточном пространстве, что, как известно, вызывает открытие NMDA-зависимых кальциевых каналов, как в нейронах, так и в гладкомышечных клетках сосудов [11].

В наших экспериментах коллапс наступал не сразу после максимального снижения давления, а на 6–7-й минуте, из чего можно заключить, что он не являлся следствием пассивного спадения артериол, а очевидно был связан с увеличением концентрации свободного кальция в миоцитах, который запускал процесс синтеза простагландинов из арахидоновой кислоты, являющихся мощными вазоконстрикторами [10].

Нами показано, что на фоне реперфузии коллапс может либо сохраняться, либо сменяться дилатацией артериол. В первом случае наблюдается феномен *no-reflow*, во втором — реактивная гиперемия. Как уже отмечалось, большую роль в проявлении феномена невосстановления кровотока играет уровень АД в начальный период реперфузии. В наших исследованиях он не превышал 60 мм рт. ст. Однако уровень перфузионного давления — не единственный лимитирующий фактор, поскольку при реперфузии аутокровью даже низкое АД не вызывает *no-reflow*. А в 3-й серии экспериментов по сравнению со 2-й частота проявления этого феномена значительно ниже (25 и 6%, соответственно). Нам представляется, что эта разница обусловлена различной кислородной емкостью крови в месте ишемии, поскольку более быстрая доставка кислорода (чему способствует перфторан) [12], может вызывать более быстрое восстановление работы ионных насосов и, соответственно, ионного баланса в миоцитах, в том числе для ионов кальция. В пользу этого предположения свидетельствуют данные 5-й серии, где на фоне предварительного введения пер-

фторана коллапса не наблюдалось вообще, соответственно и не было феномена невосстановления кровотока даже на фоне низкого реперфузионного давления.

Отсутствие коллапса артериол при действии перфторана может быть также связано с его блокирующими свойствами в отношении кальциевых каналов. Таким образом, гипотетически можно допустить, что «критическое спадение» артериол в период ишемии обусловлено кальциевой перегрузкой миоцитов и синтезом простагландинов, однако пока этот вопрос не решен окончательно, рациональнее рассматривать феномен *no-reflow* как самостоятельное, недостаточно изученное явление.

По другому можно трактовать отсроченную гипоперфузию. Убедительно доказано, что именно увеличение концентрации свободных ионов кальция в миоцитах ответственно за повышение тонуса мозговых артериол в постишемический период, и наблюдаемое при этом снижение мозгового кровотока можно предотвратить введением кальциевых блокаторов, в частности, нимодипина [8]. В нашем исследовании величина гипоперфузии в 1–3-й сериях достоверно не различалась, поскольку во всех случаях условия ишемии были равны и, очевидно, кальциевая перегрузка была сравнимой.

Другое дело — две последние серии.

В 4-й серии ишемии предшествовала 6% гемодилюция, что могло усугубить тяжесть ишемии. Возможно, что вследствие этого уровень отсроченной гипоперфузии был достоверно ниже, чем в 1–3-й сериях. В 5-й серии гемодилюция также присутствовала, однако возможное кальцийблокирующее действие перфторана не только нивелировало усугубляющий эффект, но в одной части опытов достоверно повысило уровень самой гипоперфузии, а в другой части полностью ее устранило.

Выводы

1. Феномен *no-reflow* обусловлен коллапсом пиальных артериол, который происходит в период ишемии и продолжается во время реперфузии.

2. Феномен отсроченной постишемической гипоперфузии обусловлен повышением тонуса пиальных артериол, связанным с кальциевой перегрузкой миоцитов сосудистой стенки.

3. Внутриагтериальное введение перфторана снижает проявление обоих феноменов, вследствие большей доставки кислорода в ишемизированный участок мозга и, возможно, за счет блокады кальциевых каналов.

Литература

1. *Ames III. A., Fischer E. G.* Studies mechanisms of impairment of cerebral circulation following ischemia: effect of hemodilution and perfusion pressure. *Stroke* 1972; 3: 538–542.
2. *Wade J. G., Amtorp O., Sorensen S. C.* Role of increase in potassium concentration of brain interstitial fluid. *Arch. Neurol.* 1975; 32: 381–384.
3. *Hossmann K. A., Lechtape-Grüter H., Hossmann V.* The role of cerebral blood flow for the recovery of the brain after prolonged ischemia. *Z. Neurol.* 1979; 204: 281–299.
4. *Todd N. V., Picozzi P., Crockard H. A., Russell R. R.* Reperfusion after cerebral ischemia: influence of duration of ischemia. *Stroke* 1986; 17 (3): 460–466.
5. *Гаевый М. Д., Позорельный В. Е., Аджиев Л. М., Приходько А. К.* Фармакологическая коррекция постишемических цереброваскулярных нарушений. В кн: Галенко-Ярошевский П. А. (ред.) Фармакологическая регуляция тонуса сосудов. М: РАМН; 1999. 451–506
6. *Гусев Е. И.* Основные механизмы острой церебральной ишемии. В кн.: Мозг. Теоретические и клинические аспекты. М.: Медицина; 2003. 139–157.
7. *Ганьшина Т. С., Александрин В. В., Мирзоян Р. С.* Влияние препарата эзафосфина на кровоснабжение интактного и ишемизированного мозга. *Эксперим. и клинич. фармакология* 2004; 67 (4): 19–20.
8. *Александрин В. В., Хайлов Н. А., Мирзоян Г. Р., Ганьшина Т. С.* Сравнительное изучение дилцерепа (нимодипина) на мозговое кровообращение интактных животных и после глобального ишемического поражения мозга. *Эксперим. и клинич. фармакология* 2002; 65 (2): 17–19.
9. *Burton A. C.* Physical principles of circulatory phenomena: the physical equilibria of the heart and blood vessels. In: *Handbook of physiology*; 2. *Circulation* 1962; 1. 85–106.
10. *Kajino H., Taniguchi T., Fujieda K. et al.* An EP4 receptor agonist prevents indomethacin-induced closure of rat ductus arteriosus *in vivo*. *Pediatric Res.* 2004; 56: 586–590
11. *Zhang J., Benveniste H., Klitzman B., Piantadosi C. A.* Nitric oxide synthase inhibition and extracellular glutamate concentration after cerebral ischemia/reperfusion. *Stroke* 1995; 26 (2): 298–304.
12. *Мороз В. В., Афонин А. Н.* Современное состояние проблемы создания кровезаменителей — переносчиков кислорода. *Вестн. службы крови России* 2000; 1: 17–20.

Поступила 14.12.05

Подписной купон на журнал «ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ»

Для оформления подписки заполните бланк заказа и отправьте его по факсу: 231-42-03

Или по электронной почте: E-mail: idkp@yandex.ru

По адресу: 117105, г. Москва, ул. Нагатинская, д. За, ООО «ИД «Красная площадь»

Вам будет выставлен счет.

Деньги за подписку можно перечислить платежным поручением по следующим реквизитам:

ООО «Издательский дом «Красная площадь»», ИНН 7707073430,**Р/С 40702810338040100752, СБ РФ Тверское, ОСБ № 7982, г. Москва, к/с 3010181040000000225,****БИК 044525225, ОКПО 41560930, ОКОНХ 87100**

Наименование организации _____

Адрес доставки _____

Телефон (код города) _____ Факс (код города) _____

E-mail _____ ИНН _____

Контактное лицо _____

Количество комплектов _____

 на 2 месяца на 6 месяцев на 1 год