

ДИАГНОСТИКА И КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ ПРИ ТЕРМИНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ (экспериментальное исследование)

А. С. Разумов, А. Я. Евтушенко

Кемеровская государственная медицинская академия
Кафедра биохимии, кафедра патологической физиологии

Diagnosis and Correction of Impaired Lipid Peroxidation in Terminal States (Experimental Study)

A. S. Razumov, A. Ya. Yevtushenko

Kemerovo State Medical Academy
Department of Biochemistry, Department of Pathological Physiology

В экспериментах на кошках с использованием модели 5-минутной клинической смерти от пролонгированной кровопотери изучены ишемические и ранние постреанимационные изменения процессов липопероксидации в коре и подкорковых структурах головного мозга, в левой и хвостатой долях печени, корковом и мозговом веществе почек и в плазме крови. Установлено, что при умирании и в раннем постреанимационном периоде изменения липопероксидации имеют выраженные качественные, количественные и временные различия не только в разных органах, но и в разных структурах одного органа. Показано, что ведущее значение в постреанимационной активации липопероксидации в головном мозге играет избыточная реперфузия. При этом активация липопероксидации не всегда сопровождается адекватным накоплением продуктов ПОЛ в тканях и в плазме крови и выявляется только при достаточно продолжительной инкубации гомогенатов. Установлено, что не только избыточная реперфузионная активация липопероксидации, но и ее чрезмерное угнетение с помощью антиоксидантных препаратов оказывает неблагоприятное влияние на восстановление жизнедеятельности после перенесенного терминального состояния. *Ключевые слова:* липопероксидация, антиоксиданты, ишемия, реперфузия, диагностика, коррекция, реанимация.

Ischemic and early postresuscitative lipid peroxidation (LPO) changes in the cortex and subcortical structures of the brain, the left and Spiegelian lobes of the liver, the cortex and medulla of the kidney, and plasma were studied in experiments on cats, by using a model of 5-minute clinical death from long-term blood loss. At death and in the early postresuscitative period, the LPO changes were ascertained to have qualitative, quantitative, and temporary differences not only in various organs, but also in various structures of the same organ. Excessive reperfusion was shown to play a leading role in postresuscitative LPO activation in the brain. At the same time, the high rate of LPO was not always followed by adequate tissue and plasma accumulation of LPO products and it was revealed only in rather long incubation of homogenates. Not only hyperreperfusion activation of lipid peroxidation, but also its excessive inhibition caused by antioxidant agents was established to adversely affect resuscitation after a prior terminal condition. *Key words:* lipid peroxidation, antioxidants, ischemia, reperfusion, diagnosis, correction, resuscitation.

В настоящее время не подлежит сомнению, что одним из универсальных механизмов ишемических и реперфузионных повреждений органов и тканей является неконтролируемая активация свободно-радикальных процессов, включая перекисное окисление липидов — ПОЛ [1, 2]. Из этого следует, что при возобновлении кровообращения необходимо ограничивать реперфузионную активацию прооксидантных систем, например, с помощью антиоксидантных препаратов.

Вместе с тем, свободно-радикальные реакции, постоянно протекая во всех тканях организма, являются одним из компонентов универсального механизма регуляции многих жизненно важных процессов, таких как адаптивная физико-химическая модификация клеточных мембран, рецепторов и ферментов, окислительное фосфорилирование, экспрессия генов [3, 4]. Следовательно, избыточное угнетение свободно-ради-

кальных процессов, не меньше, чем и их избыточная активация, может иметь весьма негативные последствия. Очевидно, существуют границы, в рамках которых изменения интенсивности свободно-радикальных процессов имеют адаптивный характер. Однако, несмотря на многочисленные исследования, в настоящее время не представляется возможным определить адаптивный диапазон ишемических и реперфузионных изменений интенсивности липопероксидации. В результате отсутствует доказательная база для разработки адекватных, патогенетически обоснованных и четко регламентированных способов диагностики и коррекции нарушений процессов липопероксидации при терминальных состояниях.

Цель исследования — патогенетическое обоснование повышения адекватности диагностики и коррекции ранних постреанимационных нарушений процессов липопероксидации.

Материалы и методы

В работе приведены обобщенные результаты многолетних экспериментальных исследований ишемических и реперфузионных нарушений процессов липопероксидации при терминальных состояниях, в выполнении которых принимали участие сотрудники кафедр биохимии и патофизиологии Долгова С. Г., Паличева Е. И., Пеганова Ю. А., Разумов А. С.

Эксперименты выполнены на 217 беспородных кошках обоего пола под нембуталовым наркозом (45 мг/кг внутривенно) в соответствии с требованиями приказов № 1179 МЗ СССР от 10.10.1983 г., № 267 МЗ РФ от 19.06.2003 г., «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», «Правилами по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных», утвержденных МЗ СССР (1977) и МЗ РСФСР (1977).

Наркотизированное животное фиксировали на операционном столе, интубировали трахею, выделяли и катетеризировали левую бедренную артерию, левую и правую бедренные вены. Непосредственно перед катетеризацией сосудов вводили гепарин (500 Ед/кг внутривенно). После завершения подготовительной части эксперимента и 30-минутного периода стабилизации производили регистрацию исходных показателей.

Клиническую смерть продолжительностью 5 минут воспроизводили с помощью моделирования пролонгированной кровопотери в результате повреждения бедренной артерии (геоморостат Уиггера, АД 50 мм рт. ст., 30 минут + смертельное обескровливание).

Реанимационные мероприятия включали в себя внутриартериальное нагнетание выпущенной крови и искусственное дыхание в режиме умеренной гипервентиляции. В ходе опытов оценивали характер ранних показателей восстановления жизнедеятельности (время возобновления сердечной деятельности, появления первого вдоха, ритмичного самостоятельного дыхания, роговичного рефлекса и болевой чувствительности). Через 3 часа после возобновления кровообращения извлекали катетеры, перевязывали катетеризируемые сосуды, обрабатывали и послойно ушивали операционные раны. Вводили антибиотики. В течение 10 суток после реанимации оценивали выживаемость животных и характер видимого неврологического восстановления — модифицированная 100-балльная шкала Todd M. et al., 1981 [5].

Определение показателей липопероксидации. Интенсивность липопероксидации оценивали в коре и подкорковых структурах головного мозга (серое и белое вещество супрасильвиевой извилины, таламус, хвостатое ядро), в корковом и мозговом веществе почек, в хвостатой и левой долях печени, на 5-й минуте клинической смерти, через 5 минут и 3 часа после возобновления кровообращения, т. е. в периоды полной ишемии, гиперперфузии и гипоперфузии, соответственно [6]. Непосредственно после извлечения, органы отмывали от крови изотоническим раствором хлорида натрия (0—+40°C) через катетеры, введенные в общие сонные артерии, почечную и печеночную артерии, воротную вену. Гомогенаты (1/15 М фосфатный буфер, pH 7,4; разведение 1:5 для почек и 1:10 для остальных органов) готовили на льду в холодильной комнате (0—+40°C). С целью выявления незначительных или скрытых изменений соотношения про- и антиоксидантной активности определяли наряду со статическими (концентрация продуктов ПОЛ в тканях на момент взятия проб) и динамические показатели липопероксидации [7, 8]. Гомогенаты инкубировали при 37°C в условиях спонтанной и индуцированной (Fe²⁺-аскорбат, конечные концентрации в пробах 20 и 400 мкмоль, соответственно) *in vitro* липопероксидации. Через 15, 30, 45, 60, 90 и 120 минут определяли в них концентрацию продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой — ТБК-активные продукты (ТБК-ап), и рассчитывали средние и дискретные значения скорости ее изменения [9].

Кровь для исследования получали в исходном состоянии, на 15-й минуте кровопотери, 5-й минуте клинической смерти и

через 1, 5, 15, 30 минут, 1; 1,5; 2 и 3 часа после возобновления кровообращения через катетер, введенный в правую бедренную вену. На 5-й минуте клинической смерти кровь брали из резервуара для кровопускания. С целью остановки процессов липопероксидации в полученной крови, ее быстро вносили в охлажденные пробирки с ЭДТА (конечная концентрация 1 мг/мл). В гептановом и изопропанольном экстрактах плазмы определяли оптическую плотность при длине волны 220 нм (содержание липидов с изолированными двойными связями, ИДС), 232 нм (содержание липидов с диеновыми конъюгатами, ДК), 278 нм (содержание липидов с триеновыми конъюгатами, ТК) и рассчитывали индексы окисленности липидов ДК/ИДС и ТК/ИДС.

В качестве контроля использованы показатели липопероксидации, определяемые в соответствующие опытным сроком у животных, перенесших аналогичные оперативные вмешательства, наркоз и фиксацию без моделирования терминального состояния.

Результаты исследования обработаны статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента, непараметрических критериев Вилкоксона и χ^2 .

Результаты и обсуждение

Установлено, что в головном мозге содержание продуктов ПОЛ к 5-й минуте клинической смерти достоверно увеличивается только в сером веществе (в среднем на 70% от соответствующего контроля), тогда как в остальных структурах уменьшается или достоверно не изменяется (табл. 1). Через 5 минут и 3 часа после возобновления кровообращения содержание продуктов ПОЛ во всех изученных структурах мозга уменьшается по сравнению с соответствующим контролем. В левой и хвостатой долях печени, корковом и мозговом веществе почек содержание продуктов липопероксидации достоверно увеличивается в первые минуты после оживления и остается выше контрольных значений до 3-го часа постреанимационного периода (ПРП).

При инкубации гомогенатов, полученных на 5-й минуте клинической смерти, содержание продуктов ПОЛ в таламусе увеличивается больше, а в сером веществе и хвостатом ядре меньше, чем в контроле. В белом веществе не отличается от контрольных значений. В гомогенатах, полученных на 5-й минуте ПРП, накопление продуктов ПОЛ во время инкубации увеличивается по сравнению с таковым на 5-й минуте клинической смерти в хвостатом ядре — практически до контрольных значений, еще больше увеличивается в таламусе, существенно возрастает в сером веществе, в среднем в 1,5—1,7 раза, и не изменяется в белом веществе. Через 3 часа после возобновления кровообращения накопление продуктов ПОЛ при инкубации незначительно превышает контрольные значения в гомогенатах серого вещества и хвостатого ядра в условиях спонтанной липопероксидации и таламуса при индукции ПОЛ, в остальных структурах уменьшается.

Таким образом, изменения соотношения про- и антиоксидантной активности в различных структурах головного мозга при умирании и в динамике ПРП имеют количественные, качествен-

Концентрация ТБК-ап в структурах головного мозга, печени и почек *in vivo* (I) и через 2 часа инкубации гомогенатов в условиях спонтанной (II) и индуцированной (III) липопероксидации (нмоль/мл; $M \pm m$)

| Исследуемая ткань | Значение показателя в различных сериях эксперимента | | | | |
|----------------------|---|------------|------------|-----------|------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Головной мозг | | | | | |
| Серое вещество | | | | | |
| I | 6,3±0,73 | 10,6±1,02* | 5,4±0,31 | 8,9±0,77 | 6,4±0,58* |
| II | 30,2±0,71 | 36,3±1,08* | 28,5±1,32 | 36,1±1,47 | 27,7±1,63* |
| III | 43,0±2,15 | 51,3±0,92* | 44,2±2,17 | 52,5±2,05 | 42,9±2,26* |
| Белое вещество | | | | | |
| I | 1,3±0,13 | 1,0±0,08* | 1,0±0,09* | 0,9±0,10 | 0,7±0,08* |
| II | 2,3±0,19 | 1,7±0,08* | 1,7±0,17* | 1,4±0,13 | 1,0±0,11* |
| III | 1,6±0,15 | 1,2±0,08* | 1,2±0,14* | 1,4±0,11 | 0,9±0,10* |
| Таламус | | | | | |
| I | 6,4±0,86 | 5,9±0,38 | 3,9±0,57* | 6,7±0,72 | 4,6±0,49* |
| II | 29,7±1,76 | 30,8±1,30 | 24,1±1,95* | 29,0±1,10 | 16,0±1,85* |
| III | 45,1±1,87 | 47,9±2,26 | 39,9±0,94* | 45,5±3,30 | 32,5±3,19* |
| Хвостатое ядро | | | | | |
| I | 8,7±0,32 | 8,1±0,85 | 7,5±0,78* | 5,9±0,68 | 5,6±0,62 |
| II | 31,8±2,31 | 28,3±2,39 | 28,6±2,61 | 23,5±1,71 | 25,1±1,76 |
| III | 56,3±3,11 | 44,2±2,41* | 51,7±3,19 | 49,1±2,65 | 43,5±2,15* |
| Печень | | | | | |
| Левая доля | | | | | |
| I | 16,1±1,13 | 17,0±1,06 | 23,3±1,41* | 16,4±1,11 | 19,3±1,12* |
| II | 19,3±1,35 | 20,1±1,19 | 28,9±1,25* | 19,6±1,14 | 24,9±1,43 |
| III | 22,7±1,30 | 21,6±1,44 | 31,8±2,24* | 24,2±1,19 | 25,7±2,22 |
| Хвостатая доля | | | | | |
| I | 18,9±1,06 | 19,1±1,14 | 22,7±1,30* | 18,7±1,23 | 22,7±1,05* |
| II | 19,3±1,75 | 20,8±1,10 | 24,8±1,38* | 19,1±1,76 | 27,2±1,12* |
| III | 21,7±1,34 | 24,3±1,40 | 25,7±1,54 | 24,0±0,91 | 26,6±2,27 |
| Почки | | | | | |
| Корковое вещество | | | | | |
| I | 5,3±1,04 | 5,6±0,89 | 7,5±1,00* | 5,2±0,86 | 5,7±0,81 |
| II | 5,2±0,91 | 5,3±0,93 | 7,1±0,93* | 5,0±0,90 | 6,0±0,92 |
| III | 6,9±1,06 | 8,7±0,62* | 13,3±1,04* | 5,9±1,32 | 12,3±1,24* |
| Мозговое вещество | | | | | |
| I | 3,5±0,49 | 4,5±0,71 | 5,6±1,09* | 3,3±0,56 | 4,1±0,76* |
| II | 5,2±0,59 | 5,3±0,69 | 8,8±0,91* | 4,8±0,52 | 4,9±1,25 |
| III | 7,8±0,67 | 7,0±0,62 | 14,1±2,50* | 4,9±0,72 | 15,6±1,90* |

Примечание. Здесь и в табл. 2: 1 серия — контроль для клинической смерти и 5-й минуты ПРП (наркоз и фиксация, аналогичные таковым в опытных сериях, $n=11$); 2 серия — 5-я минута клинической смерти ($n=9$); 3 серия — 5-я минута ПРП ($n=13$); 4 серия — контроль для 3-го часа ПРП (наркоз и фиксация, аналогичные таковым в опытной серии, $n=9$); 5 серия — 3-й час ПРП ($n=8$); * — $p < 0,05$ в сравнении с соответствующей контрольной серией.

ные и временные различия, которые более наглядно выявляются при определении динамических показателей липопероксидации *in vitro* по сравнению с определением статических показателей. Усиление прооксидантной активности при умирании не сопровождается накоплением продуктов ПОЛ *in vivo* в таламусе, хвостатом ядре и белом веществе и уменьшается их накопление при инкубации в сером веществе и хвостатом ядре вследствие мобилизации систем антиоксидантной защиты и утилизации продуктов липопероксидации. С возобновлением кровообращения улучшается элиминация продуктов ПОЛ в кровеносное русло, в результате чего они не накапливаются в тканях *in vivo*, несмотря на увеличение прооксидантной активности и относительную недостаточность систем антиоксидантной защиты, что подтверждается увеличением накопления продуктов ПОЛ в инку-

бируемых гомогенатах, особенно при дополнительной стимуляции липопероксидации *in vitro*.

Мобилизация систем антиоксидантной защиты во время умирания также подтверждается расчетами стартовой и средней скорости накопления продуктов ПОЛ в инкубируемых гомогенатах. В частности, несмотря на увеличение содержания продуктов липопероксидации в сером веществе *in vivo*, отсутствует увеличение стартовой скорости (первые 15 минут инкубации) их накопления в гомогенатах (табл. 2). Однако при дополнительной стимуляции ПОЛ *in vitro* стартовая скорость достоверно увеличивается, что свидетельствует о недостаточной мобилизации систем антиоксидантной защиты или их быстрого истощения вследствие активации прооксидантных систем.

Через 3 часа после возобновления кровообращения во всех изученных структурах мозга

Таблица 2

Стартовая скорость накопления ТБК-ап в гомогенатах головного мозга, печени и почек при инкубации в условиях спонтанной (I) и индуцированной (II) липопероксидации (нмоль/мл/мин; $M \pm m$)

| Исследуемая ткань | Значение показателя в различных сериях эксперимента | | | | |
|----------------------|---|-------------|--------------|--------------|--------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Головной мозг | | | | | |
| Серое вещество | | | | | |
| I | 0,52±0,04 | 0,52±0,03 | 0,44±0,04* | 0,52±0,03 | 0,33±0,02* |
| II | 2,18±0,11 | 2,46±0,13* | 2,19±0,08 | 2,59±0,11 | 2,07±0,07* |
| Белое вещество | | | | | |
| I | 0,013±0,002 | 0,012±0,002 | 0,011±0,003 | 0,015±0,003 | 0,009±0,001* |
| II | 0,021±0,003 | 0,017±0,003 | 0,013±0,002* | 0,013±0,002 | 0,005±0,001* |
| Таламус | | | | | |
| I | 0,42±0,05 | 0,34±0,04* | 0,26±0,03* | 0,12±0,01 | 0,05±0,01* |
| II | 2,45±0,18 | 2,38±0,14 | 1,75±0,07* | 1,71±0,09 | 1,18±0,10* |
| Хвостатое ядро | | | | | |
| I | 0,36±0,05 | 0,34±0,05 | 0,36±0,04 | 0,37±0,04 | 0,36±0,03 |
| II | 1,80±0,17 | 1,61±0,13 | 1,93±0,18 | 1,92±0,13 | 1,62±0,12* |
| Печень | | | | | |
| Левая доля | | | | | |
| I | 0,11±0,02 | 0,02±0,02* | 0,11±0,04 | 0,03±0,02 | 0,08±0,02* |
| II | 0,27±0,01 | 0,31±0,03 | 0,36±0,04 | 0,45±0,06 | 0,75±0,10* |
| Хвостатая доля | | | | | |
| I | 0,12±0,02 | 0,06±0,01* | 0,21±0,02* | 0,07±0,02 | 0,14±0,03* |
| II | 0,32±0,03 | 0,12±0,03* | 0,40±0,06 | 0,28±0,04 | 0,29±0,06 |
| Почки | | | | | |
| Корковое вещество | | | | | |
| I | 0 | -0,03±0,01 | -0,05±0,02 | -0,06±0,01 | -0,04±0,01 |
| II | 0,07±0,03 | 0,14±0,04* | 0,36±0,05 | -0,005±0,001 | 0,24±0,02* |
| Мозговое вещество | | | | | |
| I | 0,03±0,01 | -0,02±0,01 | 0,05±0,02 | 0,05±0,002 | 0,02±0,003 |
| II | 0,16±0,04 | 0,08±0,04 | 0,33±0,03* | 0,05±0,02 | 0,44±0,07* |

уменьшается содержание продуктов ПОЛ *in vivo*, а также стартовая и средняя скорости их накопления в гомогенатах *in vitro*. Вполне возможно, что это является результатом уменьшения интенсивности липопероксидации не столько за счет повышения активности систем антиоксидантной защиты, сколько вследствие развития дефицита субстратов ПОЛ, потребляемых в свободнорадикальных реакциях во время умирания и последующего оживления.

Сравнительный анализ изучаемых показателей липопероксидации в левой и хвостатой долях печени, корковом и мозговом веществе почек позволяет заключить, что изменения соотношения про- и антиоксидантной активности в них при умирании и последующем оживлении также, как в коре и подкорковых структурах головного мозга, имеют количественные, качественные и временные различия, которые не всегда проявляются соответствующими изменениями содержания продуктов ПОЛ *in vivo* и достаточно адекватно выявляются при определении динамических показателей липопероксидации при инкубации гомогенатов в условиях спонтанного и индуцированного *in vitro* ПОЛ.

Для оценки роли реперфузии в развитии ранних постренимационных изменений интенсивности липопероксидации в коре и подкорковых структурах головного мозга выполнены эксперименты с

ограничением мозговой гиперперфузии (ОМГП) в рамках ранее установленного адаптивного диапазона — увеличение не менее чем на 10% и не более чем в 2,4 раза от исходных значений [10]. В течение первой минуты после возобновления кровообращения исключали из циркуляции часть крови до стабилизации АД на уровне 80–85% от исходного (гемобаростат Уиггерса) и поддерживали его в течение 30 минут. Первоначально объем крови, поступающей в резервуар, увеличивался, затем кровь постепенно возвращалась в сосудистое русло. Если к 30-й минуте в резервуаре еще оставалась кровь, то ее, умеренно повышая давление в гемобаростате, вводили в сосудистое русло животного.

Установлено, что в результате ограничения гиперперфузии головного мозга в рамках адаптивного диапазона динамические показатели липопероксидации, наиболее адекватно отражающие соотношение активности про- и антиоксидантных систем, к 3-му часу после оживления изменяются таким образом, что их различия с контрольными значениями становятся минимальными (табл. 3). Это позволяет заключить, что одним из ведущих механизмов постренимационной активации липопероксидации в коре и подкорковых структурах головного мозга является избыточная реперфузия.

Для оценки патогенетической значимости реперфузионной активации процессов липопероксидации выполнены эксперименты с ограни-

Влияние ограничения мозговой гиперперфузии на скорость накопления ТБК-ап в гомогенатах головного мозга (нмоль/мл/мин, $M \pm m$)

| Исследуемая ткань | Стартовая скорость | | | Средняя скорость | | |
|---|--------------------|--------------|---------------|------------------|----------------|-----------------|
| | Контроль | ПРП | ОМГП | Контроль | ПРП | ОМГП |
| Инкубация в условиях спонтанного ПОЛ | | | | | | |
| Серое вещество | 0,52±0,03 | 0,33±0,02* | 0,53±0,03** | 0,26±0,02 | 0,19±0,01* | 0,25±0,02** |
| Белое вещество | 0,015±0,003 | 0,009±0,001* | 0,012±0,002 | 0,0046±0,0007 | 0,0028±0,0004* | 0,0039±0,0007** |
| Таламус | 0,12±0,01 | 0,05±0,01* | 0,13±0,02** | 0,19±0,01 | 0,10±0,02* | 0,17±0,02** |
| Хвостатое ядро | 0,37±0,04 | 0,36±0,03 | 0,32±0,02 | 0,17±0,02 | 0,19±0,02 | 0,15±0,02 |
| Инкубация в условиях индукции ПОЛ | | | | | | |
| Серое вещество | 2,59±0,11 | 2,07±0,07* | 2,35±0,10** | 0,49±0,04 | 0,41±0,02* | 0,48±0,02** |
| Белое вещество | 0,013±0,002 | 0,005±0,001* | 0,014±0,002** | 0,0053±0,0006 | 0,0018±0,0004* | 0,0050±0,0007** |
| Таламус | 1,71±0,09 | 1,18±0,10* | 1,57±0,06** | 0,43±0,02 | 0,31±0,03* | 0,43±0,04** |
| Хвостатое ядро | 1,92±0,13 | 1,62±0,12* | 2,02±0,13** | 0,48±0,03 | 0,42±0,03 | 0,48±0,04 |

Примечание. Контроль — наркоз и фиксация без моделирования терминального состояния ($n=9$); ПРП — обычное ведение постреанимационного периода ($n=8$); ОМГП — ограничение мозговой гиперперфузии ($n=13$); * — $p < 0,05$ в сравнении с контролем; ** — $p < 0,05$ в сравнении с обычным ведением ПРП.

чением интенсивности ПОЛ с помощью антиоксидантных препаратов различной мощности. Использованы один из самых мощных на сегодняшний день ингибиторов ПОЛ фридокс (тирилазада мезилат «Urhojn s.a. Puurs Belgium») и достаточно «мягкий» ингибитор эмоксипин (3-окси-6-метил-2-этилпиридин), которые вводили внутриартериально в составе реинфузируемой крови во время проведения реанимационных мероприятий в дозе 6 и 7 мг/кг, соответственно.

Установлено, что интенсивность липопероксидации к 3-му часу после возобновления кровообращения при использовании фридокса уменьшалась до значений меньше контрольных, тогда как при использовании более мягкого антиоксиданта эмоксипина угнетение ПОЛ было менее выраженным и практически восстанавливалось исходное соотношение про- и антиоксидантной активности.

Улучшались показатели раннего восстановления жизнедеятельности (табл. 4). При включении в комплекс реанимационных мероприятий фридокса раньше появлялись первый вдох, самостоятельное ритмичное дыхание и болевая чувствительность. Вместе с тем, возрастало число безуспешных реанимаций — у 19 из 54 животных (35%) не удалось возобновить эффективную сердечную деятельность. Для сравнения, при обычном оживлении — у 13 из 83 (16%). В случае успешной реанимации сердечные сокращения появлялись достоверно позже, чем при обычном оживлении и использовании более мягкого антиоксиданта эмоксипина. Однако при включении в комплекс реанимационных мероприятий эмоксипина происходила задержка первого вдоха, тогда как самостоятельное ритмичное дыхание восстанавливалось достоверно раньше. Уменьшалось число безуспешных реанимаций (23%) по сравнению с таковым при использовании фридокса, однако оставалось несколько больше, чем при обычном оживлении. Дальнейшее восстановление

функций ЦНС при использовании фридокса и эмоксипина происходило быстрее и к исходу первых суток ПРП неврологический дефицит был на 35 и 30%, соответственно, меньше, чем у животных с обычным оживлением. На 3-и—4-е сутки все животные с коррекцией постреанимационных нарушений липопероксидации по поведению, двигательной активности и другим показателям мало отличались друг от друга и от контрольных животных, перенесших наркоз и фиксацию без моделирования терминального состояния. У животных с обычным оживлением в эти сроки еще сохранялись серьезные неврологические нарушения — спинальный автоматизм, судорожный синдром, ареактивная кома и др. Выживаемость реанимированных животных с полным восстановлением видимого неврологического статуса увеличивалась до 53% при использовании эмоксипина и до 43% при использовании фридокса. При обычной реанимации выживаемость составляла 29%.

На основании полученных данных можно заключить, что имеется определенный диапазон, в рамках которого активация липопероксидации при возобновлении кровообращения оживляемого организма имеет адаптивный характер, выход за верхние границы этого диапазона является одним из патогенетических факторов развития постреанимационной патологии ЦНС. Вместе с тем, избыточное угнетение реперфузионной активации липопероксидации (фридокс) не способствует более быстрому и полноценному восстановлению функций ЦНС оживляемого организма по сравнению с умеренным ограничением (эмоксипин). Ранее было показано, что подавление образования активных форм кислорода приводит к снижению выживаемости животных с экспериментальными нарушениями кровоснабжения головного мозга, а лечение и профилактика возрастных изменений мозга как синтетическими, так и природными антиоксидантами оказываются совсем не такими эффективными, как предполагалось, исходя из кон-

Ранние показатели восстановления жизнедеятельности у кошек после 5-минутной клинической смерти от пролонгированной кровопотери

| Серия | Сердечные сокращения (секунды) | Время от возобновления кровообращения (минуты) | | | |
|-------|-----------------------------------|--|-------------------|--------------------|--------------------------|
| | | первый вдох | ритмичное дыхание | роговичный рефлекс | болевая чувствительность |
| 1 | 49,0±4,95 | 3,6±0,55 | 21,7±2,05 | 24,3±2,27 | 37,2±3,43 |
| 2 | 68,7±7,32* | 2,7±0,27* | 17,2±1,24* | 22,1±2,19 | 25,4±3,00* |
| 3 | 40,9±10,60 | 5,0±2,70 | 9,5±4,20* | 23,2±3,32 | 26,3±3,82* |
| 4 | 48,8±4,90 | 3,4±0,48 | 18,3±1,37 | 22,4±2,14 | 28,9±3,06* |

Примечание. 1серия — обычное оживление ($n=70$); 2 серия — введение фридокса ($n=35$); 3 серия — введение эмоксипина ($n=10$); 4 серия — ограничение мозговой гиперперфузии ($n=40$); * — $p<0,05$ в сравнении с обычным оживлением.

цепции антиоксидантной защиты [11, 12]. Полученные данные о влиянии антиоксидантных препаратов различной мощности на результаты реанимации позволяют объяснить это избыточным угнетением интенсивности липопероксидации, не отрицая роли неконтролируемой активации процессов ПОЛ в патогенезе ишемической и реперфузионной патологии головного мозга.

Анализ результатов реанимации у животных с ограничением мозговой гиперперфузии (ОМГП) в первые минуты после возобновления кровообращения показал преимущества предупреждения избыточной реперфузионной активации липопероксидации по сравнению с ее ограничением. Если ранние показатели восстановления жизнедеятельности сколько-нибудь значимо не улучшались по сравнению с таковыми при использовании антиоксидантных препаратов, то дальнейшее восстановление функций ЦНС происходило быстрее (неврологический дефицит к исходу 1-х суток уменьшался на 50%), а выживаемость реанимированных животных с полным восстановлением видимого неврологического статуса увеличивалась до 63%. Нельзя исключить, что благоприятные эффекты ограничения гиперперфузии могли быть обусловлены и рядом других факторов. В частности, уменьшением внутричерепного давления, улучшением микроциркуляции, транскапиллярного обмена и лимфатического дренажа тканей.

Исходя из патогенетической значимости реперфузионных нарушений процессов липопероксидации в развитии постреанимационной патологии, представлялось целесообразным оценить возможность их диагностики в клинических условиях, когда практически исключается изучение липопероксидации в образцах тканей, аналогичное таковому в экспериментальных условиях. Несмотря на разнонаправленные изменения интенсивности липопероксидации не только в различных органах, но и в разных структурах одного и того же органа, предполагалось, что изменения показателей ПОЛ плазмы крови могут в определенной степени интегрально отражать реперфузионные изменения липопероксидационного статуса организма при терминальных состояниях.

Установлено, что изменения показателей липопероксидации плазмы крови (концентрация ДК, ТК, ИДС и индексы окисленности липидов ДК/ИДС и ТК/ИДС) при умирании и последующем оживления весьма вариабельны, особенно в гептановом экстракте, не столь значительны и часто имеют иную направленность по сравнению с таковыми в головном мозге, печени и почках. Кроме того, при использовании антиоксидантов и ограничении гиперперфузии, также не было соответствия между изменениями изучаемых показателей липопероксидации в плазме и органах. Совокупность этих обстоятельств ставит под сомнение возможность использования данных показателей липопероксидации плазмы крови для оценки изменений про- и антиоксидантной активности в органах при умирании и последующем оживлении. С одной стороны, это обусловлено количественными, качественными и временными различиями изменений соотношения про- и антиоксидантной активности в разных органах. С другой стороны, выраженные изменения гемоволевических параметров, имеющих место при умирании и последующем оживлении, в определенной степени нивелируют изменения любых концентрационных показателей плазмы, включая и концентрацию продуктов ПОЛ. Кроме того, отсутствие соответствия между изменениями показателей липопероксидации плазмы крови и различных органов обусловлено структурно-функциональными особенностями микроциркуляции и гистогематических барьеров, соответственно, интенсивностью оксигенации и элиминации продуктов ПОЛ в кровеносное русло. Однако это не исключает, что в более поздние сроки ПРП, когда отсутствуют быстрые изменения гемодинамики и оксигенации, изменения изучаемых показателей липопероксидации плазмы крови могут быть достаточно информативными, особенно при определении их в изопропанольном экстракте. На данном этапе имеются основания заключить, что значительное и продолжительное увеличение концентрации липидов с диеновыми конъюгатами в изопропанольном экстракте плазмы крови в первые минуты после оживления, отсутствие нормализации концентрации липидов с диеновыми и триеновыми конъюгатами к 3-му часу постреанимацион-

ного периода и непрерывное увеличение концентрации липидов с изолированными двойными связями можно рассматривать как предвестники неблагоприятного исхода реанимации.

Выводы

1. Изменения соотношения про- и антиоксидантной активности в коре и подкорковых структурах головного мозга, левой и хвостатой долях печени, корковом и мозговом веществе почек при умирании от пролонгированной кровопотери и в раннем ПРП имеют выраженные качественные, количественные и временные различия. Они не проявляются изменениями содержания продуктов ПОЛ в тканях *in vivo* и адекватно выявляются при определении динамических показателей липопероксидации в инкубируемых гомогенатах.

2. Ведущим патогенетическим фактором ранней постреанимационной активации процес-

сов липопероксидации является избыточная гиперперфузия.

3. Реперфузионная активация липопероксидации оживляемого организма имеет адаптивное значение в определенном диапазоне, выход за верхние и нижние границы которого является одним из патогенетических факторов развития постреанимационной патологии.

4. В стратегическом плане одним из способов повышения эффективности реанимационных мероприятий является адекватная оценка реперфузионных нарушений процессов перекисного окисления липидов и патогенетически обоснованная их коррекция. В тактическом плане необходимо определить четкие границы диапазона, в рамках которых реперфузионная активация липопероксидации имеет адаптивное значение, разработать способы интегральной и селективной оценки изменений липопероксидационного статуса при быстро изменяющихся параметрах гемодинамики и оксигенации тканей.

Литература

1. *Биленко М. В.* Ишемические и реперфузионные повреждения органов. М.: Медицина; 1989.
2. *Болдырев А. А.* Глутаматные рецепторы мозга и механизмы окислительного стресса. В кн.: Патофизиология органов и систем. Типовые патологические процессы: Тез. докл. 2 Рос. конгр. по патофизиологии. М.; 2000. 13.
3. *Дубинина Е. Е., Коновалов П. В., Ковругина С. В. и др.* Состояние анти- и прооксидантной систем крови у пожилых больных с психическими расстройствами. В кн.: Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии: Тр. науч. конф. СПб.; 1998. 2. 476–480.
4. *Морозов В. И.* Участие активных форм кислорода в регуляторных процессах. В кн.: Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии: Тр. науч. конф. СПб.; 1998. 2. 398–401.
5. *Todd M. M., Dunlop B. J., Shapiro H. M. et al.* Ventricular fibrillation in the cat: A model for global cerebral ischemia. *Stroke* 1981; 12 (6): 808–815.
6. *Евтушенко А. Я.* Патофизиология постреанимационного кровообращения. *Скорая медицинская помощь* 2003; 4 (4): 23–24.
7. *Архипенко Ю. В., Диденко В. В.* Сравнение устойчивости мозга и внутренних органов к перекисному окислению липидов в ходе им-
8. *Львова С. П., Горбунова Т. Ф., Абаева Е. М.* Влияние гипотермии и даларгина на перекисное окисление липидов в тканях крыс. *Вопр. мед. химии* 1993; 39 (3): 21–24.
9. *Разумов А. С., Пеганова Ю. А., Вандакуров Е. В.* Определение статических и динамических показателей липопероксидации: Метод. рекомендации. Кемерово; 1997.
10. *Будаев А. В.* Влияние изменений распределения сердечного выброса на восстановление тканевого кровотока и функций мозга у животных, перенесших клиническую смерть: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Кемерово; 1996.
11. *Федорова Т. Н.* Перекисное окисление липидов при ишемии мозга и возможность его фармакологической коррекции. Дис. ... канд. биол. наук. М.; 1995.
12. *Halliwel B.* Reactive oxygen species and the central nervous system. *J. Neurochem.* 1992; 59 (5): 1609–1623.

Поступила 02.05.06