

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.136.72>

ПРИМЕНЕНИЕ ГИПЕРДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ОЧАГОВОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Научная статья

Коробков Д.М.^{1,*}, Вечканова Н.А.², Белова О.А.³, Беспалова А.М.⁴, Тагарифуллина А.Г.⁵, Абанова Е.В.⁶, Чернова Ю.М.⁷, Ерина М.С.⁸, Ямашкина В.В.⁹, Кузнецов Е.В.¹⁰, Борисова Т.Н.¹¹, Зотов И.А.¹², Куплинова К.В.¹³, Гущина В.О.¹⁴, Шиндяпкина Е.П.¹⁵, Юдаева Д.Е.¹⁶, Баландина И.А.¹⁷

¹ORCID : 0000-0001-8948-0052;

^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17} Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарёва, Саранск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (doctordmk[at]mail.ru)

Аннотация

Статья посвящена изучению эффектов гипердинамической терапии, включающую введение коллоидов и фармакологическое увеличение сердечного выброса путем инфузии добутамина. Животные случайным образом были распределены в две группы: Группа 1. Окклюзия средней мозговой артерии (СМА) + инфузия 0,9% раствора NaCl с постоянной скоростью 2 мл/ч внутривенно (в\в) в течение 1 часа. Группа 2. После окклюзии СМА+ инфузионная терапия Гидроксиэтилкрахмалом (ГЭК) 130/0.4, в\в болюсами от 0,5 до 1,0 мл в течение 1 часа Группа 3 (ГЭК+ добутамин). В группе 3 гемодинамические и физиологические показатели оставались стабильными на протяжении всего периода эксперимента, за исключением статистически значимого увеличения ЧСС с 349 ± 28 до 481 ± 31 уд/мин, $p < 0,05$. Результаты настоящего исследования, не смогли продемонстрировать дополнительное положительное влияние добутамина и гидроксиэтилкрахмала на увеличение скорости локального мозгового кровотока в ишемизированном мозге и защиту мозга от ишемического повреждения.

Ключевые слова: окклюзия средней мозговой артерии, добутамин, гипердинамическая терапия.

APPLICATION OF HYPERDYNAMIC THERAPY IN FOCAL CEREBRAL ISCHAEMIA IN RATS IN AN EXPERIMENT

Research article

Korobkov D.M.^{1,*}, Vechkanova N.A.², Belova O.A.³, Bespalova A.M.⁴, Tagarifullina A.G.⁵, Abanova Y.V.⁶, Chernova Y.M.⁷, Erina M.S.⁸, Yamashkina V.V.⁹, Kuznetsov Y.V.¹⁰, Borisova T.N.¹¹, Zotov I.A.¹², Kuplinova K.V.¹³, Gushchina V.O.¹⁴, Shindyapkina Y.P.¹⁵, Yudaeva D.Y.¹⁶, Balandina I.A.¹⁷

¹ORCID : 0000-0001-8948-0052;

^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17} National Research Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

* Corresponding author (doctordmk[at]mail.ru)

Abstract

The article is dedicated to the study of the effects of hyperdynamic therapy, including colloid administration and pharmacological increase of cardiac output by dobutamine infusion. The animals were randomly assigned into two groups: Group 1. Middle cerebral artery (MCA) occlusion + infusion of 0.9% NaCl solution at a constant rate of 2 ml/h intravenously (in\ven) for 1 hour. Group 2. After MCA occlusion + infusion therapy with hydroxyethyl starch (HES) 130/0.4, in boluses of 0.5 to 1.0 ml for 1 hour Group 3 (HES + dobutamine). In Group 3, haemodynamic and physiological parameters remained stable throughout the experimental period, except for a statistically significant increase in HR from 349 ± 28 to 481 ± 31 beats/min, $p < 0.05$. The results of the present study, failed to demonstrate additional positive effects of dobutamine and hydroxyethyl starch on the increase of local cerebral blood flow velocity in the ischemic brain and protection of the brain from ischaemic damage.

Keywords: middle cerebral artery occlusion, dobutamine, hyperdynamic therapy.

Введение

Экспериментальные исследования демонстрируют, что увеличение объема крови за счет коллоидных агентов эффективно при лечении фокальной ишемии головного мозга [1], [2], [6]. Достоверно известно, что увеличение сердечного выброса, вызванное введением коллоидной жидкости в соответствии с законом Франка-Старлинга, в значительной степени способствует улучшению мозгового кровотока (МК) в ишемизированной ткани головного мозга (изменения сердечного выброса могут напрямую влиять на МК, в ишемизированных участках головного мозга) [1], [7], но стоит отметить, что существуют и потенциальные риски применения гипердинамической терапии, такие как застойная сердечная недостаточность и отек легких, но в литературе встречаются и весьма противоречивые данные. Применение фармакологических методов увеличения сердечного выброса может иметь особую практическую ценность, особенно это актуально у контингента пациентов старшей возрастной группы с инсультом, так как именно у пожилых лиц наиболее часто встречаются сердечные и легочные осложнения. Цель исследования – изучение эффектов гипердинамической терапии, включающую введение коллоидов и фармакологическое увеличение сердечного выброса путем инфузии добутамина.

Методы и принципы исследования

Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных [3]. Эксперимент проводился на 45 животных (нелинейные белые крысы обоего пола массой 220-335 г). Животным выполнено анестезиологическое пособие (наркоз), включающее интраперитонеальное введение (и/п) препаратов: «Ксилазина гидрохлорида» (из расчета 0,5 мл/кг массы тела) и «Золетил 100» (из расчета 8 мг/кг массы тела) [2]. Выполнялась респираторная поддержка. Животным выполнялась 45-минутная окклюзия СМА по методике J. Koizumi (1986) [4], с последующей реперфузией. На аппаратном комплексе «ВЮРАС» в соответствии со стандартными методиками производился мониторинг парциального давления кислорода (P02), парциального давления углекислого газа (PC02), среднего артериального давления (САД), пульсового давления (ПД), частоты сердечных сокращений (ЧСС), pH, скорости локального мозгового кровотока (СЛК) [5]. Животные случайным образом, были распределены в две группы: Группа 1 (контроль, n = 15). После окклюзии СМА, в период реперфузии, крысы получали инфузионную терапию в виде 0,9% раствора NaCl со скоростью 2 мл/ч внутривенно (в/в) в течение 1 часа. Группа 2 (ГЭК, n = 15). После окклюзии СМА, в период реперфузии, крысы получали инфузионную терапию Гидроксиэтилкрахмалом (ГЭК) 130/0.4, в/в болюсами от 0,5 до 1,0 мл в течение 1-часового периода лечения до тех пор, пока СЛК не достигала максимальных значений. Группа 3 (ГЭК+добутамин, n = 15). После окклюзии СМА, в период реперфузии, крысы получали инфузионную терапию Гидроксиэтилкрахмалом 130/0.4, в/в болюсами от 0,5 до 1,0 мл в течение 1 часа до тех пор, пока СЛК не достигла максимальных значений+ добутамин (15 мкг/кг/мин). На 3 сутки часть животных выводилась из эксперимента путем эвтаназии, под наркозом, с соблюдением всех принципов гуманного отношения к животным. Полученный биоматериал (головной мозг) фиксировали в 10% растворе формалина, осуществлялось иссечение биоматериала, заливка в парафин, приготовление срезов, с последующим окрашиванием гематоксилином и эозином по стандартной методике. На следующем этапе происходила оценка области инфаркта с подсчетом в мм³ (оценка области инфаркта происходила после отцифровки микрофотографий в программной среде Windows 10 с использованием стандартного графического редактора). Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи пакета программ «Statistica 10.0». Был применен параметрический t-критерий Стьюдента и критерий Манна-Уитни. Результаты представлены следующим образом, M ± m (M - среднее, m – ошибка среднего). Различия принимались за статистически значимые при p < 0,05.

Основные результаты

В группе 3 гемодинамические и физиологические показатели оставались стабильными на протяжении всего периода эксперимента, за исключением статистически значимого увеличения ЧСС с 349,3 ± 28,1 до 481,6 ± 31,8 уд./мин, p < 0,05 (табл. 1). В группе животных 3, спустя 45 минут от момента окклюзии СМА отмечено статистически значимое увеличение пульсового давления, на 28,6% в сравнении с группой контроля, и на 16,4% в сравнении с группой 2, p < 0,05.

Таблица 1 - Изменения гемодинамических и физиологических показателей в каждой экспериментальной группе

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.136.72.1>

Показатель	Группа 1. Контроль, n = 15	Группа 2. ГЭК, n = 15	Группа 3. ГЭК+добутамин, n = 15
ЧСС, уд./мин			
до эксперимента	323,5 ± 21,2	341,7 ± 26,4	349,3 ± 28,1
спустя 45 минут	341,4 ± 29,1	362,7 ± 20,2 *	481,6 ± 31,8 *#
P02, мм рт.ст.			
до эксперимента	110,3 ± 18,5	118,4 ± 19,6	111,3 ± 12,3
спустя 45 минут	124,5 ± 9,4	114,3 ± 14,1	120,3 ± 11,4
PC02, мм рт.ст.			
до эксперимента	37,1 ± 4,01	37,1 ± 2,02	37,3 ± 3,01
спустя 45 минут	36,4 ± 3,01	38,1 ± 2,02	39,2 ± 3,04
САД, мм рт.ст.			
до эксперимента	85,1 ± 10,1	88,1 ± 7,05	89,8 ± 8,05
спустя 45 минут	85,2 ± 7,05	91,4 ± 7,02	93,4 ± 6,1
Пульсовое давление, мм рт.ст.			
до эксперимента	27,4 ± 5,1	27,5 ± 2,1	30,6 ± 3,1
спустя 45 минут	29,3 ± 6,2	32,4 ± 3,1	37,7 ± 3,2 *#
pH			
до эксперимента	7,34 ± 0,02	7,34 ± 0,03	7,35 ± 0,03
спустя 45 минут	7,34 ± 0,03	7,34 ± 0,03	7,34 ± 0,02

Примечание: * – различия статистически значимы по отношению к группе 1 (контроль) ($p < 0,05$);
– различия статистически значимы по отношению к группе 2 ($p < 0,05$)

Локальные изменения СЛК после окклюзии СМА и в период лечения отражены в табл. 2. В контралатеральном (неишемическом) полушарии после окклюзии СМА СЛК имела тенденцию к умеренному снижению примерно до 91-94% от исходных измерений, однако только изменения, наблюдаемые в контрольной группе, достигли статистической значимости ($p < 0,05$). В группе 3, отмечено статистически значимого изменения СЛК не было отмечено ни в неишемизированных участках мозга, ни в ишемизированных участках мозга, данный показатель составил $92,6 \pm 16,3$ и $36,5 \pm 10,1$ мл/100 г/мин, соответственно, $p > 0,05$ (табл. 2). Статистически значимых различий в каждой группе до окклюзии СМА и после отмечено не было.

Таблица 2 - Изменения локального мозгового кровотока в неишемизированном и ишемизированном мозге после окклюзии средней мозговой артерии

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.136.72.2>

Группы	Скорость локального мозгового кровотока, мл/100 г/мин		
	До эксперимента	После окклюзии СМА	После лечения (период реперфузии)
Группа 1. Контроль, n = 15			
Неишемизированный мозг	$80,3 \pm 18,3$	$73,6 \pm 17,3$	$75,4 \pm 12,7$
Ишемизированный мозг	$77,3 \pm 17,3$	$18,3 \pm 7,1$	$18,6 \pm 7,3$
Группа 2. ГЭК, n = 15			
Неишемизированный мозг	$87,5 \pm 10,4$	$81,7 \pm 9,5$	$85,5 \pm 14,1$
Ишемизированный мозг	$92,3 \pm 15,3$	$20,8 \pm 7,5$	$36,3 \pm 10,4$
Группа 3. ГЭК+добутамин, n = 15			
Неишемизированный мозг	$90,4 \pm 19,3$	$84,4 \pm 19,1$	$92,6 \pm 16,3$ *
Ишемизированный мозг	$98,6 \pm 21,3$	$20,2 \pm 5,3$ *	$36,5 \pm 10,1$

Примечание: * – различия статистически значимы по отношению к показателям до окклюзии СМА и в период реперфузии в этой группе ($p < 0,05$)

Умеренное снижение локальной скорости мозгового кровотока, вероятно, было связано с диашизисом, и в целом восстанавливалось в течение 60 минут в период реперфузии. С другой стороны, окклюзия СМА последовательно приводила к заметному снижению СЛК в ишемизированных областях на 22–24% от исходных значений до начала эксперимента. Статистически значимых различий в СЛК в ишемизированных областях между группами зафиксировано не было. В контрольной группе не было зафиксировано статистически значимого изменения СЛК. После проводимого лечения в группах 2 и 3 отмечено увеличение СЛК. В группе 2 СЛК достоверно увеличилась с $20,8 \pm 7,5$ мл/100 г/мин после окклюзии СМА до $36,3 \pm 10,4$ мл/100 г/мин в период реперфузии ($p < 0,01$). Аналогичные изменения отмечены и в группе 3, но дополнительная инфузия раствора добутамина не приводила к дальнейшему улучшению СЛК в ишемизированной области.

Средний объем инфаркта по данным гистологического исследования составил 119 ± 30 мм³ в контрольной группе, 73 ± 18 мм³ в группе 2, и 71 ± 23 мм³ в группе 3 (рис. 1). Объемы инфаркта в группах 2 и 3 были статистически значимо меньше в сравнении с контрольной группой на 38,6% и 40,3% соответственно, $p < 0,01$.

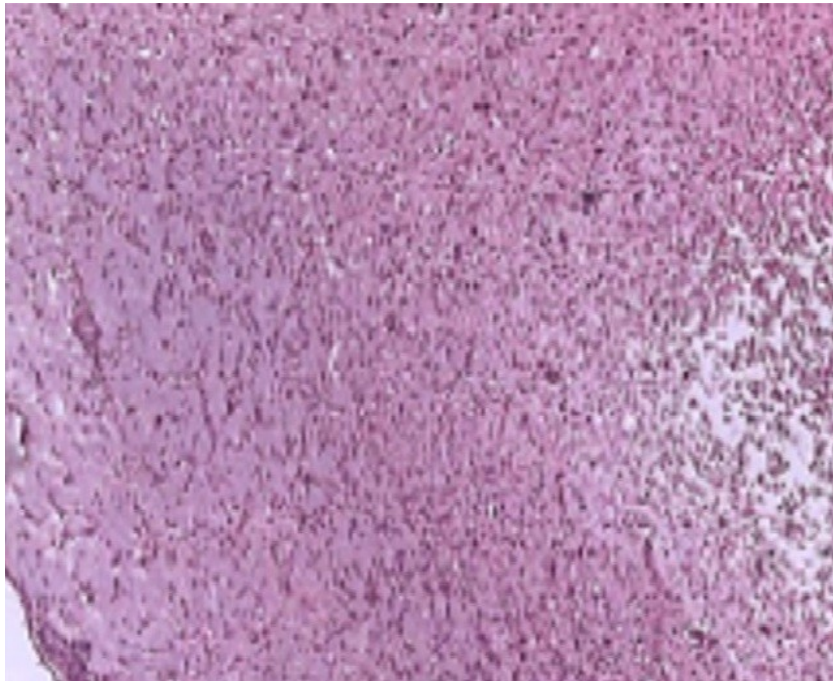


Рисунок 1 - Пример деструкции вещества мозга с диффузной лейкоцитарной инфильтрацией в области инфаркта головного мозга у крыс в контрольной группе
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.136.72.3>

Примечание: окр. гематоксилином и эозином, ув. x100

Обсуждение

В литературе на протяжении последних 10 лет ведутся споры о том, может ли сердечный выброс повлиять напрямую на СЛК в ишемизированных областях головного мозга [1], [7], [8], так же как СЛК в ишемизированных областях мозга с нарушенной ауторегуляцией пассивно изменяется пропорционально колебаниям перфузионного давления [9], [10]. Изменения СЛК в ишемизированных участках мозга были прямо пропорциональны изменениям сердечного выброса как в положительном, так и в отрицательном направлении. Добутамин обладает положительным инотропным действием и в дозировке 2-15 мкг/кг/мин увеличивает сердечный выброс (в основном за счет увеличения ударного объема), снижает системное сосудистое сопротивление и улучшает почечный кровоток без значительных изменений частоты сердечных сокращений и системного кровотока. При введении добутамина происходит снижение давления наполнения левого желудочка, которое приближается к давлению заклинивания легочной артерии, что приводит к дальнейшему усилению функции левого желудочка. Можно было бы ожидать, что инфузия добутамина приведет к увеличению сердечного выброса, как с введением коллоидов, так и без них. Из литературных данных следует – сердечно-легочные осложнения, о которых сообщалось в клинических исследованиях, связанных с увеличением введения объема коллоидов, была выдвинута гипотеза, что увеличение сердечного выброса путем инфузии добутамина будет более безопасным при клиническом применении, особенно у пожилых пациентов, перенесших инсульт. Эмпирическим путем нами, установлено, что добутамин вызывал увеличение сердечного выброса на 15–20%. Считается, что изменения сердечного выброса и СЛК ответственны за обратимый неврологический дефицит, именно поэтому мы применили добутамин т.к. увеличение сердечного выброса инфузией добутамина влияет на другие органы, кроме мозга (добутамин не действует непосредственно на специфические дофаминергические рецепторы в сосудах головного мозга). В ранее проведенных нами исследованиях, было установлено, что инфузия добутамина сама по себе не приводила к статистически значимому увеличению СЛК в областях ишемии головного мозга. Поскольку САД изменилось минимально после введения добутамина, этот отрицательный результат, возможно, связан с доказательствами того, что сердечный выброс увеличился только примерно на 15% по сравнению с исходными значениями, что безусловно требует проведения дальнейших исследований, и такое увеличение сердечного выброса должно быть недостаточным для существенного увеличения СЛК в ишемизированных областях мозга.

Заключение

Результаты настоящего исследования также не смогли продемонстрировать дополнительное положительное влияние добутамина и гидроксипропилкрахмала на увеличение СЛК в ишемизированном мозге и защиту мозга от ишемического повреждения. Возможным объяснением наблюдаемого отсутствия положительных эффектов является следующее: увеличение сердечного выброса в результате инфузии добутамина не было статистически значимым, поэтому дальнейшее титрование не было воспроизведено; дополнительное увеличение СЛК было достигнуто через коллатеральные кровеносные сосуды. Инфузия добутамина значительно способствовала развитию тахикардии,

превзойдя наши ожидания, что привело к меньшему увеличению ударного объема, а следовательно, уменьшению СЛК.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Rao G.S. Cerebral Casospasm: Current Understanding / G.S. Rao // *Curr Opin Anaesthesiol.* — 2016. — 29. — P. 541-551.
2. Инчина В.И. Изучение особенностей выраженности неврологического дефицита у крыс с церебральной патологией травматического генеза и сопутствующей гипоксией в остром периоде / В.И. Инчина, Д.М. Коробков, А.О. Петрунин // *Современные проблемы науки и образования.* — 2020. — 3. — С. 1-9. — DOI: 10.17513/spno.29794.
3. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123) // Council of Europe. — URL: <http://conventions.coe.int/Treaty/EN/Treaties/PDF/123-Arev.pdf> (accessed: 09.09.2023).
4. Koizumi J. Experimental Studies of Ischemic Brainedema. I: a New Experimental Model of Cerebral Embolism in Rats in Which Recirculation Can Be Introduced in the Ischemic Area / J. Koizumi // *Japan Journal of Stroke.* — 1986. — 8. — P. 1-8.
5. Biopac Student Lab PRO Manual // Biopac. — 2010. — URL: https://www.biopac.com/wp-content/uploads/BSL-PRO-3_7-Manual.pdf (accessed: 09.09.2023).
6. Schubert A. Cardiovascular Therapy of Neurosurgical Patients / A. Schubert // *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* — 2007. — 21. — P. 483-493. — DOI: 10.1016/j.baaa.2007.06.003.
7. Harutyunyan G. Revisiting Ischemia After Brain Injury: Oxygen May Not Be the Only Problem / G. Harutyunyan, R. Avitsian // *J Neurosurg Anesthesiol.* — 2020. — 32. — P. 5-8. — DOI: 10.1097/ANA.0000000000000650.
8. Kawabori M. Inflammatory Responses in Brain Ischemia / M. Kawabori, M.A. Yenari // *Curr Med Chem.* — 2015. — 22. — P. 1258-1277. — DOI: 10.2174/0929867322666150209154036.
9. Ginsberg M.D. Cerebral Ischemia: Celebrating Successes, Confronting Challenges / M.D. Ginsberg // *Neuropharmacology.* — 2018. — 134. — P. 167-168. — DOI: 10.1016/j.neuropharm.2018.03.038.
10. Hossmann K.A. Cerebral Ischemia: Models, Methods and Outcomes / K.A. Hossmann // *Neuropharmacology.* — 2008. — 55. — P. 257-270. — DOI: 10.1016/j.neuropharm.2007.12.004.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Rao G.S. Cerebral Casospasm: Current Understanding / G.S. Rao // *Curr Opin Anaesthesiol.* — 2016. — 29. — P. 541-551.
2. Inchina V.I. Izuchenie osobennostej vyrazhennosti nevrologicheskogo deficyta u krys s cerebral'noj patologiej travmaticheskogo genеза i sopolstvujushhej gipoksiej v ostrom periode [Study of the Characteristics of the Severity of Neurological Deficit in Rats with Cerebral Pathology of Traumatic Origin and Concomitant Hypoxia in the Acute Period] / V.I. Inchina, D.M. Korobkov, A.O. Petrunin // *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* [Modern Problems of Science and Education]. — 2020. — 3. — P. 1-9. — DOI: 10.17513/spno.29794.
3. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123) // Council of Europe. — URL: <http://conventions.coe.int/Treaty/EN/Treaties/PDF/123-Arev.pdf> (accessed: 09.09.2023).
4. Koizumi J. Experimental Studies of Ischemic Brainedema. I: a New Experimental Model of Cerebral Embolism in Rats in Which Recirculation Can Be Introduced in the Ischemic Area / J. Koizumi // *Japan Journal of Stroke.* — 1986. — 8. — P. 1-8.
5. Biopac Student Lab PRO Manual // Biopac. — 2010. — URL: https://www.biopac.com/wp-content/uploads/BSL-PRO-3_7-Manual.pdf (accessed: 09.09.2023).
6. Schubert A. Cardiovascular Therapy of Neurosurgical Patients / A. Schubert // *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* — 2007. — 21. — P. 483-493. — DOI: 10.1016/j.baaa.2007.06.003.
7. Harutyunyan G. Revisiting Ischemia After Brain Injury: Oxygen May Not Be the Only Problem / G. Harutyunyan, R. Avitsian // *J Neurosurg Anesthesiol.* — 2020. — 32. — P. 5-8. — DOI: 10.1097/ANA.0000000000000650.
8. Kawabori M. Inflammatory Responses in Brain Ischemia / M. Kawabori, M.A. Yenari // *Curr Med Chem.* — 2015. — 22. — P. 1258-1277. — DOI: 10.2174/0929867322666150209154036.
9. Ginsberg M.D. Cerebral Ischemia: Celebrating Successes, Confronting Challenges / M.D. Ginsberg // *Neuropharmacology.* — 2018. — 134. — P. 167-168. — DOI: 10.1016/j.neuropharm.2018.03.038.
10. Hossmann K.A. Cerebral Ischemia: Models, Methods and Outcomes / K.A. Hossmann // *Neuropharmacology.* — 2008. — 55. — P. 257-270. — DOI: 10.1016/j.neuropharm.2007.12.004.