

МИНАСЯН С. М.^{1,2}, ГАЛАГУДЗА М. М.^{1,2},
КОРОЛЕВ Д. В.^{1,2}, КУРАПЕЕВ Д. И.²,
ДМИТРИЕВ Ю. В.², ВАСИЛЬЕВА М. С.²,
БОБРОВА Е. А.², ВЛАСОВ Т. Д.^{1,2}

Исследование кардиопротективных свойств кардиоплегических растворов госпиталя Св. Томаса № 2 и «Кустодиол», а также изолированной гипотермии при тотальной ишемии миокарда

¹ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова,

² Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург
e-mail: carkis@yandex.ru

Реферат

Рассматриваются результаты экспериментального исследования кардиоплегических растворов «Кустодиол» госпиталя Св. Томаса № 2 в различных температурных режимах, а также кардиопротекция от тотальной ишемии-реперфузии с помощью изолированной гипотермии различной степени.

Ключевые слова: изолированное сердце, кардиоплегия, кардиопротекция.

Minasian S. M.^{1,2}, Galagudza M. M.^{1,2}, Korolev D. V.^{1,2},
Kurapeev D. I.², Dmitriev Yu. V.², Vasilieva M. S.²,
Bobrova E. A.², Vlasov T. D.^{1,2}

Cardioprotective effect of cardioplegic solutions «Custodiol» and St. Thomas' Hospital cardioplegic solution as well as the isolated hypothermia in global ischemia-reperfusion of the rat heart

¹ I. P. Pavlov Federal Medical University Medical University, St-Petersburg

² V. A. Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre, St-Petersburg
e-mail: carkis@yandex.ru

Abstract

Cardioprotective effects of cardioplegic solutions «Custodiol» and St. Thomas' Hospital cardioplegic solution were investigated in different temperature regimens in the isolated rat heart model. The data on the protective effect of deep and tepid hypothermia are also presented.

Keywords: isolated heart, cardioplegia, cardioprotection.

Введение

Развитие кардиохирургии требует совершенствования анестезиологического, реанимационного и перфузиологического пособия, без которых проведение операции на сердце, в том числе «сухом», является невозможным [1]. Исключительно важной составляющей анестезиологического и перфузиологического пособия при операциях на остановленном сердце является интраоперационная защита миокарда [3, 4]. Центральное место среди методов защиты миокарда занимает кардиоплегия (КП) [7]. КП представляет собой процедуру прерывисто-повторной перфузии сосудов сердца специальным

кардиоплегическим раствором (КПР) определенного химического состава и температуры, в результате чего происходит остановка сердца с сопутствующим уменьшением потребности миокарда в кислороде, что создает оптимальные условия для перенесения сердцем ишемии. Однако несмотря на относительный успех в решении проблемы интраоперационной защиты миокарда, определенные вопросы еще требуют дополнительного изучения. До сих пор в клинике нередко встречаются осложнения, связанные с ишемическим повреждением сердца во время операции, а именно синдром малого выброса и ин-

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

траоперационный инфаркт миокарда. Это связано как с неадекватной защитой миокарда, так и с исходным его повреждением вследствие основного заболевания [6]. В связи с этим проблема интраоперационной защиты миокарда остается актуальной и требует проведения комплексных экспериментально-клинических исследований.

В настоящей работе проведено изучение некоторых аспектов кристаллоидной КП на модели перфузии изолированного сердца крысы по Лангендорфу, являющейся общепринятым методическим подходом к исследованию кардиопротективных воздействий. Несмотря на активное успешное использование в клинике кровяной КП, интерес к кристаллоидной КП не уменьшается, что связано, прежде всего, с невозможностью использовать прогрессивную методику кровяной КП в детской и, особенно, в неонатальной кардиохирургии. Между тем именно эта группа больных зачастую требует для проведения коррекции сложных врожденных пороков сердца длительной аноксии и, как следствие, тщательной интраоперационной защиты миокарда [2]. Таким образом, дальнейшее совершенствование методик кристаллоидной КП представляет большой практический интерес.

Цель исследования

Изучить эффективность различных методик кардиоплегии и различных вариантов кардиоплегических растворов для защиты миокарда от тотальной ишемии в эксперименте на модели перфузии изолированного сердца крысы по Лангендорфу. В задачи исследования входило сравнить эффективность различных способов защиты сердца от тотальной ишемии с использованием известных кардиоплегических растворов, таких как «Кустодиол» и раствор госп. Св. Томаса № 2, а также исследовать изолированное влияние температурного фактора как способа защиты миокарда от тотальной ишемии и его влияние в сочетании с кардиоплегическими растворами.

Материал и методы исследования

Эксперименты были проведены на крысах-самцах массой 200–300 г линии Wistar на модели перфузии изолированного сердца крысы по Лангендорфу. Животных наркотизировали тиопенталомнатрия из расчета 50 мг/кг массы крысы внутривенно, после чего выполняли забор сердца. Осуществляли

широкий хирургический доступ, удаляли сердце, подключали его к модифицированному аппарату Лангендорфа и начинали ретроградную (через аорту) перфузию модифицированным буферным раствором Кребса–Хенселейта (БРКХ) под постоянным давлением 80 мм рт. ст. Состав БРКХ: Na^+ — 143 ммоль/л, K^+ — 5,9 ммоль/л, Ca^{2+} — 1,5 ммоль/л, Mg^{2+} — 1,2 ммоль/л, Cl^- — 125,1 ммоль/л, HCO_3^- — 25 ммоль/л, SO_4^{2-} — 1,2 ммоль/л, H_2PO_4^- — 1,2 ммоль/л, глюкоза — 11 ммоль/л. Насыщение БРКХ карбогеном (5 % CO_2 и 95 % O_2) производилось с целью его оксигенации и доведения pH до уровня 7,4. Напряжение кислорода при этом составляло 100–120 мм рт. ст. Температура перфузата и сердца составляла $37,0 \pm 0,1$ °C.

Во время функционирования препарата изолированного сердца регистрировали следующие параметры: систолическое, диастолическое (ДВЛЖД) и пульсовое давление (ПВЛЖД) в левом желудочке, частота сердечных сокращений, объемная скорость коронарной перфузии. В ходе глобальной ишемии регистрировали среднее давление в левом желудочке (ВЛЖД). После завершения периода реперфузии производилось гистохимическое исследование размеров необратимо поврежденной зоны миокарда с помощью окрашивания срезов сердца трифенилтетразолия хлоридом [5]. Размер некроза выражали в виде отношения площади зоны некроза к общей площади срезов сердца в %.

Статистическая достоверность различий функциональных данных в каждой временной точке, а также размеры зоны инфаркта оценивалась с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Все функциональные данные, а также размер инфаркта выражались в виде «среднее ± стандартное отклонение». Значения p менее чем 0,05 рассматривались как достоверные.

Протокол экспериментов:

1. контроль. После периода стабилизации осуществляли 60-минутную нормотермическую ($+37$ °C) тотальную ишемию путем выключения перфузии. Затем осуществляли 120-минутную реперфузию и оценку размера некроза;

2. опытные группы с КП. Протокол эксперимента аналогичен контролю, но на 1-й, 21-й и 41-й минутах 60-минутной ишемии в аорту вводили КПП кустодиол или ККПП госп. Св. Томаса № 2 под давлением 80 мм рт. ст. в течение 4-х, 2-х и 2-х минут соответственно.

Размер некроза сердца в экспериментальных группах

Таблица 1

Группа	Температурный режим, °C	Размер некроза, %
Контроль	+37	$77,9 \pm 7,0$
КПП госп. Св. Томаса № 2	+37	$49 \pm 9,8^*$
КПП госп. Св. Томаса № 2	+5	$6,7 \pm 4,7^*$
КПП госп. Св. Томаса № 2	+22	$6,4 \pm 3,1^*$
КПП кустодиол	+37	$83,9 \pm 8,6$
КПП кустодиол	+5	$7,9 \pm 2,1^*$

Примечание: * — $p < 0,01$ в сравнении с контролем и с КПП госп. св. Томаса № 2 в тепловом режиме ($+37$ °C); * — $p < 0,05$ в сравнении с контролем

Таблица 2

Показатель	T, °C	ПВЛЖД, мм рт. ст.		ДВЛЖД, мм рт. ст.	
		5 мин	30 мин	5 мин	30 мин
Контроль	+37	Асистолия	17,5±6,5	99,2±5,3	91,4±7,6
КПР госп. Св. Томаса № 2	+37	6,4±2,5	24,1±8,8	82,8±7,9	53,8±17,2
КПР госп. Св. Томаса № 2	+5	114,7±11,5**	94,1±24,6**	3,6±1,7**	3,9±3,2**
КПР госп. Св. Томаса № 2	+22	113,8±9,5**	78,9±9,0**	8,2±3,9**	9,9±4,0**
КПР Кустодиол	+37	Асистолия	Асистолия	52,0±8,1	44,0±7,0
КПР Кустодиол	+5	87,6±38,0*	55,4±8,5*	14,3±8,3*	9,2±4,0*

Примечание: * — $p < 0,05$ в сравнении с контролем; ** — $p < 0,01$ в сравнении с контролем.

Эксперименты с КПР выполняли в трех температурных режимах: 1) тепловом режиме (температура КПР и сердца в период ишемии +37 °C); 2) холодном режиме (+5 °C); 3) «тепловатом» (tepid) или промежуточном режиме (+22 °C) для КПР госп. Св. Томаса № 2, так как именно эта температурная точка представляет наибольший интерес в плане совершенствования тепловатой КП.

Согласно имеющимся стандартам, кристаллоидные КПР используются только в холодном режиме в сочетании с наружным охлаждением сердца, причем целевая температура сердца не должна превышать +11 °C. В данном исследовании во многих экспериментах температура сердца и КПР составляла 37 °C, что противоречит вышеописанному правилу. Такой температурный режим был выбран для оценки влияния именно химического состава КПР на его эффективность и исключения возможного кардиопротективного действия низкотемпературного фактора.

Во время экспериментов параметры гемодинамики изолированного сердца регистрировали в следующих временных точках: после окончания стабилизационного периода (ДВЛЖД, ПВЛЖД, ЧСС, КП), ВЛЖД на 5, 15, 25, 35, 45, 55 минутах ишемии в контроле и в группах с гипотермией без КП (в группах с КП — на 5 и 15 минутах 20-минутных периодов ишемии), ПВЛЖД и ДВЛЖД на 5 и 30 минутах реперфузии. Исходно функциональные параметры сердец во всех экспериментальных группах были одинаковыми и статистически не различались.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование кардиоплегических растворов кустодиол и госп. Св. Томаса № 2 в различных температурных режимах

Исследование КПР госп. Св. Томаса № 2 в различных температурных режимах показало его высокую эффективность в холодном режиме и крайне низкий кардиопротективный эффект в тепловом режиме (табл. 2, 3). Как указывалось ранее, тепловой режим в данных экспериментах использовался специально для того, чтобы исключить протективное действие гипотермии и оценить эффективность самого КПР. Результат по КПР госп. Св. Томаса № 2 в тепловом режиме убедительно показал, что сам по себе этот КПР

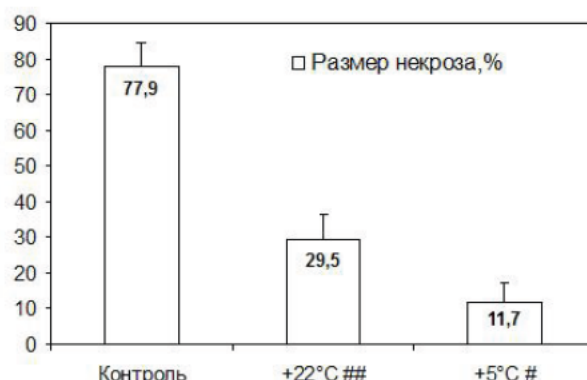


Рис. 1. Влияние изолированной гипотермии на размер некроза: ## — $p < 0,01$ в сравнении с контролем; # — $p < 0,05$ в сравнении с +22 °C

обеспечивает явно недостаточную кардиопротекцию. Интересные результаты были получены при исследовании КПР госп. Св. Томаса № 2 при температуре +22 °C: размер некроза и восстановление сократимости достоверно не отличались от значений, полученных при +5 °C. Таким образом, фармакохолодовая КП с использованием этого КПР одинаково эффективна при уровнях гипотермии +5 °C и +22 °C и, вероятно, при любой другой температуре в интервале от +5 °C до +22 °C.

При анализе результатов эффективности КПР Кустодиол обращает на себя внимание тот факт, что при его использовании в холодном режиме величина некроза достоверно не отличалась от таковой для КПР госп. св. Томаса № 2 в аналогичном режиме (табл. 1). Однако при использовании КПР кустодиол как в тепловом, так и в холодном режимах отмечалась худшая динамика восстановления сократимости сердца (табл. 4), что в целом характерно для внутриклеточных КПР и является их недостатком. Более того, при исследовании КПР кустодиол в тепловом режиме имелась недостоверная тенденция к увеличению размера некроза по сравнению с контролем (табл. 1). Таким образом, КПР кустодиол в отсутствии гипотермии вообще не оказывает кардиопротективного действия. Это может быть связано со значительными нарушениями трансмембранного градиента ионов натрия (в условиях нормотермии), что может приво-

Пульсовое и диастолическое давление в левом желудочке в период реперфузии
в экспериментах с изолированной гипотермией

Таблица 3

Группа	ПВЛЖД, мм рт. ст.		ДВЛЖД, мм рт. ст.	
	5 мин	30 мин	5 мин	30 мин
Контроль	Асистолия	17,5±6,5	99,2±5,3	91,4±7,6
ГТ +5 °С	103,1±15,0**	91,2±7,0**	9,7±4,4**	7,5±4,6**
ГТ +22 °С	105,4±12,9**	93,5±14,8**	8,2±4,6**	6,2±2,8**

Примечание: ГТ — гипотермия; ** — $p < 0,01$ в сравнении с контролем.

Динамика давления в левом желудочке в течение 60-минутной ишемии

Таблица 4

Группа	5 мин	15 мин	25 мин	35 мин	45 мин	55 мин
Контроль	5,7±4,0	19,1±11	58,8±23,3	51,6±15,4	47,5±13,3	46,6±9,4
ГТ +5 °С	5,4±2,7	4,2±3,0*	4,3±3,3**	4,4±2,1**	4,1±2,8**	4,0±2,7**
ГТ +22 °С	4,1±3,5	6,4±5,0*	8,5±6,0**	10,1±7,5*	10,5±5,2**	11,5±6,2**

Примечание: ГТ — гипотермия, * — $p < 0,05$ в сравнении с контролем; ** — $p < 0,01$ в сравнении с контролем.

дить к повреждению кардиомиоцитов и отсутствию кардиопротекции.

Влияние изолированной гипотермии на эффективность защиты миокарда

В ряде экспериментов было исследовано влияние на эффективность защиты миокарда изолированной гипотермии в двух режимах — глубокой (+5 °С) и промежуточной (+22 °С) гипотермии. В этих группах протокол эксперимента соответствовал контрольной группе, но в течение всего периода тотальной 60-минутной ишемии осуществлялось наружное охлаждение сердца.

При ишемии и изолированной гипотермии +5°С асистолия возникала немедленно после помещения сердца в охлаждающий раствор. При ишемии миокарда и изолированной гипотермии +22 °С немедленной асистолии не наступало. Поэтому сразу после ишемизации сердца в коронарные артерии в течение 10 секунд инфузироваи раствор, содержащий 25 ммоль/л KCl и 133 ммоль/л NaCl. Затем наступала тотальная ишемия. Кратковременность инфузии и химический состав раствора исключают возможность наличия кардиопротективного эффекта данной процедуры.

При глубоком наружном охлаждении сердца до температуры +5 °С наблюдалась выраженная кардиопротекция (рис. 1). Выраженность кардиопротекции при +22 °С была значительно ниже, чем при глубокой гипотермии (размер некроза при этом более чем в 2 раза превышал значение, полученное при глубокой

гипотермии, но был достоверно ниже, чем в контрольной группе). С другой стороны, восстановление сократительной функции левого желудочка в постишемическом периоде и динамика ишемической контрактуры в ходе 60-минутной глобальной ишемии при +5 °С и +22 °С не различались (табл. 4).

В литературе имеются данные о том, что при снижении температуры ниже +22 °С усиление протективного эффекта гипотермии прекращается, а повреждающее действие возрастает (Buckberg G. D., 1991). Однако проведенные эксперименты показали, что защитное действие гипотермии, проявляющееся ограничением размера некроза, усиливаются при снижении температуры сердца крысы в диапазоне от +22 °С до +5 °С.

Выводы

Кардиоплегический раствор госпиталя Св. Томаса № 2 превосходит раствор кустодиол по эффективности в отсутствие сопутствующей глубокой гипотермии.

Изолированная гипотермия, не сочетающаяся с кардиоплегией, является эффективным и безопасным методом кардиопротекции при тотальной ишемии. При воздействии изолированной гипотермии понижение температуры миокарда с 22 °С до 5 °С сопровождается прогрессивным возрастанием эффективности кардиопротекции, однако в случае сочетания гипотермии с кардиоплегией значение температуры в указанном диапазоне не влияет на степень защиты миокарда.

Литература

- Бунатян, А. А. *Руководство по кардиоанестезиологии* / А. А. Бунатян [и др.]; под ред. А. А. Бунатяна, Н. А. Трековой. — М., 2005. — 688 с.
2. Бураковский, В. И. *Сердечно-сосудистая хирургия: руководство* / В. И. Бураковский [и др.]; под ред. В. И. Бураковского и Л. А. Бокерии. — 2-е изд., доп. — М.: Медицина, 1996. — 768 с.
3. Островский, Ю. П. *Хирургия сердца* / Ю. П. Островский. — М., 2007.
4. Buckberg, G. D. *Update on Current Techniques of Myocardial Protection* / G. B. Buckberg // *Ann. Thorac. Surg.* — 1995. — Vol. 60. — № 3. — P. 805–814.
5. Fishbein, M. C. *Early phase acute myocardial infarction size quantification: validation of the tripheniltetrazolium chloride tissue enzyme staining technique* / M. C. Fishbein, S. Meerbaum, J. Rit // *Am. Heart J.* — 1981. — Vol. 101. — P. 593–600.
6. Susumu, I. *Benefits of terminal noncardioplegic warm blood retrograde perfusion after terminal warm blood cardioplegia perfusion prior to aortic unclamping in open heart surgery* / I. Susumu [et al] // *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)*. — 2006. — № 47 (6). — P. 677–682.
7. Zhidkov, I. L. *Comparative evaluation of clinical use of cardioplegic solutions custodiol and konsol in the correction of cardiac valvular diseases* / I. L. Zhidkov [et al] // *Anesteziol Reanimatol.* — 2006. — № (2). — P. 13–18.