

А.А. Мяснянкин¹, А.В. Коханов², В.В. Белопасов², Е.В. Метелкина³, Ю.А. Кривенцев²

ПУЛЬСОКСИМЕТРИЯ И МОНИТОРИНГ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ БЕЛКОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ

¹ГБУЗ АО «Александро-Мариинская областная клиническая больница», г. Астрахань

²ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России

³Министерство здравоохранения Астраханской области

Изучены в комплексе данные неинвазивной пульсоксиметрии в условиях транспортировки больных в стационар и показатели красной крови, (содержания эритроцитов, гемоглобина, фетального гемоглобина, среднего содержания гемоглобина в эритроците, гематокрита, коэффициента анизотропии) и уровня железосодержащих белков плазмы крови (лактоферрина и ферритина) в первые дни после черепно-мозговой травмы различной степени тяжести. Определена диагностическая роль полученных данных.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, железосодержащие белки, показатели красной крови

A.A. Myasnyankin, A.V. Kokhanov, V.V. Belopasov, E.V. Metyolkina, Yu.A. Kriventsev

PULSE OXYMETRY AND MONITORING OF IRON-CONTAINING PROTEINS IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH BRAIN INJURY

The data of non-invasive pulse oximetry of patients being transported to hospital, and red blood parameters (erythrocyte, hemoglobin, fetal hemoglobin levels, the average content of erythrocyte hemoglobin, hematocrit, the anisotropy coefficient) and the levels of iron-containing blood plasma proteins (lactoferrin and ferritin) in the first days after brain injury of varying severity are studied. The diagnostic role significance of the data are determined.

Key words: brain injury, iron-containing proteins, red blood parameters

В остром периоде черепно-мозговой травмы за счет кровопотери, нарушений внешнего дыхания, гемодинамических нарушений и расстройств микроциркуляции часто развиваются гипоксические состояния, усугубляющие тяжесть черепно-мозговой травмы (ЧМТ). Поэтому, оценка такого типа нарушений является актуальной проблемой нейротравматологии [1, 4, 7]. При этом следует учитывать не только степень кровопотери и анемии, но и показатели адаптации системы эритрона к гипоксии, проявляющиеся появлением ретикулоцитов, анизотропией и усиленным биосинтезом фетального гемоглобина и других белков, участвующих в транспорте железа [1, 2]. Доказано [2, 5], что при одном и том же парциальном давлении, фетальный гемоглобин (HbF) более активно поглощает кислород и с большей готовностью отдает углекислоту, чем гемоглобин взрослого (HbA).

Цель исследования: выяснение прогностического значения данных пульсоксиметрии и мониторинга железосодержащих белков у пациентов с черепно-мозговой травмой.

Материалы и методы. Исследование проведено на пострадавших с ЧМТ (63 больных с сотрясением головного мозга (СГМ) и 28 больных с ушибом головного мозга (УГМ) различной степени тяжести), доставляемых в ГКБ № 3 г. Астрахани бригадами интенсивной терапии городской станции скорой медицинской помощи. Контрольную группу составили 40 практически здоровых лиц. Определяли концентрацию следующих железосодержащих белков: HbA, HbF, лактоферрин (ЛФ) и ферритин (Фр). Содержание HbA определяли на автоматическом анализаторе параллельно с другими гематологическими показателями. Для количественного анализа HbF применяли способ ракетного иммуноэлектрофореза в агаровом геле с использованием моноспецифических антисывороток, полученных гипериммунизацией кроликов [3, 6].

Количественное определение ЛФ и Фр проводили методом иммуноферментного анализа с применением наборов фирмы «Вектор-Бест» (Новосибирск). Исследование параметров парциального давления кислорода (pO_2) в капиллярной крови проводилось в условиях транспортировки больных в стационар с помощью неинвазивного пульсоксиметра «Кардекс». Для оценки динамики pO_2 использовали следующие показатели: 1) относительный (в %) исходный уровень pO_2 , 2) время от начала оксигенации больного до начала подъема pO_2 , 3) время от начала подъема pO_2 до максимального подъема pO_2 , 4) величину максимального подъема pO_2 (в %), 5) время с момента прекращения оксигенации больного до начала падения pO_2 , 6), время снижения pO_2 до исходного уровня.

Результаты и обсуждение. У больных с ЧМТ в первую неделю после травмы отмечается нарастание анемии, что проявляется снижением числа эритроцитов, HbF, HbA, гематокрита и среднего содержания HbA в эритроцитах. Снижение числа эритроцитов обусловлено не только кровопотерей, но и повышенным их потреблением, вследствие гиперагрегации и разрушения [5]. Данная компенсаторная реакция проявляется появлением молодых клеток – ретикулоцитов, изменением среднего объема эритроцитов, депрессией синтеза γ -

цепей гемоглобина, что ведет к увеличению в эритроцитах количества HbF. Результаты проведенного исследования позволяют рассматривать отмеченные изменения со стороны эритрона как механизм долговременной адаптации организма к гипоксии. Четко прослеживается достоверная связь уровня HbF с тяжестью ЧМТ ($r=0,92$, $p<0,05$).

Максимальные уровни HbF выявлены у пострадавших с ЧМТ при циркуляторных гипоксиях на фоне сопутствующей соматической хронической патологии. Снижение относительных и абсолютных значений HbF по сравнению с контрольной группой выявлено у пострадавших с ЧМТ на фоне геморрагического шока и сопутствующей ему анемии. Динамика нарастания, плато и снижения pO_2 зависела от степени выраженности и преобладающего характера гипоксии у больных и позволили выделить группы пострадавших с ЧМТ с различными вариантами гипоксии.

Кроме того, установлено, что на графики динамики pO_2 влияет не только скорость оксигенации больного, но и характер и интенсивность медикаментозной терапии. Для больных с легкой черепно-мозговой травмой – сотрясением головного мозга (СГМ) более характерно увеличение в крови ферритина ($1,65\pm0,20$) при нормальных уровнях лактоферрина (ниже 1 мг/л) ($p<0,05$). Установлено, что в группе больных с внутримозговыми гематомами средняя концентрация ЛФ в 1,6 раз выше ($2,75\pm0,41$) по сравнению с группой больных с ЧМТ без признаков внутримозгового кровотечения ($p<0,05$).

Анализ результатов исследования содержания ЛФ свидетельствует, что при легкой черепно-мозговой травме уровень его в сыворотке крови не изменяется ($p>0,05$). Наибольшие концентрации ЛФ отмечаются у больных с тяжелой сочетанной ЧМТ (в 1-3 сутки). В группах с изолированной ЧМТ и с переломами костей уровень лактоферрина за время наблюдения постепенно нормализуется. А у больных с тяжелой сочетанной ЧМТ на 3-4 неделе снова происходит его возрастание ($1,65\pm0,20$, $p<0,01$), что может быть связано с ответной реакцией организма на факторы, отягчающие течение травматической болезни (длительное пребывание на аппаратном дыхании, трофические нарушения, ишемизация тканей, микробная кантаминация, резорбция эндотоксинов).

В отличие от всех остальных групп больных, в данной подгруппе в течение первой недели достоверно повышен уровень сывороточного ЛФ ($1,72\pm0,29$, $p<0,05$) и гиперлактоферринемия сохраняется вплоть до 14-19 суток. Обнаружена также взаимосвязь между повышенным уровнем лактоферрина и наличием у пострадавшего переломов костей черепа различных локализаций. Таким образом, можно заключить, что уровень лактоферрина в сыворотке крови больных с ЧМТ прямо пропорционален ее тяжести ($r=0,94$).

Нами показано, что повышение уровня Фр в сыворотке крови наблюдается уже у больных с легкой ЧМТ и прогрессивно увеличивается по мере нарастания ее тяжести ($r=0,88$).

Уровни ЛФ и Фр не обнаружили существенной взаимосвязи с характером гипоксии: максимальные цифры ЛФ встречаются как при обширном инфаркте миокарда, осложненном кардиогенным шоком, так и при острых пневмониях с выраженной дыхательной недостаточностью, но остаются умеренно повышенными при отеке легких. Уровни Фр незначительно повышаются в первые часы ($1,23\pm0,12$). Повышение концентрации ЛФ у пострадавших с ЧМТ ($2,33\pm0,32$) обнаруживается уже в первые часы тяжелой ЧМТ.

Выводы. Показано, что сочетание неинвазивной пульсоксиметрии с экспресс исследованием показателей красной крови и уровня железосодержащих белков плазмы крови (лактоферрина и ферритина) повышает качество диагностической и прогностической оценки в первые дни после черепно-мозговой травмы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белопасов В.В. Клинико-диагностическое значение иммунохимического анализа белкового спектра ликвора при заболеваниях нервной системы: дис. ... д-ра мед. наук. – Астрахань, 1997. – 327 с.
2. Гуревич М.И., Берштейн С.А. Механизмы регионарных сосудистых реакций при изменениях кислородного баланса / Регионарное и системное кровообращение. – Л.: Медицина, 1978. – С. 39-49.
3. Кривенцев Ю.А., Никулина Д.М., Бисалиева Р.А. Способ количественного определения фетального гемоглобина человека: пат. 2310204 Рос. Федерации. № 2006107774; заявл. 13.03.06; опубл. 10.11.2007, – 7 с.
4. Лихтерман Л.Б. Принципы современной периодизации течения черепно-мозговой травмы // Вопр. нейрохир. – 1990. – № 6. – С. 13-16.
5. Ненашев А.А., Тищенко И.М., Шилов З.А. Механическая резистентность эритроцитов и массоперенос кислорода при гипоксических состояниях различного генеза // Физиол. журнал АМ УССР. – 1985. – № 6. – С. 650-657.
6. Никулина Д.М., Кривенцев Ю.А., Бисалиева Р.А., Лапеко С.В. Новый иммунохимический тест для лабораторной оценки состояния эритрона. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – № 12. – С. 27-30.
7. Ромоданов А.П. Прогрессирующие последствия ЧМТ // Вопр. нейрохир. – 1986. – № 1. – С. 13-17.

Мяснянкин Александр Алексеевич, врач-нейрохирург, нейрохирургическое отделение ГБУЗ АО «Александромаринская областная клиническая больница», Россия, 414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 2, тел. (8512) 25-32-61

Коханов Александр Владимирович, доктор медицинских наук, доцент кафедры биохимии с курсом клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская 121, тел. (8512) 52-51-64, e-mail: kokhanov@mail.ru

Белопасов Владимир Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нервных болезней ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, Россия, 414000 г. Астрахань, ул. Бакинская, 121, тел. (8512) 52-51-64.

Метелкина Елена Владимировна, главный специалист отдела организации медицинской помощи «Министерство здравоохранения Астраханской области», Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Татищева, 16-В, тел. (8512) 54-16-03

Кривенцев Юрий Алексеевич, доктор медицинских наук, доцент кафедры биохимии с курсом клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121, тел. (8512) 52-53-21, e-mail: rabbit1630@mail.ru

УДК 577.112.083

© М.В. Рамазанов, Ю.А. Кривенцев, Е.А. Гребнева, А.И. Носков, 2011

М.В. Рамазанов¹, Ю.А. Кривенцев¹, Е.А. Гребнева², А.И. Носков¹

НОВЫЙ СПОСОБ ОЧИСТКИ ФЕРРИТИНА

¹ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России

²НУЗ «Медико-санитарная часть», г. Астрахань

Разработан простой, эффективный и экономичный способ выделения и очистки тканевого ферритина человека.

Ключевые слова: ферритин, очистка, способ.

M.V. Ramazanov, Yu.A. Kriventsev, E.A. Grebneva, A.I. Noskov

A NEW METHOD OF TREATING FERRITIN

A simple, effective and economical method for isolation and purification of human tissue ferritin was worked out.

Key words: ferritin, cleaning, fashion.

Ферритин (Ф) – высокомолекулярный водорастворимый железосодержащий белок. Наибольшее его количество находится в клетках печени, селезенки, костного мозга, где наиболее интенсивно проходят процессы синтеза, созревания и деградации гемоглобина. Ферритин активно участвует в метаболизме и перераспределении железа в организме. Вследствие различий по составу субъединиц молекулярная масса изоферритинов колеблется от 440000 дальтон у легких фракций изоферритинов селезенки до 500000 дальтон у тяжелых мышечных мультимеров [1, 2, 3, 4, 5]. Ферритин является термостабильным протеином [6]. Это его свойство практически всегда используют при выделении и очистке белка. Одной из важнейших проблем при очистке Ф является очень низкая его концентрация в экстракте после термической обработки, вынуждающая методистов прибегать к трудоемким и неэкономичным процессам концентрирования [7].

Цель исследования: разработка простого и экономичного способа выделения и очистки ферритина.

Материалы и методы. Биоматериалом для выделения и очистки Ф являлись ткани человеческой плаценты, получаемые в отделении патологической анатомии ГБУЗ АО «Александро-Мариинская областная клиническая больница» г. Астрахани согласно нотариально заверенному договору, с письменного согласия родильниц. Всего было получено 24,4 кг плацентарной ткани.

В процессе работы использовали методы механически-термической гомогенизации, тепловой обработки, центрифугирования, ионообменной хроматографии на QAE-sephadex A-50, электрофорез в полиакриламидном геле и оптические методы определения концентрации белка в растворе. Контроль концентрации Ф проводили методом ИФА. Для статистического анализа результатов исследования был использован лицензионный пакет прикладных программ статистического анализа Excel-2003 (Microsoft), Statistica 6.0 (StatSoft. Inc.).

Результаты и обсуждение. В ходе работы разработан оригинальный алгоритм выделения и очистки Ф, включающий последовательные этапы:

1. *Гомогенизация биоматериала.* Плацентарная ткань измельчалась и подвергалась механической гомогенизации с использованием в качестве абразива мелкодисперсной стеклянной крошки. Полученную кашицу замораживали при -18°C и оттаивали. Экстрагирование цитозольных белков проводили добавлением 0,85% раствора хлорида натрия в объемном соотношении ткань-раствор: 1 к 2. После центрифугирования при 8000 об/мин в течение 30 мин осадок отбрасывали.

2. *Термическая обработка.* Полученный на предыдущем этапе супернатант подвергали термической обработке при 70°C в течении 120 мин с постоянным контролем температуры. После охлаждения до 22°C раствор подвергали повторному центрифугированию при 8000 об/мин в течении 30 мин, осадок отбрасывали, а супернатант подвергали фильтрации.