

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ БЕЛКИ НЕРВНОЙ ТКАНИ В ОЦЕНКЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ МОЗГА ПРИ ОПЕРАЦИЯХ НА ДУГЕ АОРТЫ В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНЫХ ГИПОТЕРМИЧЕСКИХ ПЕРФУЗИЙ

Л.Г. Князькова, Т.А. Могутнова, С.Л. Захаров, С.Г. Сидельников, В.В. Ломиворотов

ФГУ «Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина Росмедтехнологий»
cpsc@meshalkinclinic.ru

Ключевые слова: нейронспецифические белки, длительные перфузии, лактатемия, перекисное окисление липидов, защита мозга.

Сложные реконструктивные вмешательства на дуге аорты выполняются, как правило, в условиях длительных перфузий, и к анестезиологическому обеспечению защиты мозга предъявляются максимально высокие требования. Несмотря на совершенствование методов обеспечения операций на открытом сердце, в послеоперационном периоде сохраняется высокий риск развития церебральных осложнений. Случаи с послеоперационными инсультами, по литературным данным, имеют место у 2–6% пациентов, значительно чаще встречаются признаки послеоперационного нейропсихологического дефицита [12]. В связи с этим своевременный контроль за состоянием структурных элементов нервной ткани, а также поиск чувствительных методов диагностики повреждения мозга при операциях на сердце в условиях искусственной перфузии по-прежнему остается актуальным.

Одним из патогенетических факторов повреждения нервной ткани может быть активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), метаболиты которого способны приводить к структурной модификации эндотелия мозговых капилляров и нарушению мембранной проницаемости, что позволяет белкам преодолевать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и проникать в кровь. Среди биохимических маркеров повреждения мозговой ткани используют определение сывороточного уровня нейронспецифических белков (НСБ). Поскольку большинство НСБ являются аутоантигенами, поступление их в кровоток может сопровождаться наработкой аутоантител, проникновение которых из кровеносного русла в мозг при нарушении барьерной функции ГЭБ может стать причиной развития неспецифических острофазовых реакций по типу отека или воспаления.

Представлялось целесообразным исследовать и динамику содержания в крови нейронспецифической енолазы (НСЕ) и белка S-100,

оценить влияние гипоксии и оксидативного стресса на уровень биохимических маркеров повреждения мозговой ткани при операциях на дуге аорты в условиях гипотермической перфузии и гипотермической остановки кровотока.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 16 пациентов в возрасте от 26 до 66 лет, которым выполнялись операции на дуге аорты в условиях искусственного кровообращения (ИК) (первая группа). После вводной анестезии применялась краниocereбральная гипотермия, внутривенно вводился метилпреднизолон в дозе 30 мг/кг. Охлаждение с использованием ИК продолжалось до температуры 15–17 °С в носоглотке. За 2 мин до прекращения перфузии в аппарат ИК вводился раствор 4% соды в дозе 2 мл/кг для создания резервного алкалоза и тиопентал натрия в дозе 10 мг/кг. После полной остановки кровообращения через канюлю в верхней полой вене проводилась ретроградная перфузия головного мозга со скоростью 250–300 мл/мин, центральное венозное давление составляло 12–15 мм рт. ст. Кровь из операционного поля забиралась в кардиотомный резервуар вакуумным отсосом. Краниocereбральная гипотермия прекращалась после возобновления ИК. В качестве группы сравнения обследовали 22 больных (вторая группа), которым выполнялось аортокоронарное шунтирование в гипотермическом режиме искусственного кровообращения (в среднем 31,7 °С). Продолжительность искусственной перфузии в основной группе составила $220,0 \pm 33,4$ мин, в то время как в группе сравнения – $81,1 \pm 3,6$ мин.

В крови луковичы внутренней яремной вены (ЛВЯВ) определяли уровень НСЕ, белка S-100, содержание лактата и малонового диальдегида (МДА). Сравнительная оценка проводилась на исходном этапе до начала перфузии, через 30, 120 мин после прекращения ИК и в первые

сутки после операции. Оценивалось также наличие неврологической дисфункции. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью компьютерной программы Statistica 6,0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На сегодняшний день общепризнано, что ишемия является универсальным патогенным механизмом негативного влияния перфузии. Несмотря на поддержание удовлетворительной перфузии, избежать центральной ишемии обычно не удастся. Поскольку сочетание высокого уровня метаболической активности и низкого запаса кислорода, а также небольшого резерва высокоэнергетических фосфатов и углеводов составляет основную особенность головного мозга, в механизмах повреждения такие факторы, как лактатацидоз и нарушение свободнорадикального окисления считаются церебральными, в то время как к числу важнейших экстрацеребральных факторов относят системную интоксикацию, нарушения гемореологии и эндокринного баланса [5].

Исследование динамики содержания лактата в крови, оттекающей от мозга, при операциях на дуге аорты и коронарного шунтирования выявило наиболее высокие значения этого показателя через 30 и 120 мин после окончания ИК в обеих анализируемых группах, причем в основной группе уровень лактата в крови был достоверно выше, чем в группе сравнения (табл. 1).

Повышение уровня лактата может свидетельствовать о снижении активности ферментов цикла трикарбоновых кислот и активации анаэробного пути окисления глюкозы, компенсаторные механизмы которого включают, как правило, при развитии дефицита кислорода в

клетках. Угнетение аэробного окисления в тканях головного мозга существенно изменяет интегративно-пусковую деятельность нейронов и приводит к формированию качественно нового паттерна взаимодействия отдельных мозговых структур, а в случае декомпенсации механизмов адаптации запускает цепь патологических процессов, приводящих к прогрессирующим нарушениям неврологического статуса и расстройствам когнитивных функций – развитию энцефалопатии [1, 3].

При длительном сохранении высокой концентрации лактата и других недоокисленных продуктов поддерживается высокая концентрация водородных ионов внутри клеток, что может приводить к повреждению митохондрий и соответственно затруднять восстановление биоэнергетики нервных клеток. Кроме того, на фоне накопления свободных водородных ионов и снижения содержания макроэргических соединений происходит существенное увеличение концентрации возбуждающих нейромедиаторов в межклеточном пространстве, активация образования свободных радикалов и ПОЛ, открытие ионселективных каналов, а также увеличение концентрации свободных ионов Ca^{2+} в цитозоле клеток мозга с последующей активацией кальцийзависимых протеаз, эндонуклеаз, липаз. Ранее нами было показано, что применение блокаторов кальция, прерывающих кальциевый поток в клетку, приводило к уменьшению продукции мозгом перекисных метаболитов [6].

Исследование содержания малонового диальдегида выявило достоверное увеличение через 30 и 120 мин после окончания ИК по сравнению с дооперационными значениями, свидетельствующее об активации ПОЛ в обеих анализируемых группах. Известно, что ток-

Таблица 1

Содержание лактата и МДА в крови яремной вены

Этап	Лактат, ммоль/л		Малоновый диальдегид, мкмоль/л	
	I группа	II группа	I группа	II группа
Исходный перед ИК	1,53±0,097	1,47±0,11	5,1±0,35	5,6±0,23
Через 30 мин после перфузии	6,74±0,49***	4,22±0,37***###	12,2±0,84***	8,2±0,34***###
Через 120 мин после перфузии	6,58±0,65***	4,13±0,42***##	11,4±0,70***	8,8±0,42***##
1-е сутки после операции	3,35±0,33***	1,53±0,12###	6,2±0,37*	5,86±0,34

различия достоверны: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ по сравнению с исходным этапом; ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$ между группами

сические продукты ПОЛ способны повреждать белковые молекулы в мембранах, ингибировать активность белков-ферментов в том числе и цикла Кребса и тем самым вносить вклад в нарастание лактатемии. Кроме того, нарушение трансмембранного ионного обмена при активации процессов пероксидации может сопровождаться повышением уровня внутриклеточного кальция и приводить к запуску глутамат-кальциевого каскада повреждения нервной ткани.

В первые сутки после операции мы регистрировали снижение концентрации МДА практически до нормальных значений в обеих анализируемых группах больных, также отмечалось значительное уменьшение уровня лактата в крови. К исходу первых суток в основной группе содержание лактата оставалось достоверно выше исходного, в то время как в группе сравнения не отличалось от дооперационного.

Содержание НСБ в периферической крови в обеих группах больных достоверно возрастало через 30 мин после прекращения перфузии (табл. 2), причем в основной группе с более продолжительной перфузией и гипотермической остановкой кровотока уровень НСЕ был достоверно выше в 1,7 раза через 30 мин и в 1,9 раза через 120 мин после ИК, чем в группе сравнения (табл. 2). В первые сутки после операции уровень НСЕ в обеих группах больных значительно снижался и во второй группе статистически достоверно не отличался от дооперационного, в то время как в основной группе он оставался достоверно выше исходного.

Содержание белка S-100 в периферической крови у пациентов обеих групп перед началом перфузии достоверно не отличалось (табл. 2). Через 30 мин после окончания перфузии отмечалось возрастание уровня этого белка в 9 раз по сравнению с исходным в обеих группах больных ($p < 0,001$). Причем несмотря на более продолжительную перфузию и гипотермическую

остановку кровотока в основной группе больных, степень прироста и концентрация этого белка в анализируемых группах не различались. Через 120 мин после окончания перфузии уровень белка S100 снижался, однако степень снижения в группе сравнения была более выраженной, чем в основной группе. К исходу первых суток после операции уровень белка S-100 в обеих анализируемых группах был в рамках диапазона нормальных значений.

Как показали результаты исследования, наиболее высокие значения НСБ в крови ЛВЯВ через 30 и 120 мин после окончания перфузии могут свидетельствовать о выходе этих белков в кровь в результате повышения проницаемости ГЭБ. На этом этапе одновременное увеличение концентрации лактата, МДА и НСБ может свидетельствовать о роли гипоксии и окислительного стресса в повышении проницаемости ГЭБ и поступлении НСБ в кровь.

Быстрое нарастание концентрации НСЕ отмечалось ранее при нарушениях мозгового кровообращения, гипоксии, инсультах, травмах головного мозга и других патологических состояниях, сопровождающихся структурно-функциональными изменениями мозговой ткани [2, 9, 10].

Нейрон-специфическая енолаза – цитоплазматический гликолитический фермент, присутствующий в клетках нейроэктодермального происхождения, нейронах головного мозга и периферической нервной ткани. НСЕ присутствует также в эритроцитах, поэтому более высокий уровень этого фермента в сыворотке крови больных I группы с длительными перфузиями отчасти может быть обусловлен дополнительным выходом из эритроцитов при их травме в магистральных экстракорпорального контура.

Белок S-100, обнаруживаемый в астроцитах, глиальных и швановских клетках, считается наиболее лабильным и чувствительным к изменениям кальциевого гомеостаза, одним из

Таблица 2

Содержание нейронспецифических белков в крови яремной вены

Этап	Нейронспецифическая енолаза, мкг/л		Белок S100b, мкг/л	
	I группа	II группа	I группа	II группа
Исходный перед ИК	6,70±0,92	6,84±1,03	0,12±0,035	0,11±0,046
Через 30 мин после перфузии	28,7±4,78***	16,9±2,11***#	1,17±0,27***	1,09±0,19***
Через 120 мин после перфузии	26,0±4,19***	13,8±1,00***#	0,60±0,083***	0,39±0,06***
1-е сутки после операции	15,3±1,27***	9,97±1,12##	0,26±0,066	0,19±0,057

различия достоверны: *** $p < 0,001$ по сравнению с исходным этапом; ## $p < 0,01$; # $p < 0,05$ между группами

первых реагирует на острую ишемию мозга. Его нарастание по срокам соответствует развертыванию реакций глутамат-кальциевого каскада. Особый интерес к этому белку связан также с его ростовыми и нейротрофическими свойствами, что позволяет предположить участие этого белка в процессах регенерации мозговой ткани после ишемических нарушений [2]. Оба белка S100 и нейронспецифическая енолаза появляются в периферической крови только при сочетании с повреждениями нервной ткани. Увеличение концентрации этих белков в периферической крови после кардиохирургических вмешательств обусловлено нейропсихологической дисфункцией [7, 13].

Некоторые авторы используют в качестве диагностически значимых изменений не концентрацию биохимических нейромаркеров, а степень ее увеличения. Как показали результаты наших исследований, уровень белка S100 и степень прироста его концентрации в анализируемых группах с различной продолжительностью и различным температурным режимом перфузии непосредственно после окончания операции не различались. Это может свидетельствовать об адекватной анестезиологической защите головного мозга при длительных реконструктивных вмешательствах на дуге аорты.

Одновременно с уменьшением активности анаэробного гликолиза и перекисных процессов к первым суткам после операции отмечалось снижение уровня НСБ. По-видимому, для увеличения проницаемости ГЭБ необходим комплекс патофизиологических изменений, включающих развитие гипоксии, хирургического и оксидативного стресса, регистрируемых в реперфузионном периоде.

Повышенное содержание S-100 после операции на сердце связано с влиянием искусственного кровообращения, причем пик концентрации приходится обычно на окончание экстракорпоральной циркуляции и затем уменьшается в неосложненных случаях [14]. У пациентов с нарушениями функций мозга, по данным этих авторов, выход белка продолжается и в послеоперационном периоде. Считается, что повышение содержания S-100 в крови более 0,5 мкг/л через 2 дня после хирургического вмешательства может указывать на наличие у пациента неврологических осложнений [15]. Следует подчеркнуть, что у обследованных больных такой уровень S-100 нами не регистрировался, признаки послеоперационных психоневрологических нарушений не отмечались.

Повышение уровня НСБ в периферической крови непосредственно после перфузии может быть связано с кратковременным увеличением проницаемости ГЭБ под влиянием активации процессов гликолиза и свободнорадикального окисления в мозге. В пользу этой точки зрения свидетельствуют результаты применения антиоксидантов для блокирования перекисных процессов и уменьшения повреждений мозга, возникающих при ишемии-реперфузии [16]. Кроме того, известно, что во время ИК повреждение астроглии может быть обусловлено воздействием воспалительных цитокинов, образующихся во время перфузии [8]. По некоторым экспериментальным данным, нарушение функций ГЭБ коррелирует с уровнем образования фактора некроза опухоли (ФНО) и значительно уменьшается при введении антител к этому фактору [17].

Нельзя исключить и вклад усиления свободнорадикального окисления в ингибирование синтеза вазодилаторных факторов, продуцируемых эндотелием, и в частности оксида азота, что может приводить к снижению мозгового кровотока и возникновению вазоспазма церебральных сосудов, ведущего к ограничению доступности кислорода для нейронов, а следовательно, и к усугублению биоэнергетических нарушений. Кроме того, к повышенной проницаемости нейронов и эндотелия сосудов может приводить снижение Рн внутри- и внеклеточной среды, оказывающее влияние на физико-химические свойства мембран.

Выявленное нами нарастание в крови уровня S-100 и НСЕ после операций с использованием ИК связано с кратковременным повышением проницаемости клеточных мембран мозговых барьеров. Это представляет интерес в связи с проблемами преодоления ГЭБ, поскольку большинство экзогенных соединений не способно проникать в головной мозг. Открытие ГЭБ создает условия для проникновения лекарственных средств из системного кровотока в мозг и может быть использовано для применения фармакологических препаратов центрального действия.

Одной из причин возрастания проницаемости сосудистых и клеточных мембран, по нашему мнению, может быть повышение активности свободнорадикальных процессов и накопление продуктов перекисидации липидов, которые оказывают модифицирующее влияние на структурные элементы клеточных мембран и в том числе приводят к изменениям кальциевого гомеостаза.

Быстрая нормализация уровня НСБ и отсутствие послеоперационных неврологических осложнений могут быть связаны также с защитной ролью белков теплового шока, синтез которых усиливается в ответ на многие виды стресса, в том числе и гипоксического. Обладая цитопротекторными свойствами, эти белки способны защищать липидные компоненты клеточных мембран от повреждающих эффектов, вызванных избытком кальция и детергентным действием жирных кислот [4, 11].

Таким образом, в изменение физико-химических свойств мембран и повышение проницаемости ГЭБ, следствием которого является выход нейронспецифических белков в кровь, вносит вклад развитие гипоксии, о чем свидетельствует лактатемия, а также усиление перекисного окисления липидов, на что указывает возрастание концентрации МДА после перфузии.

К исходу первых суток после операции уровень НСБ в обеих группах не превышал верхнего предела контрольных значений, что может свидетельствовать о непродолжительном повышении проницаемости ГЭБ. За это время, по-видимому, не успевают нарабатываться антитела к НСБ, а следовательно, нет и условий для их аутоагрессии.

ВЫВОДЫ

1. Операции на дуге аорты при длительных гипотермических перфузиях сопровождаются интенсификацией гликолитических и перекисных процессов, наиболее выраженной в первые 2 часа после прекращения ИК, и транзитным повышением в крови уровня специфических белков нервной ткани, свидетельствующим о кратковременном возрастании проницаемости ГЭБ.

2. Нормализация уровня НСБ в крови к исходу первых суток после операции и отсутствие достоверных различий по уровню белка S-100, несмотря на более выраженную лактатемию и активацию перекисных процессов при реконструктивных вмешательствах на дуге аорты, свидетельствует об эффективности применявшейся анестезиологической защиты мозга.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеева А.В., Гурвич А.М., Семченко В.В. *Постреанимационная энцефалопатия*. Омск, 2003.
2. Гусев Е.И., Скворцова В.И. *Ишемия головного мозга*. М.: Медицина, 2001. 325 с.

3. *Дизрегуляторная патология* /Под ред. Г.Н. Крыжановского. М., 2002.
4. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М. *Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока*. М.: Медицина, 2001.
5. Семченко В.В., Степанов С.С., Алексеева Т.В. *Постаноксическая энцефалопатия*. Омск, 1999. 448 с.
6. Шунькин А.В., Ломиворотов В.Н., Цветовская Г.А. и др. // *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2002. № 2. С. 23–27.
7. Ali M.S., Harmer M., Vaughan R. // *Br. J. Anaesth.* 2000. V. 85. P. 287–298.
8. Ashart S., Bhattacharya K., Than J., et al. // *Eur. J. Cardiovasc. Surgery*. 1999. V. 16. № 1. P. 32–37.
9. Barone F. et al. // *Brain Res.* 1993. V. 1. P. 71–82.
10. Bonhomme V., Hans P. // *J. Neurosurg. Anesthesid.* 1993. V. 2. P. 9–22.
11. Burdon R.H. *The human heat-shock proteins: their induction, possible intracellular functions* // Schlessinger M.F. (Eds) *Heat shock: From bacteria to man*. 1982. 435 p.
12. Georgiadis D. et al. // *J. Thoracic. Cardiovasc. Surgery*. 2000. V. 119, № 1. P. 138–147.
13. Jacob S.M., Ensinger H., Takala J. // *Cur. Opinion Clin. Nutr. Metabol. Care*. 2001. № 4. P. 149–155.
14. Jensen S., Sandstrom K, Andreasson S., Nilsson K. // *Pediatr. Anaesthesia*. 2001. V. 10. № 3.
15. Johnsson P. // *J. Cardiothorac. Vase Anesth.* 1996. V. 10. № 1. P. 120–126.
16. Lhen R., Wentiang D., Zhaonang R. et al. // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1994. V. 108. № 1. P. 126–133.
17. Yang C. Y., Gong C., Qin Z. et al. // *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1999. V. 69. № 1. P. 135–143.

NERVE TISSUE SPECIFIC PROTEINS IN EVALUATION OF BRAIN DAMAGED WHEN PERFORMING AORTIC ARCH SURGERY UNDER CONTINUOUS HYPOTHERMIC PERFUSION

L.G. Kniazkova, T.A. Mogutnova, S.L. Zakharov,
S.G. Sidelnikov, V.V. Lomivorotov

The research into the dynamics of neuron-specific proteins in peripheral blood of 16 patients after aortic arch surgery and in 22 patients after coronary artery bypass grafting has demonstrated that an increase in S-100b and NSE (neuron-specific enolase) levels observed immediately after surgery under extracorporeal circulation is related with a simultaneous impact of hypoxia and oxidative stress on permeability of the hematoencephalic barrier. Despite a more pronounced laktatemia and peroxidant activity when performing aortic arch surgery under continuous perfusion, normalization of the neuron-specific proteins in blood by the end of the first postoperative day, as well as the absence of significant differences in S100 protein levels in the groups gives evidence to the effectiveness of anesthetic brain protection applied.