

КОБАЛЬТ-СВЯЗЫВАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ КАК МАРКЕР ИШЕМИИ МИОКАРДА У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ АОРТОКОРОНАРНОЕ ШУНТИРОВАНИЕ

Литус Е.А., Зайцев В.Г., Островский О.В., Костерина Н.С., Лопатин Ю.М., Подворчан М.А., Дронова Е.П., Трифонова А.Н.

*ГОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет», г. Волгоград.
(400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1), post@volgmed.ru*

Аортокоронарное шунтирование (АКШ) сопряжено с риском развития таких угрожающих жизни состояний, как стенокардия и инфаркт миокарда. Мы полагаем, что ишемически модифицированный альбумин (ИМА), как маркер ишемии миокарда, позволит оценить степень сердечной ишемии в послеоперационном периоде. Повышение уровня ИМА пропорционально снижению кобальт-связывающей способности (КСС) сыворотки крови пациента. Целью нашей работы стало определение изменения КСС образцов сыворотки крови пациентов, перенесших плановое АКШ, в течение послеоперационного периода. В исследование было включено 12 пациентов. Определение КСС и уровня гемоглобина проводили перед операцией, на 3–5-й день после операции и непосредственно перед выпиской. Оба показателя после операции снижались в сравнении с их предоперационными значениями. На момент выписки уровень КСС возвращался к первоначальному. Содержание гемоглобина также нормализовалось, но было ниже дооперационного. Между показателями была обнаружена статистически значимая корреляция.

Таким образом, уровень КСС позволяет оценить степень послеоперационной миокардиальной ишемии.

Ключевые слова: кобальт-связывающая способность, аортокоронарное шунтирование, анемия, ишемия миокарда, гемоглобин.

COBALT-BINDING CAPACITY OF SERUM - MARKER OF MYOCARDIAL ISCHEMIA IN PATIENTS AFTER CORONARY ARTERY BYPASS GRAFTING

Litus E.A., Zaytsev V.G., Ostrovskij O.V., Kosterina N.S., Lopatin Yu.M., Podvorchan M.A., Dronova E.P., Trifonova A.N.

*Volgograd State Medical University, Volgograd,
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, 400131, Russian Federation, post@volgmed.ru*

Coronary artery bypass grafting (CABG) is associated with the risk of life-threatening conditions such as angina and myocardial infarction. We supposed ischemia-modified albumin (IMA) as a marker of myocardial ischemia might be used to detect cardiac ischemia during the postoperative period. IMA levels vary inversely with values of serum cobalt-binding capacity (CoBC). Our purpose was to determine changes in the CoBC level of serum samples of patients undergoing elective CABG during the postoperative period. 12 patients were enrolled in the study. Analysis of CoBC levels and hemoglobin contents were measured before CABG, at 3-5 days after CABG and at the moment of discharge. Both indexes were reduced after surgery in comparison with the preoperative value. CoBC levels returned to baseline at the time of discharge. Hemoglobin contents returned to normal too, but not to baseline. We found a significant positive correlation between CoBC and hemoglobin.

Thus, the level of CoBC may be useful to detect postoperative myocardial ischemia.

Key words: coronary artery bypass grafting, cobalt-binding capacity, myocardial ischemia, hemoglobin, anemia.

Введение. Аортокоронарное шунтирование (АКШ), как и любая операция, сопряжено с целым рядом рисков. Операция на сердце неизбежно сопряжена с его повреждением во время или после проведения операции. Поэтому мониторинг состояния пациента после проведения данной операции, безусловно, является неотъемлемой частью

реабилитационного периода. Известно большое число маркеров, свидетельствующих о существовании либо риске развития поражения миокарда [2], однако у таких пациентов важна оценка именно степени ишемии миокарда. Но золотого стандарта для выявления ишемических изменений кардиомиоцитов до их некроза в настоящий момент не существует. В США и странах ЕС разрешен единственный лабораторный тест для определения ишемически модифицированного альбумина (ИМА), позволяющего судить о степени ишемизации сердечной мышцы [3]. Этот тест основан на предположении, что сывороточный альбумин при контакте с ишемизированной тканью миокарда полностью или частично теряет способность связывать Co^{2+} [9]. Таким образом, фактически определение содержания ИМА оценивается по степени снижения кобальт-связывающей способности (КСС) сыворотки крови. Было показано, что у пациентов, перенесших ту или иную операцию на сердце, повышен уровень ИМА [4; 5; 7; 8]. Это повышение было зафиксировано в течение короткого периода после операции (максимальный период составил 48 ч, по данным [8]). Однако в этих работах не проводилась оценка уровня ИМА после операции в среднесрочной перспективе (более 1 недели). Мы полагаем, что динамика показателя, характеризующего выраженность ишемии миокарда, могла бы оказаться полезной в оценке течения послеоперационного периода.

Целью нашей работы было определение изменения КСС сыворотки крови пациентов, перенесших плановое АКШ, в течение послеоперационного периода.

Материалы и методы. В исследование были включены 12 пациентов, госпитализированных в ГУЗ «Волгоградский областной клинический кардиологический центр» для планового проведения АКШ. Всем пациентам проводилось АКШ по показаниям при наличии стеноза 50% и более хотя бы одной коронарной артерии. Забор венозной крови производился за 1–3 дня до операции, на 3-й день после операции и перед выпиской (медиана неосложненного послеоперационного периода 15,5; 95% доверительный интервал (ДИ) [14–18] дней, срок госпитализации свыше 20 дней был у 1 пациента). Из образцов крови получали сыворотку и замораживали при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до дня проведения анализа. Все биохимические анализы проводились в течение 2 ч после оттаивания образцов сыворотки. Повторное замораживание образцов не допускалось.

Исследование проведено с соблюдением всех этических норм.

В исследуемых образцах сыворотки проводилось определение КСС по разработанному нами протоколу [1]. Метод основан на способности сывороточного альбумина связывать Co^{2+} [3], при этом содержание свободных Co^{2+} можно определить по образованию окрашенного комплекса с дитиотрейтолом (ДТТ) [4]. Определение проводилось следующим образом. 60

мкл 2,5 мМ CoSO₄ смешивали с 600 мкл 0,85% хлорида натрия, затем добавляли 200 мкл сыворотки. После пятиминутной инкубации при комнатной температуре приливали 250 мкл реактива, содержащего 7 мМ ДТТ, 25 мМ HEPES/КОН, рН 7,4, и 0,85% NaCl. Строго через 2 мин измеряли оптическую плотность при длине волны 495 нм против холостой пробы, не содержащей сыворотки и раствора соли кобальта, на двухлучевом спектрофотометре Thermo Fisher Scientific Helios α. В качестве калибратора использовали растворы сульфата кобальта с различной концентрацией. КСС выражали в ммоль Co²⁺/л сыворотки. Предел обнаружения (limit of detection, LOD) и предел надежного количественного обнаружения (limit of quantification, LOQ), рассчитанные в соответствии с рекомендациями Международной конференции по гармонизации (The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH) [6], составили 0,000569 и 0,001724 ммоль Co²⁺/л. Аналитическая вариабельность, рассчитанная как коэффициент вариации, в условиях повторяемости не превышала 3%, в условиях воспроизводимости 2,3%.

В образцах крови пациентов дополнительно определяли уровень гемоглобина на автоматическом гематологическом анализаторе фирмы Sysmex kx-21n.

Все статистические расчеты проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США).

Результаты и обсуждение. Поскольку хирургическое вмешательство предполагает усиление гипоксии миокарда, мы проанализировали образцы сыворотки, взятые перед проведением операции и на 3–5-е сутки после АКШ (рис. 1). Было обнаружено статистически значимое снижение КСС на 3–5-й день после АКШ ($p < 0,009$, по критерию Вилкоксона с поправкой Бонферрони), что говорит о повышении ИМА и о наличии ишемии миокарда, которая сохраняется в указанном послеоперационном периоде.

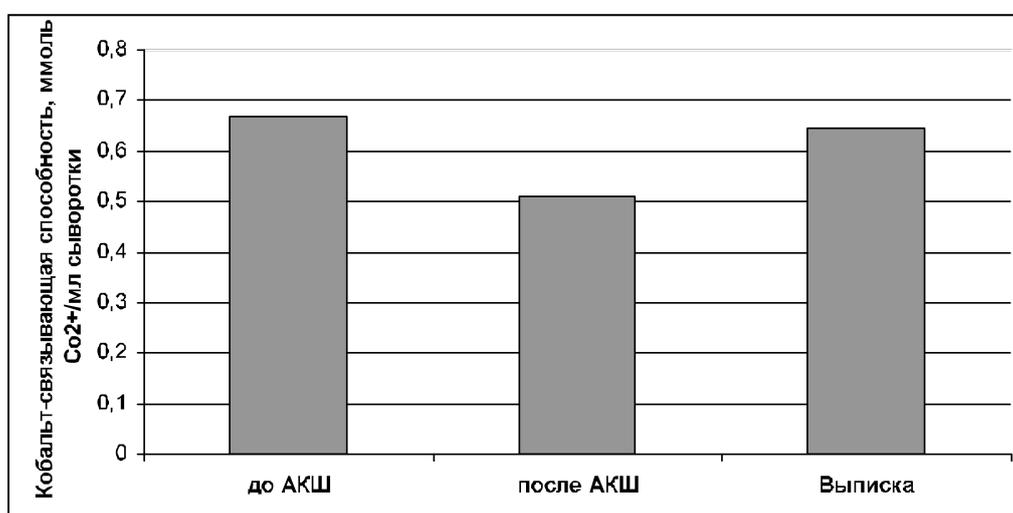


Рис. 1. Динамика изменения кобальт-связывающей способности сыворотки крови пациентов до и после аортокоронарного шунтирования (в послеоперационном периоде). Результаты представлены в виде медиан, 95% ДИ для КСС до АКШ составил 0,582–0,906; после АКШ – 0,455–0,641; выписка – 0,536–0,684 ммоль Co^{2+} /мл сыворотки.

В послеоперационном периоде произошло повышение уровня КСС сыворотки крови с 0,51 95% ДИ [0,455–0,641] ммоль Co^{2+} /л до 0,644 95% ДИ [0,536–0,684] ммоль Co^{2+} /л на момент выписки. Различия между представленными данными статически значимы ($p < 0,009$, по критерию Вилкоксона с поправкой Бонферрони). Следовательно, в течение послеоперационного периода уровень миокардиальной ишемии снижается, а снабжение миокарда кислородом нормализуется. При этом надо отметить, что величина КСС на момент выписки пациента не отличалась от исходного уровня.

Результаты определения гемоглобина крови показали, что в раннем послеоперационном периоде наблюдалось статистически значимое снижение его уровня ($p < 0,007$, по критерию Вилкоксона с поправкой Бонферрони) (рис. 2).

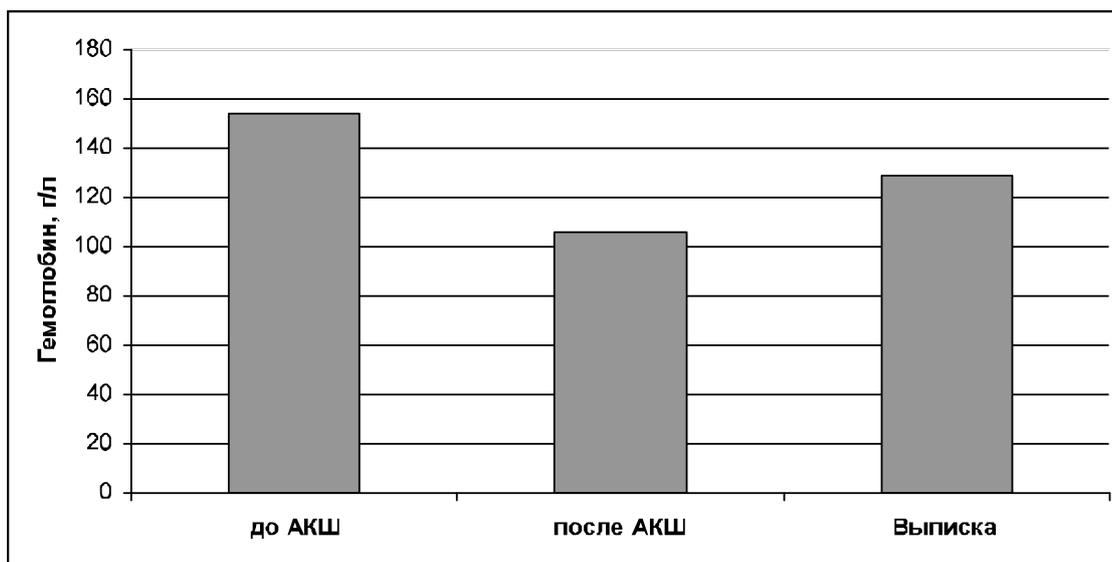


Рис. 2. Динамика изменения гемоглобина крови пациентов до и после аорто-коронарного шунтирования (в послеоперационном периоде). Результаты представлены в виде медиан, 95% ДИ для гемоглобина до АКШ составил 144–164; после АКШ – 103–114,8; выписка – 119–139 г/л.

К концу реабилитации наблюдалась неполная нормализация показателя, в отличие от КСС (наблюдались достоверные отличия от послеоперационного и базового уровня показателя – $p = 0,01$ для обоих случаев). Согласно одному из основных уравнений оксиметрии снижение

уровня гемоглобина на 50% ведет к снижению содержания кислорода крови вдвое [10]. В нашем случае статистически значимая разница в до- и послеоперационном уровнях гемоглобина составила 45,25 г/л (на 29,4%), что в свою очередь привело к снижению содержания молекулярного кислорода почти на 30% и, следовательно, к развитию гипоксемии. Уровень гипоксемии довольно значим, что говорит о весьма вероятном развитии анемической гипоксии.

Существует статистическая значимая связь между КСС и гемоглобином корреляции ($R = 0,409$, $p < 0,015$, критерий Спирмена).

Заключение. АКШ вызывает детектируемую лабораторными методами приходящую ишемию миокарда в раннем послеоперационном периоде. Однако к концу срока госпитализации лабораторный показатель содержания ИМА нормализуется. Мы считаем, что данный тест может использоваться для оценки вероятности развития ишемии миокарда и нормализации коронарного кровообращения в послеоперационном периоде. Повышение уровня ИМА прямо пропорционально связано со степенью анемии.

Список литературы

1. Литус Е.А. Разработка протокола определения кобальт-связывающей способности крови / Е.А. Литус, В.Г. Зайцев, О.В. Островский // КЛД. – 2008. – № 9 – С. 51.
2. Островский О.В. Лабораторные маркеры повреждения миокарда в современной кардиологии // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2009. – № 1. – С. 11–15.
3. Bar-Or D., Lau E., Winkler J.V. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia – a preliminary report / D. Bar-Or, E. Lau, J.V. Winkler // J. Emerg. Med. – 2000. – V. 19. – № 4. – P. 311–315.
4. DerVartanian D.V., Chenoweth M.R. Rapid and accurate colorimetric determination of nickel and cobalt in protein solutions : Patent 6020204, 1.02.2000.
5. Effects of balloon occlusion during percutaneous coronary intervention on circulating Ischemia Modified Albumin and transmyocardial lactate extraction / M.K. Sinha, J.M. Vazquez, R. Calvino, D.C. Gaze, P.O. Collinson and J.C. Kaski // Heart. – 2006. – V. 92. – № 12. – P. 1852–1853.
6. Guidance for industry Q2B validation of analytical procedures: Methodology // ICH. – 1996. URL:
<http://www.fda.gov/downloads/Regulatory%20Information/Guidances/UCM128049.pdf>
(дата обращения 26.11.11).

7. Ischemia Modified Albumin Is a Sensitive Marker of Myocardial Ischemia After Percutaneous Coronary Intervention / M.K. Sinha, D.C. Gaze, J.R. Tippins., P.O. Collinson, J.C. Kaski // *Circulation*. – 2003. – V. 107. – № 19. – 2403–2405.
8. The ischemia-modified albumin in relation to pacemaker and defibrillator implantation / E. Sbarouni, P. Georgiadou, D. Panagiotakos, E. Livanis, G.N. Theodorakis, D.T. Kremastinos // *Pacing Clin Electrophysiol*. – 2008. – V. 31. – № 1. – P. 83–87.
9. Wu A. New biochemical markers of ischemia: What markers are being investigated and how do they work? // *International workshop on ischemia*. – Barcelona, Spain, 2002 – P. 18–20.
10. Zaja J. Venous oximetry // *Signa Vitae*. – 2007. – V. 2. – № 1. – P. 6–10.

Рецензенты:

Стаценко М.Е., д.м.н., профессор, проректор по НИР, зав. кафедрой внутренних болезней ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, г. Волгоград.

Недогода С.В., д.м.н., профессор, проректор по лечебной работе, зав. кафедрой терапии и эндокринологии ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, г. Волгоград.