

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛИКВОРОСОРБЦИИ ПРИ НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКОЙ СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕРМОИМПЕДАНСОМЕТРИИ

Иванова Н.Е.¹, Шадрин Е.Б.², Васькова Н.Л.¹, Пашкевич М.Э.³, Иванов А.Ю.¹

¹«Российский научно-исследовательский институт им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург;

²ФГБУ науки Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург;

³ ФГАОУВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург, e-mail: ivamel@yandex.ru

Ликворосорбция была проведена в 13 наблюдениях с нейрохирургической сосудистой патологией головного мозга (разрыв аневризмы, субарахноидальное кровоизлияние – 5 наблюдений, ишемический инсульт – 8). В качестве основных индикаторов функционирования гематоэнцефалического барьера и степени выраженности ишемии использованы показатели уровня общего белка, концентрации глюкозы, активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аспаратаминотрансферазы (АСТ) в ликворе и проанализированы данные этих показателей до и после ликворосорбции. Исследование термоимпедансометрии ликвора произведено с помощью установки для измерения температурной зависимости электрического импеданса кюветы с исследуемой жидкостью. Установлено, что после проведения ликворосорбции значительно уменьшилась концентрация общего белка, глюкозы и ферментов, что показывает эффективность ликворосорбционного метода. Существенно изменилась форма термоимпедансометрической кривой: вместо монотонного температурного изменения электрической емкости кюветы с ликвором, возникла кривая с максимумами и минимумами, характерная для отсутствия патологии. Одновременно увеличилась температура фазового перехода глобула-клубок в белках ликвора. Метод термоимпедансометрии позволяет оценить эффективность ликворосорбции как лечебного метода.

Ключевые слова: термоимпедансометрия, ликворосорбция, температура фазового перехода, нейрохирургическая сосудистая патология, гематоэнцефалический барьер.

ESTIMATION OF EFFICIENCY OF LIQUOROSORPTION AT NEUROSURGICAL VASCULAR PATHOLOGY OF A BRAIN WITH USE OF THERMO-IMPEDANCEMETRY

Ivanova N.E.¹, Shadrin E.B.², Vaskova N.L.¹, Pashkevich M.E.³, Ivanov A.Y.¹

¹Russian A.L. Polenov Neurosurgical Institute affiliate Federal Almazov North-West Medical Research Centre, Saint-Petersburg;

²Ioffe Institute of Russia Academy of Science, head of laboratory of phase transition in solids, Saint Petersburg;

³Peter the great St.-Petersburg polytechnic university, Saint Petersburg, e-mail: marpash@yandex.ru

Liquorosorption has been carried out at 13 patients with neurosurgical vascular pathology of a brain (having dug aneurysms with subarakhnoidal haemorrhage – 5 patients and 8 – patients with ischemic insult). Concentration of glucose, LDG, nuclear heating plant and a level of the common protein have been used as the basic indicators of quality of functioning of an hematoecefallic barrier and degrees of expressiveness of an ischemia. After that the comparison of numerical values of these parameters before and after liquorosorption has been carried out. Investigation of the liquor thermo-impedancemetry is performed with the help of special devices for measurement of temperature dependence of an electric impedance container with a cerebrospinal liquid. It is established, that after performance of liquorosorption the concentration of the common protein, glucose and enzymes has been considerably decreased that shows the efficiency of the liquorosorption method. The form of thermo-impedancemetry curve has deeply changed: instead of a monotonous temperature change of capacity container a curve with maxima and minima has arisen, that is typical for decreasing of pathology. The temperature of globule-ball phase transition in liquor albumins has simultaneously increased, that also shows reduction of pathology. The thermo-impedancemetry method allows to estimate efficiency of liquorosorption as a method of treatment.

Keywords: protein, phase transition, thermo-impedancemetry, neurosurgical diseases, CSF.

Изменение белкового состава ликвора при ишемическом и геморрагическом инсульте

зависит от степени тяжести процесса, его локализации, близости очага к ликворным путям, выраженности субарахноидального кровоизлияния. При этом обычно наблюдается увеличение концентрации белка, которое обусловлено некрозом мозговой ткани, и повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера [1,5,6,7,8].

Ликворосорбция – методика экстракорпоральной санации ликвора с применением активных сорбентов, приводящая к снижению концентраций иммуноглобулинов и ферментов в ликворе, в дальнейшем – активации функциональных резервов нейронов, не подвергшихся необратимым изменениям в зоне сниженной перфузии мозгового вещества при ишемии головного мозга [2,3,4].

Цель работы: оценка эффективности ликворосорбции при нейрохирургической сосудистой патологии головного мозга с использованием термоимпедансометрии.

Материалы: ликворосорбция была проведена в 13 наблюдениях с нейрохирургической сосудистой патологией головного мозга (разрыв аневризмы сосудов головного мозга, субарахноидальное кровоизлияние – 5 наблюдений, ишемический инсульт, стеноз внутренней сонной артерии – 8). Средний возраст пациентов, у которых производилась термоимпедансометрия ликвора, составил $43,9 \pm 16,1$ лет. Все больные были оперированы: произведено микрохирургическое клипирование аневризм развилки средней мозговой артерии и супраклиноидного отдела внутренней сонной артерии; в наблюдениях с ишемическим инсультом произведена каротидная эндартериэктомия и наложен экстраинтракраниальный анастомоз. В послеоперационном периоде в связи с тяжестью состояния больных и высоким содержанием белка в ликворе принималось решение о ликворосорбции.

Методы: диагностический нейрохирургический комплекс (у всех пациентов проводился неврологический осмотр, балльная оценка степени тяжести состояния по шкале ком Глазго, по шкале инсультов NIHSS, по шкале Рэнкин, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, ангиография, электроэнцефалография, УЗИ сосудов мозга).

До и после проведения ликворосорбции контролировались количество общего белка, концентрация глюкозы, активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) в ликворе как основных индикаторов функции гематоэнцефалического барьера и выраженности ишемии.

Для получения ликвора использовали проводимую в диагностических и лечебных целях люмбальную пункцию. Полученный ликвор отправляли на общее ликворологическое исследование (определение общего белка, цитоза, количество эритроцитов).

Специальным методом исследования в нашей работе являлась термоимпедансометрия ликвора, биофизической основой которой служило измерение

полного электрического импеданса образца ликвора, которое осуществлялось в примененной для этого установке фазометрическим методом. Изменения температурного импеданса ликвора связано с поляризуемостью белковых молекул, входящих в состав ликвора, при совершении термического фазового перехода глобула-клубок. С помощью данной методики мы впервые смогли провести исследование ликвора биофизическим способом, сопоставляя при анализе результатов неврологический статус и биохимический состав ликвора

Исследование термоимпедансометрии проводилось на специализированной установке, предназначенной для определения электрических параметров жидкости (патент РФ № 220539, 2003 г.). Объем ликвора, помещенного в кювету, составлял 1,2 мл [3].

На регистрирующем устройстве фиксировался ход температурной зависимости разности фаз рабочего и опорного напряжений в виде термоимпедансометрической кривой. На следующем этапе осуществлялось разложение термоимпедансометрической кривой на гауссианы. В дальнейшем выполнялся статистический корреляционный анализ между параметрами кривой и общим белком, цитозом, концентрацией эритроцитов и значениями оценки состояния пациента по шкалам оценки тяжести состояния.

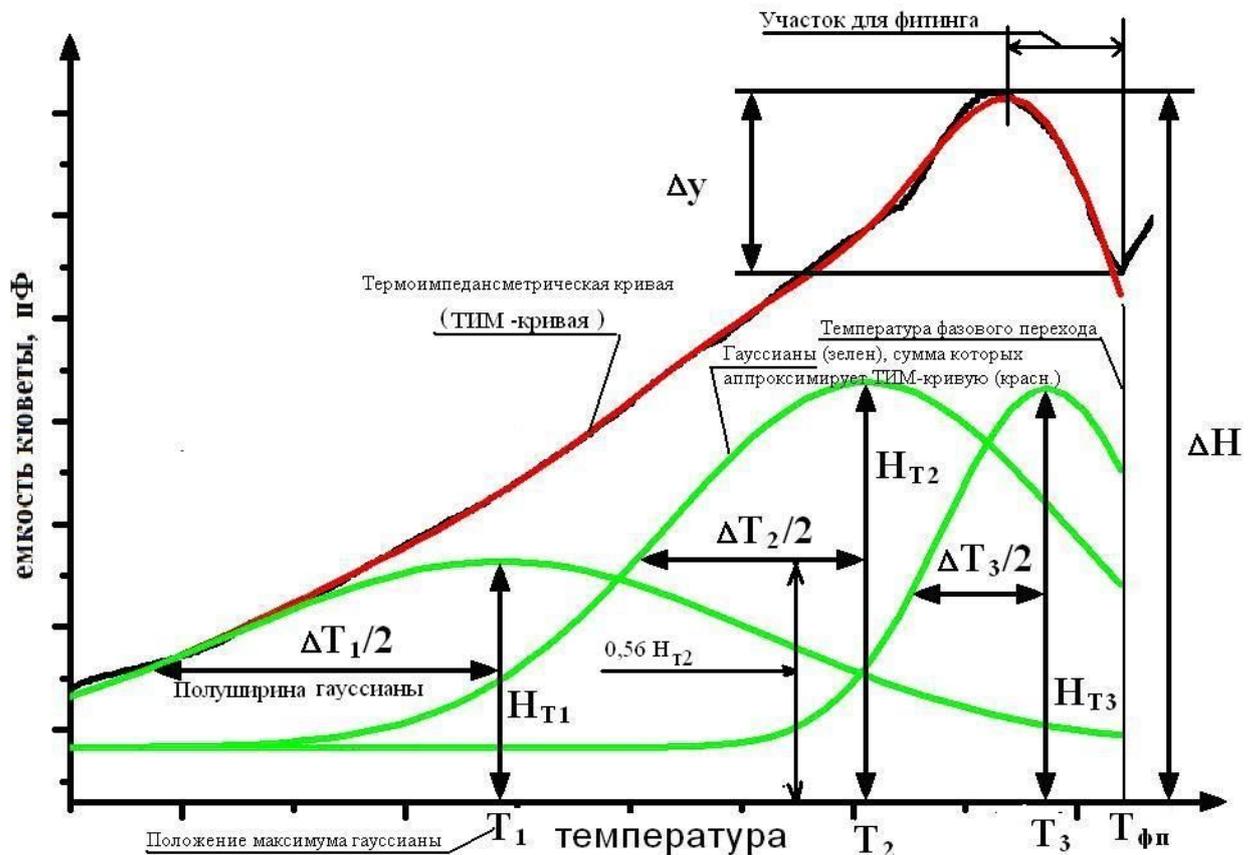


Рис. 1. Графическое представление основных параметров экспериментальных термоимпедансометрических кривых

Результаты. После проведения ликворосорбции заметно снижались показатели общего белка в 2,2 раза, глюкозы – в 3,89 раз, ЛДГ – в 3,05, АСТ – в 4,8 раз, что показывает эффективность проведенного метода, приводящего к снижению белкового, углеводного и ферментного состава ликвора. Неизменность концентрации альбумина в результате проведения ликворосорбции указывает на то, что вариации белкового состава ликвора обусловлены снижением концентрации в ликворе высокомолекулярной глобулиновой фракции. Вслед за этим был проведен сравнительный анализ параметров кривой и показателей термоимпедансометрии.

После проведения ликворосорбции основные показатели термоимпедансометрии увеличивались, но уменьшалась высота кривой. Кривая смещалась в сторону высоких температур, то есть показатели кривой с меньшими температурными значениями изменялись на более высокие. В частности, выросла температура фазового перехода. Эти изменения связаны с уменьшением в ликворе концентрации белка и, тем самым, изменением органического состава ликвора, а также с тем, что белковая молекула после ликворосорбции становится более устойчивой. Это приводит к тому, что при нагреве в процессе термоимпедансометрии больше тепловой энергии тратится на разрыв молекулярных связей, и соответствующие конформационные изменения происходят при более высоких температурах позже, чем до ликворосорбции (рисунок 2). Все это приводит к сдвигу кривой в высокотемпературную сторону.

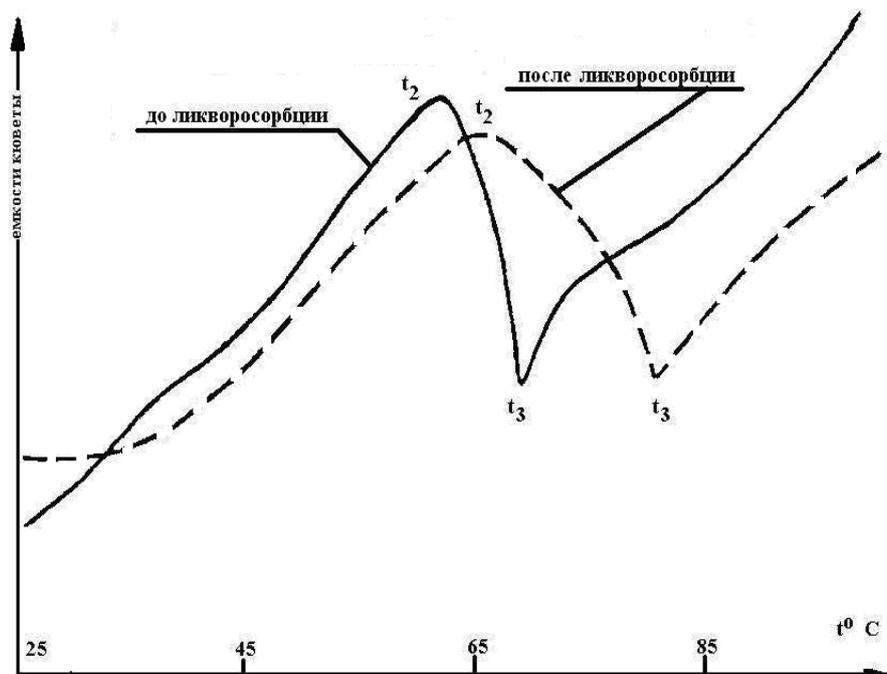


Рис. 2. Типичные кривые термоимпедансометрии до и после ликворосорбции. t_2 , t_3 – температуры фазового перехода

При обработке статистических данных были получены следующие коэффициенты корреляции между показателями параметров кривой термоимпедансометрии, общим белком, глюкозой, ЛДГ, АСТ до и после ликворосорбции (таблицы 1,2).

Таблица 1

Коэффициенты корреляции до ликворосорбции между общим белком, глюкозой, ЛДГ, АСТ и показателями параметров кривой термоимпедансометрии (n=13)

Показатели	t_2	Δt_2	t_3	Δt_3	ht_2 / ht_3	S	$t_2 / \Delta t_2$	$t_3 / \Delta t_3$	$t_3 - t_2$	Тфп	ΔH Размах	Выраженность $\Delta y / \Delta n$	Разрешение $\frac{\Delta t_2 + \Delta t_3}{t_3 - t_2}$
Общий белок	-0,2	+0,3	0,08	-0,53	0,64	0,53	-0,29	-0,07	0,06	-0,36	0,19	-0,24	0,41
Глюкоза	-0,47	-0,50	0,09	0,05	-0,41	-0,7	0,03	0,30	0,34	-0,40	-0,47	-0,40	-0,70
ЛДГ	-0,23	-0,19	0,07	0,15	0,07	0,04	0,24	0,25	0,24	0,30	0,03	0,41	-0,14
АСТ	-0,05	-0,01	0,06	-0,02	0,20	0,29	0,23	0,30	0,01	0,40	0,05	0,67	0,24

Примечания

1. Разложение термоимпедансометрической кривой на гауссианы выполнялось в программе «ORIGIN 8.0».
2. Показатель S представляет собой площадь под главной гауссианой. В нашем случае – это гауссиана, вершина которой расположена при температуре T_2 . Обозначение T_2 совпадает с обозначением t_2 ($T_2 = t_2$). Площадь под гауссовой кривой (сокращенно «гауссианой») программой «ORIGIN 8.0» вычисляется по правилу трех сигм. Это правило состоит в следующем:
 - На уровне, равном 0,56 от максимальной высоты гауссианы, проводится горизонтальная линия до пересечения с самой гауссианой.
 - Измеряется температурный интервал между полученными точками пересечения и делится пополам. Полученное таким образом значение называется полушириной гауссовой кривой. Это и есть сигма, то есть $\sigma = \sigma T_2 / 2$.
 - От центральной вертикальной линии, которая проведена в максимум гауссианы, влево и вправо от нее откладывается по шкале температур три полуширины, то есть три сигмы.
 - Программой «ORIGIN 8.0» вычисляется площадь криволинейной трапеции, боковыми сторонами которой являются вертикальные линии, проведенные на температурах $T_2 - 3\sigma$ и $T_2 + 3\sigma$, основанием является ось абсцисс, а верхней линией является участок

гауссианы между вертикальными линиями. Эта площадь равна показателю S .

3. Параметры Δt_2 и Δt_3 представляют собой ширины соответствующих гауссиан.

4. Температура $T_{фп}$ фазового перехода глобула – клубок определяется следующим образом: методом фитинга программа «ORIGIN 8.0» аппроксимирует спадающий участок гауссианы функцией $F(T) = (T_{фп} - T)^{-\alpha}$, где α – критический индекс фазового перехода, а $T_{фп}$ – температура фазового перехода. Число итераций при фитинге определяется относительной ошибкой фитинга из соображений, согласно которым она не должна превышать 0,01 %. Полученное значение $T_{фп}$ используется в дальнейшем при вычислении коэффициентов корреляции.

Данные таблицы (1) показывают, что до ликворсорбции были получены высокие коэффициенты корреляции между параметрами кривой, выделенными в таблице, и общим белком, глюкозой, ферментами. Наибольшие значения коэффициентов корреляции соответствуют корреляциям между показателями разрешения кривой и глюкозой ($r=-0,70$), а также между АСТ и выраженностью на кривой области фазового перехода глобула-клубок ($r=+67$).

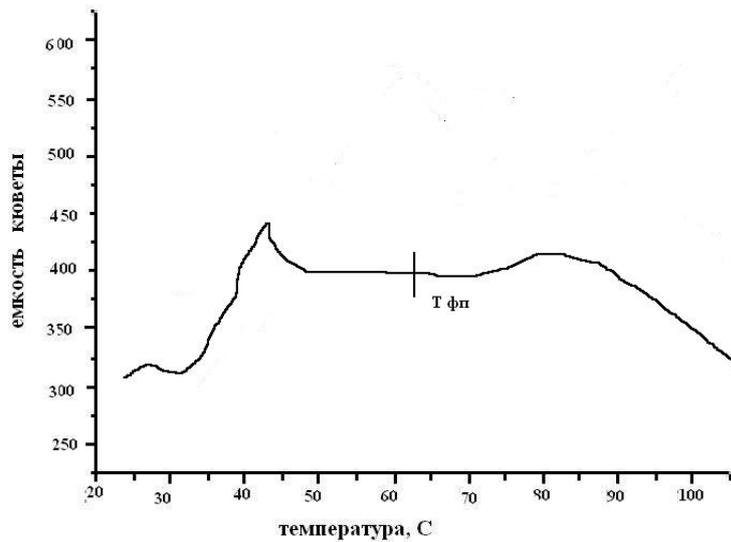
Таблица 2

Коэффициенты корреляции после ликворсорбции между общим белком, глюкозой, ЛДГ, АСТ и показателями параметров кривой термоимпедансометрии ($n=13$)

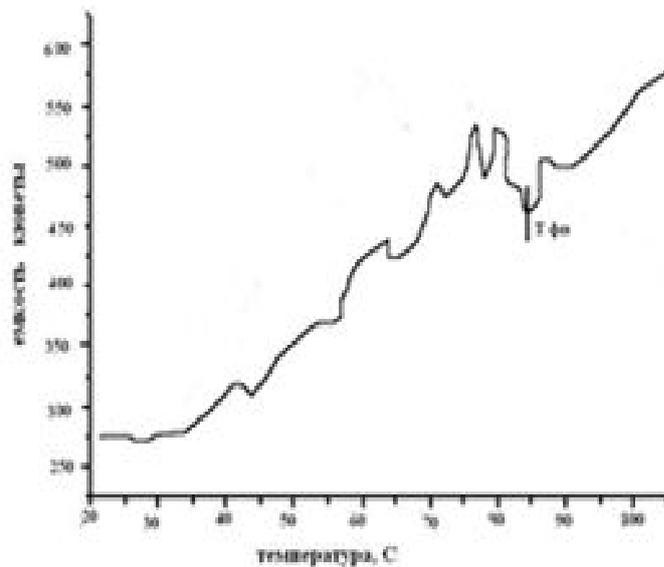
Показатели	t_2	Δt_2	t_3	Δt_3	ht_2 / ht_3	S	t_2 / Δt_2	t_3 / Δt_3	t_3-t_2	$T_{фп}$	ΔH Раз- мах	Выра- женос- ть $\Delta y/\Delta H$	Разре- шение $\frac{\Delta t_2+\Delta t_3}{t_3-t_2}$
Общий белок	0,12	0,39	0,16	0,004	0,04	0,24	0,50	-0,02	0,03	0,36	0,32	-0,02	-0,27
Глюкоза	-0,35	-0,02	0,01	0,11	-0,34	-0,2	-0,17	-0,28	0,24	-0,02	0,02	-0,06	-0,62
ЛДГ	0,04	-0,19	0,31	-0,04	0,06	0,45	-0,52	0,18	0,19	0,22	-0,22	-0,20	-0,19
АСТ	0,12	-0,003	0,33	0,45	0,60	-0,53	0,29	0,62	-0,26	0,24	0,24	0,13	0,57

После ликворсорбции коэффициенты корреляции ниже, чем до ликворсорбции, но по-прежнему сохраняются высокие коэффициенты корреляции между разрешением кривой и глюкозой (-0,62), разрешением кривой и АСТ (+0,57).

После проведенной ликворосорбции у всех пациентов отмечалась положительная динамика в виде улучшения оценки по шкале инсультов NIHSS и Рэнкин, уменьшения двигательных и чувствительных нарушений, улучшения речи и координации. Все пациенты в компенсированном состоянии были выписаны по месту жительства (Рис. 3 А,Б).



А



Б

Рис. 3. Кривая термоимпедансометрии до (А) и после (Б) ликворосорбции

Пациент Р., 52 лет, и/б № 1300-03, диагноз: атеросклероз сосудов головного мозга.

Гипертоническая болезнь 3 степени. Последствия повторных ОНМК по ишемическому типу

в бассейне правой средней мозговой артерии от 05.2000, в ВББ от 05.2002. Операции каротидная эндартериозэктомия справа, наложение экстраинтракраниального анастомоза справа.

Резюмируя, следует сказать, что после проведения ликворосорбции в ликворе резко уменьшается концентрация общего белка, глюкозы, ферментов, что доказывает эффективность данного метода терапии. Изменяется общий вид кривой термоимпедансометрии, а также увеличивается температура фазового перехода глобула-клубок с 62 °С до 84 °С.

Заключение

Нормальное функционирование ЦНС и её защита от влияния патологических факторов обеспечивается рядом собственных защитных механизмов. Наиболее полную информацию могут дать только методы прижизненного исследования динамического состояния на различных стадиях патологического процесса для диагностики, прогнозирования и оценки адекватности проводимой терапии. Изучение свойств белков ликвора позволяет уточнить характер патологического процесса. Основную роль в изменении биофизических параметров ликвора при многих заболеваниях играет трансформация конформационного состояния белков, входящих в состав ликвора. А именно, при повышении температуры происходит последовательное разрушение надмолекулярных структур белковых молекул, завершающееся их денатурацией и переходом из глобулярной конформации в клубковую.

После проведения ликворосорбции с уменьшением показателей количества общего белка, «высокомолекулярной глобулярной фракции», глюкозы, а также ферментного состава ликвора происходит трансформация кривой и изменение численных значений показателей термоимпедансометрии в виде увеличения температуры фазового перехода «глобула-клубок», роста общих параметров кривой и смещения её как целого в высокотемпературную область. Наблюдаемые изменения связаны с вызванным ликворосорбцией повышением термической устойчивости белковых молекул ликвора и обусловлены ростом удельной энергии молекулярных химических связей. Таким образом, метод термоимпедансометрии позволяет контролировать эффективность ликворосорбции при нейрохирургической сосудистой патологии (внутричерепных аневризматических кровоизлияниях и ишемическом инсульте).

Список литературы

1. Березин А.Е. Нейроспецифические белки у пациентов с мозговым инсультом / А.Е.

Березин // Укр. неврол. журн. – 2012. – № 2. – С. 22—27.

2. Петров С.И. Применение методов сорбции и фильтрации ликвора в комплексном лечении субарахноидальных кровоизлияний различной этиологии: дис. ... канд. мед. наук / С.И. Петров. – Иркутск, 2004. – 128 с.

3. Рачков Б.М. Ликворотрансфузия и ликворосорбция / Б.М. Рачков, Р.М. Левит. – СПб., 1997. – 87 с.

4. Шпрах В.В. Ликворосорбция в комплексной терапии тяжелых форм первичных гнойных менингитов / В.В. Шпрах, С.М. Горбачев, В.И. Горбачев // Неврол. журн. – 1997. – № 3. – С.17–19.

5. Hardemark H.G. S-100 protein in cerebrospinal fluid after aneurysmal subarachnoid haemorrhage: relation to functional outcome, late CT and SPECT changes, and signs of higher cortical dysfunction. / H.G.Hardemark, O.Almqvist, T.Johansson, S.Pahlman, L.Persson // Acta Neurochir. – 1989. – Vol. 99, № 3. – P.134–144.

6. Kikuchi T. Cytokine production in cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage / T. Kikuchi, Y. Okuda, N. Kaito, et al. // Neurol. Res. – 1995. – Vol.17, № 2. – P.108–116.

7. McMahon C.J. Inflammation as a predictor for delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid haemorrhage / C.J. McMahon, S. Hopkins, A. Vail, et al.// J Neurointerv. Surg. – 2013. – Vol.5, № 6. – P. 512–517.

8. Triglia T. Early matrix metalloproteinase-9 concentration in the first 48th after aneurysmal subarachnoid haemorrhage predicts delayed cerebral ischaemia: An observational study / T. Triglia, A. Mezzapesa, J.C. Martin, M. Verdier, et al. // Eur. J. Anaesthesiol. – 2016. – Vol. 33, № 9. – P.662-669.