

## Фундаментальні дослідження

УДК 616.831.94-005.1:616.133.33:616.8-009.12:616.832.9-008.8:546.172.6

### Роль нитроксида цереброспинальной жидкости при субарахноидальном кровоизлиянии и вазоспазме

Зозуля Ю.А., Сенько Л.Н., Цимейко О.А., Мороз В.В.

Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова АМН Украины, г.Киев, Украина

С помощью анализа динамических уровней стабильных метаболитов оксида азота (Nk) — нитритов, которые измеряли с помощью реактива Грисса в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) 45 больных с субарахноидальными кровоизлияниями (САК) в сравнении с таковыми у пациентов, которые имели неразорвавшиеся артериальные аневризмы, было определено значение Nk в патогенезе церебрального вазоспазма после САК. Уровни нитритов в ЦСЖ пациентов до хирургического вмешательства и в ЦСЖ, которую получали ежедневно на протяжении 2 нед после операции с помощью дренажа базальных цистерн мозга, со временем значительно увеличивались и были более высокими (в 5–7 раз) по сравнению с контролем, однако у больных со стойким вазоспазмом уровни нитритов на протяжении 4–9 сут неуклонно понижались. Уменьшение содержания нитритов в ЦСЖ может быть индикатором вазоспазма, который в дальнейшем приводит к стойким ишемическим повреждениям мозга вследствие САК.

Ключевые слова: оксид азота, нитриты, субарахноидальное кровоизлияние, церебральный вазоспазм, цереброспинальная жидкость, отсроченная церебральная ишемия.

Вступление. Сосудистый спазм и ишемия мозга — наиболее частые и тяжелые формы осложнений после разрыва артериальных аневризм (АА) головного мозга. Стойкий церебральный вазоспазм усложняет течение заболевания и может приводить к необратимым изменениям мозга. Патогенез постгеморрагического церебрального вазоспазма (ПЦВ) многофакторный и, несмотря на проведенные в последнее десятилетие экспериментальные и клинические исследования этого феномена, во многом еще недостаточно выяснен, о чем свидетельствует незначительная эффективность применяемой терапии. Современные представления о регуляции цереброваскулярного тонуса и мозгового кровообращения позволяют предполагать, что формирование ПЦВ определяется как генерализованными факторами, так и местными нарушениями функции эндотелия сосудов за счет дисбаланса релаксирующих и сократительных вазоактивных факторов в стенках спазмированных артерий. Эндотелиальная дисфункция и нарушение эндотелийзависимой релаксации в настоящее время рассматриваются как важнейшая часть многофакторного ПЦВ аневризмального субарахноидального кровоизлияния (САК) [1, 3, 12, 29, 36].

Эндотелиальный фактор релаксации — endothelium-derived relaxing factor (EKRF),

идентифицированный как оксид азота (Nk) [20], является одним из важных регуляторов базального тонуса мозговых сосудов, определяет их реактивность в ответ на различные стимулы, регулирует кровяное давление и участвует в ауторегуляции церебрального кровообращения [21]. Прогрессирующее сужение главных артерий круга Виллизия (Willis) часто приводит к стойкому ухудшению церебральной микроциркуляции. Если вначале оптимизация церебральной перфузии может осуществляться ауторегуляторными механизмами компенсаторной вазорелаксации резистентных артерий, то при нарушении такой ауторегуляции мозг больных становится более уязвимым к ишемическим повреждениям. В экспериментальных работах показано, что различные повреждающие факторы, в том числе ишемия, вызывают усиление синтеза нитроксида, приводящее к изменению регионального кровотока и внутричерепного давления [6, 19, 22]. Биологические свойства и многообразие роли Nk в физиологических функциях и патофизиологических процессах предполагают его участие в различных звеньях патогенеза САК, в том числе тех, которые лежат в основе сосудистых нарушений, связанных с эндотелиальной дисфункцией и вазорелаксацией [3, 7, 12, 16, 29, 36].

Предполагается, что формирование ПЦВ

связано со значительным снижением активности эндотелиальной изоформы фермента Nk-синтазы (eNkS), катализирующей образование Nk из L-аргинина, и утратой ее способности поддерживать базальный тонус мозговых артерий вследствие недостаточной продукции производимого эндотелием Nk, который является основным антагонистом многих сократительных факторов [17, 30]. В то же время в последние годы появились клинические сообщения о повышении концентрации окисленных метаболитов Nk — нитритов (Nk<sub>2</sub>-) и нитратов (Nk<sub>3</sub>-) после САК как в периферической крови [2], так и в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) после САК [32, 34], что может свидетельствовать об активировании метаболизма Nk. Однако роль нитроксида в патофизиологии вазоспазма больных после САК еще четко не определена.

Целью данной работы является исследование функциональной активности нитроксида в ЦСЖ по продукту его ближайшего метаболита — нитрита у больных после аневризматического САК для выяснения роли этого фактора в развитии ПЦВ и связанных с ним последующих ишемических осложнений.

Материалы и методы исследования. Определение исходного уровня стабильного метаболита Nk-нитрита в ЦСЖ больных перед оперативным вмешательством по поводу разрыва внутричерепных аневризм различной локализации проведено у 45 пациентов, находившихся на лечении в клинике сосудистой нейрохирургии Института нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова АМН Украины за период с октября 2001 г. по октябрь 2002 г. Исследовали люмбальный ликвор, взятый у больных непосредственно перед операцией. Время после возникновения кровоизлияния у 40 пациентов колебалось от 3 до 30 дней. Остальные 5 больных находились в «холодном» периоде после САК. Возраст больных — от 22 до 55 лет (средний возраст 37 лет), мужчин было 28, женщин — 17. У 14 больных имелись повторные геморрагии вследствие разрывов АА. Наряду с неосложненными субарахноидальными кровоизлияниями наблюдали субарахноидально-паренхиматозные или субарахноидально-паренхиматозно-вентрикулярные кровоизлияния (55% наблюдений).

Полученные данные об уровнях нитритов группировали в зависимости от времени, прошедшего после первого разрыва АА — 1, 2, 3, 4-я неделя и в отдаленный период. После повторных разрывов АА данные рассматривали в то же самое время, при этом учитывали время после последнего разрыва АА, сопровождавшегося кровоизлиянием.

Диагноз внутричерепной АА у всех пациентов устанавливали на основании проведенной церебральной ангиографии. Диагностику САК и ишемии мозга осуществляли путем люмбальной пункции и компьютерной томографии (КТ). Локализацию, степень выраженности и распространенность вазоспазма оценивали по данным селективной церебральной ангиографии и транскраниальной ультразвуковой доплерографии (ТКУЗДГ). У ряда больных для определения динамики спазма и развития ишемических осложнений в послеоперационный период проводили ТКУЗДГ и КТ-исследования в динамике. Тяжесть состояния больных оценивали по шкале Ханта и Хесса [18] и при наличии первичных КТ-исследований — по шкале Фишера [13]. Группу сравнения составили трое больных с неразорвавшимися аневризмами.

У 8 пациентов с АА на протяжении 7–16 дней проводили послеоперационный ежедневный мониторинг содержания нитритов в ликворе, получаемом из цистернального дренажа. Дренажную трубку помещали в хиазмальную или межножковую цистерну по окончании основных этапов операции и герметично соединяли со стерильным флаконом. Определение нитритов в ликворе проводили по методу L.Green [2, 15] с модификациями. Для осаждения форменных элементов крови ликвор немедленно после забора центрифугировали (20 мин 6000 об/мин) с последующей депротеинизацией образцов с помощью сульфата цинка. Определение нитритов в полученных образцах ликвора осуществляли трижды с использованием свежеприготовленного реактива Грисса. Сущность метода состоит в проведении реакции, основанной на способности нитритов диазотировать сульфаниловую кислоту и образовании красно-фиолетового красителя диазосоединения с 1-нафтиламином. Интенсивность окраски, измеряемая на спектрофотометре (СФ-46, ЛОМО) при длине волны 540 нм, пропорциональна содержанию нитритов, которое рассчитывали по уравнению регрессии или градуировочному графику. Параллельно с исследованием ликвора каждый раз проводили измерение в холостой пробе и контрольной пробе с известной концентрацией нитритов.

Статистическую обработку осуществляли с помощью пакета программ Microsoft Excel, она включала расчет средних величин и двухвыборочной Student's тест для определения достоверности отличий данных о концентрации нитритов при различных вариантах течения САК во времени (1–4-я неделя заболевания).

Результаты. Установлено, что содержание нитритов в ЦСЖ больных в острый период САК после разрыва АА значительно выше, чем у больных группы сравнения. Определены значительные различия в уровне нитритов в ЦСЖ в зависимости от сроков заболевания и особенностей его клинического течения (рис.1).

В ранний (от 3 до 7 дней) период САК обследовали 16 пациентов со следующей локализацией разорвавшихся аневризм: средняя мозговая артерия (СМА) — 9 человек, передняя соединительная артерия — передняя мозговая артерия (ПСА — ПМА) — 6 человек, внутренняя сонная артерия (ВСА) — 1 человек. Тяжесть состояния по шкале Ханта и Хесса соответствовала от II до V степени (II — 1; III — 7; IV — 7, V — 1 человек) и по шкале Фишера — от I до III степени (I — 1; II — 6; III — 9 пациентов). По результатам КТ у 10 больных, кроме крови в базальных цистернах, определяли внутримозговые и одну субдуральную гематомы и у 3 — кровоизлияние в желудочки мозга. У 13 пациентов верифицировали ангиоспазм различной степени выраженности. Ангиоспазм обычно охватывал сегменты артерий, несущих разорвавшуюся аневризму, но у одного пациента после разрыва АА ПСА — ПМА ангиоспазм развился в  $M_2$  сегменте СМА, а у другого — после разрыва АА в ПМА — ПСА ангиоспазм развился в  $M_1$ – $M_2$  сегментах СМА, на которой ранее было проведено эндо-

вазкулярное вмешательство по поводу артерио-венозной мальформации (АВМ). У 3 больных со сформировавшимися гематомами ангиоспазм до операции не выявлен. Больные с ангиоспазмом имели различной степени неврологические дефекты, а у одной пациентки локальный ангиоспазм в участках  $M_1$ – $M_2$  не сопровождался очаговой неврологической симптоматикой.

В начальный период (3–7-й день) САК у пациентов без вазоспазма, но с обширными гематомами, определяли высокие ( $0,494 \pm 0,006$ ) мкг/мл, ( $P < 0,01$ ) уровни нитритов. У пациентов с ангиоспазмом отмечали пониженное содержание нитритов, причем снижение уровня исследуемого метаболита  $N_k$  находилось в прямой зависимости от степени выраженности ПЦВ. Наиболее низкое содержание нитритов в ЦСЖ установили в период быстрого развития выраженного вазоспазма (III степени) и тяжело протекавшей ишемии с развитием очаговой неврологической симптоматики. В то же время у больных со слабовыраженной вазоконстрикцией (I степени) уровни нитритов почти в 3 раза были выше и ранний период САК не сопровождался очаговой неврологической симптоматикой. У пациентов с интенсивным САК и объемными гематомами (III группа по классификации Фишера), у которых быстро возникли обширные зоны ишемического поражения с формированием инфарктов мозга, в начальный

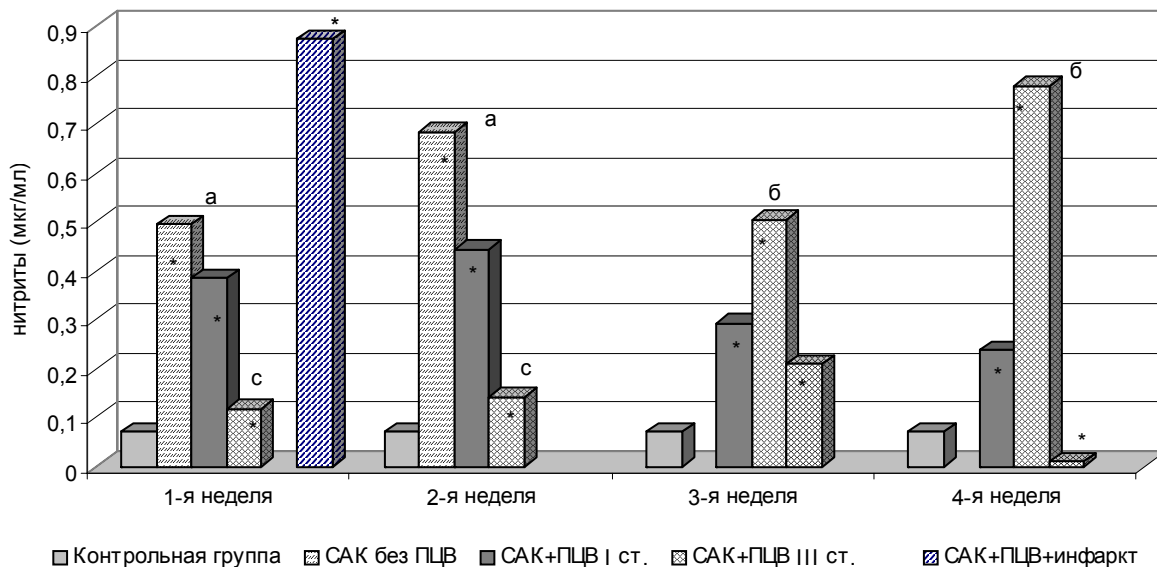


Рис. 1. Уровни нитритов в ЦСЖ больных с САК без вазоспазма и САК с ПЦВ различной степени выраженности в течение 1-го месяца заболевания при различном клиническом течении САК.

\* — Достоверность различий при сравнении с данными контрольной группы ( $P < 0,05$ ); а — достоверное возрастание содержания нитритов между 1-й и 2-й неделями (ANкVA) у пациентов после САК без ПЦВ ( $P < 0,05$ ); б — достоверное возрастание содержания нитритов между 1-й и 3-4-й неделями (ANкVA) у пациентов с САК+ПЦВ III степени; с — достоверное снижение содержания нитритов у пациентов с САК+ПЦВ III степени при сравнении с данными пациентов без вазоспазма на 1-й и 2-й неделе САК ( $P < 0,01$ )

период САК в ЦСЖ определяли максимально высокие уровни нитритов. Ангиоспазм артерий различной степени выраженности, верифицированный при церебральной ангиографии, у этой категории больных представлял собой стойкую вазоконстрикцию, вызывавшую развитие обширного ишемического поражения мозга.

На 2-й неделе САК различия в уровнях нитритов у больных со стойким, выраженным или умеренным вазоспазмом сохраняются, однако прослеживается тенденция к их повышению по сравнению с таковыми в 1-ю неделю заболевания. Из 9 обследованных пациентов этого периода у 7 верифицировали ангиоспазм различной степени выраженности и локализации, причем ангиоспазм развивался не только в артериях вблизи разорвавшихся аневризм, но и выявлялся в сегментах других артерий, чаще всего в зависимости от локализации сгустков крови после кровоизлияния. Локализация аневризм: ПМА – ПСА — 5 больных, ПСА — 1, СМА — 2, ВСА — 1. Тяжесть состояния по шкале Ханта–Хесса — от II до IV степени (II — 1 пациент, III — 4, IV — 4). У больных с выраженным диффузным вазоспазмом отмечали стойкие ишемические симптомы. К концу 2-й недели соответственно выраженности ПЦВ происходило нарастание очаговой неврологической симптоматики. Уровень нитритов в ликворе у этой категории больных хотя и оставался гораздо ниже, чем у больных с легким или умеренным спазмом, но наблюдали тенденцию к его повышению относительно 1-й недели заболевания.

Во время 3-й и 4-й недели САК у 15 больных с различной локализацией аневризм (ПМА – ПСА — у 10, ПСА — у 1, СМА — у 4) и тяжести состоянием от II до IV по шкале Ханта–Хесса уровень нитритов в ликворе изменялся в соответствии с динамикой и степенью ПЦВ. Так, если у больных после регресса умеренного спазма без существенных ишемических осложнений и с обратимыми неврологическими симптомами уровень нитритов в течение 3–4-й недели после САК был умеренно повышен, то у больных со стойким вазоспазмом наблюдали два варианта изменений: 1) при хронической вазоконстрикции отдельных сегментов артерий (например,  $A_1$  или  $M_1$ ) после выраженного диффузного спазма с очагами ишемического поражения мозга и выраженной неврологической симптоматикой уровень нитритов значительно возрастал и достигал максимальных ( $0,779 \pm 0,018$ ) мкг/мл ( $P < 0,01$ ) значений к концу 4-й недели САК; 2) при развитии диффузного вазоспазма апоплектиформного типа у больных на 4-й неделе САК уро-

вень нитритов снижался до минимальных (следовых) ( $0,006 \pm 0,0004$ ) мкг/мл значений. Следует отметить, что ангиоспазм, верифицированный на ангиограммах в отдаленный период САК, не всегда соответствовал данным УЗДГ-исследований.

Уровень нитритов в ликворе больных в «холодный» период (от 30 дней до 6 мес после САК) существенно колебался и составлял: после регресса умеренного ПЦВ — ( $0,098 \pm 0,006$ ) мкг/мл, при развитии энцефалопатии — ( $0,420 \pm 0,004$ ) мкг/мл, при выраженном неврологическом дефиците — после трех кровоизлияний — ( $0,790 \pm 0,003$ ) мкг/мл. Спустя 6 мес после САК у больных с атеросклеротическими изменениями ВСА содержание нитритов в ЦСЖ равнялось ( $0,575 \pm 0,030$ ) мкг/мл.

Для исследования метаболизма Нк в мозге человека после САК и его роли в патогенезе отсроченного вазоспазма в послеоперационный период мы провели определение концентрации нитритов в цистернальном ликворе после клипирования разорвавшихся аневризм, удаления гематом и крови из базальных цистерн вблизи спазмированных артерий. Такие исследования выполнили у 8 больных, из них у 5 — в острый период САК (от 2 до 7 дней) и у 3 пациентов на 21–31-й день после кровоизлияния. Результаты ежедневного мониторинга содержания нитритов в цистернальном ликворе представлены на рис. 2 и рис. 3. Концентрация нитритов в ликворе, полученном через дренажи по окончании операции больных в острый период САК, обычно была ниже исходных значений в люмбальном ликворе до операции (за исключением случая с церебральным инфарктом; рис 2 (5)).

Из 5 больных, у которых был проведен послеоперационный мониторинг содержания нитритов, 4 оперировали на фоне спазма сосудов различной локализации с симптомами развивающейся ишемии мозга; рис.2 (1, 2, 3, 5) и один пациент без ПЦВ до операции; рис.2 (4). После повышения концентрации нитритов в 1-й день после операции независимо от времени, прошедшего с момента разрыва АА до начала операции, уровни нитритов у больных с выраженным вазоспазмом в последующие 2 дня снова временно понижались с дальнейшим повышением до 11–13-го дня от начала заболевания. Такая стимуляция метаболизма Нк зависела как от объема САК, так и сохранения остаточных очагов геморрагического пропитывания. После САК без ПЦВ отмечали более высокие концентрации нитритов в ликворе в сравнении с таковыми у больных без вазоспазма; рис. 2 (4). Больные с ПЦВ имели выраженный неврологический дефицит, в то вре-

мя как у больного без вазоспазма наблюдали относительно благоприятный исход. В случае со стойким генерализованным ПЦВ и развившейся в течение первых 6 дней обширной ишемией до операции уровни нитритов в цистернальном ликворе после операции плавно понижались; рис. 2 (5).

У 3 больных, подвергавшихся оперативно-му вмешательству в хронической стадии САК,

несмотря на различные исходные уровни нитритов до операции, в послеоперационный период их уровни были одинаково повышенными, но профили данных мониторинга содержания нитритов отличались в зависимости от тяжести клинического состояния больных (рис. 3). Так, благоприятный исход в отношении ишемических осложнений отмечали у больно-

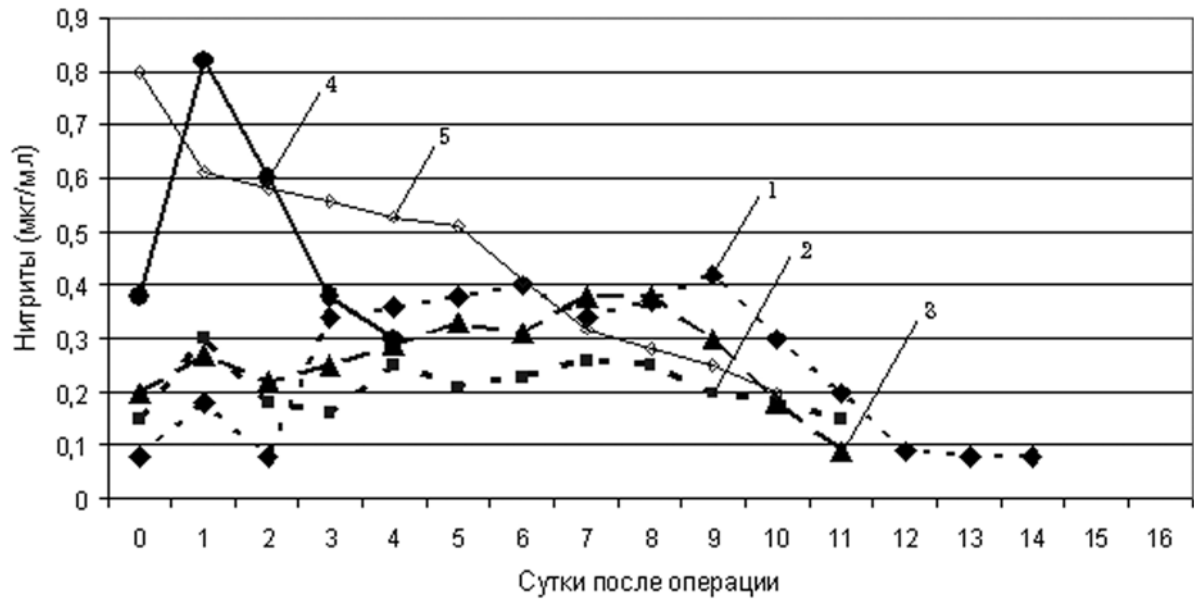


Рис. 2. Динамика содержания нитритов в ЦСЖ из базальных цистерн мозга больных с вазоспазмом, прооперированных в 1-ю неделю после САК (1 — через 2 дня; 2 — через 3 дня; 3 — через 5 дней; 4 — через 7 дней; 5 — через 6 дней)

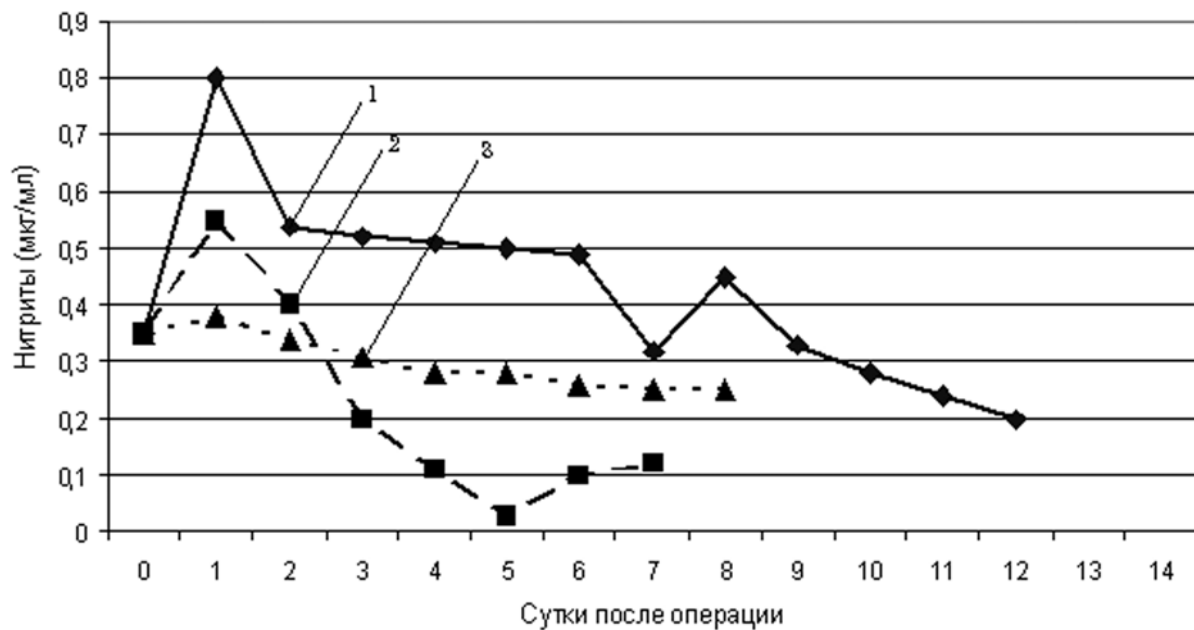


Рис. 3. Динамика содержания нитритов в ЦСЖ из базальных цистерн мозга больных САК, прооперированных в хронической стадии заболевания (1 — через 21 день; 2 — через 34 дня; 3 — через 36 дней)

реза наблюдали у больной X; рис.3 (2) и сохранение неврологического дефицита в исследуемый период имелось у больного M. после третьего разрыва АА; рис.3 (3).

Обсуждение. У большинства больных с САК после разрыва АА, кроме закономерного нарушения ауторегуляции церебральной гемодинамики [31], на 3–4-е сутки вследствие стойкого тонического сокращения миоцитов сосудов происходит спазм отдельных сегментов церебральных артерий. Понижение кровотока в таких сосудах индуцирует прогрессию ПЦВ и последующее ишемическое повреждение мозга, часто приводящее к церебральному инфаркту. Принято считать, что спастические реакции церебральных артерий запускаются ключевым триггером ПЦВ — оксигемоглобином, освобождающимся из гемолизатов крови в субарахноидальном пространстве [24, 28]. Различные компоненты гемолизата, взаимодействуя с эндотелием сосудистых стенок, приводят к их деструкции и в каскаде этих процессов ведущей становится эндотелиальная дисфункция, под которой понимается дисбаланс в продуцировании и освобождении факторов, поддерживающих гомеостаз сосудистой стенки и определяющей ее чувствительность к различным субстанциям [1, 12]. Нарастание и сохранение вазоспазма связывают с повышенными концентрациями вазоактивных субстанций в ЦСЖ, особенно такого сильного вазоконстрикторного пептида, как эндотелин-1 [3–5, 23, 36], изменением чувствительности к ним церебральных артерий [29], их нервов [8] и эндотелия. Повышенные уровни оксигемоглобина и тромбина в ЦСЖ после САК индуцируют высвобождение ЭТ-1, артериальную дисфункцию и структурные повреждения сосудистых стенок.

Влияние продуктов гемолиза на эндотелиальную дисфункцию после САК и эндотелийзависимую модуляцию сосудистого тонуса осуществляется различными механизмами, в том числе включающими супрессию вазодилаторной функции и эндотелийзависимой релаксации, с последовательно снижающейся способностью синтезировать Nk. Молекулярные и клеточные механизмы артериальной дисфункции при ПЦВ остаются предметом интенсивных исследований, но недостаток активности нитроксида, не только одного из основных факторов релаксации сосудов, но и опосредующего артериальную чувствительность к различным вазоактивным веществам, является важнейшим звеном в патогенезе ПЦВ [1, 12, 17, 23, 30]. Ослабленная эндотелийзависимая релаксация при ПЦВ связана не только с гиппродукцией нитроксида eNk-синтазой, но и

захватом Nk оксигемоглобином [9, 23] или пониженной активностью растворимой гуанилатциклазы в гладкомышечных клетках сосудов [9]. В то же время оксигемоглобин и примеси крови в ЦСЖ оказывают цитотоксическое влияние на эндотелиальные клетки [4, 14].

Нитроксид является универсальным медиатором биологических процессов в мозге [7]. Понимание его роли в патофизиологических процессах после САК требует учета клеточных источников и тканевых компартментов, продуцирующих Nk тремя различно регулирующими изоформами Nk-синтаз, а именно, двумя конститутивными: эндотелиальной (eNkS), нейрональной (nNkS) и индуцибельной (iNkS) [1, 7]. Последствия синтеза Nk для мозга зависят от того, где и когда он синтезируется. По мере накопления сведений о роли нитроксида в мозге стало очевидно, что в патогенезе САК участвует не только эндотелиальный Nk, но и Nk из различных клеточных источников, поскольку NkS экспрессируются и в нейронах, глии, макрофагах [10]. Эндотелиальный Nk и eNkS сосудистой стенки — только часть механизма регуляции церебрального кровотока, поскольку он синтезируется и гладкомышечными клетками сосудов. Кроме того, отростки вазодилаторных неадренергических и нехолинергических, так называемых нитроксидергических нейронов, идентифицированные в церебральных артериях [27], освобождают Nk в ответ на вазоактивные субстанции и нервную стимуляцию [35], а также принимают участие в регуляции церебрального кровотока.

Предполагается, что нитроксид, выступая медиатором нейрональной и химической ауторегуляции кровотока, может частично определять ауторегуляторную вазодилатацию, однако стойкая вазоконстрикция, возникающая вследствие САК, значительно снижает ауторегуляторный ответ и ограничивает его влияние [21]. Нитроксид вовлекается в патогенез нейрональных повреждений при церебральной ишемии [6, 11, 19]. Во время ишемических повреждений мозга в церебральной вазодилатации могут участвовать nNkS, особенно в ответ на активацию глутаматных рецепторов N-метил-D-аспартат (NМКА) типа [11], но ранняя продукция эндотелиального Nk всегда полезна, поскольку сосудистые эффекты превосходят нейротоксический потенциал нейронального Nk [19].

Полученные в данной работе результаты о динамических изменениях содержания ближайшего метаболита Nk — нитрита в ЦСЖ больных в различные сроки САК рассматриваются с учетом вышеуказанных положений. Сложное

регуляторное влияние Nk в патогенезе ПЦВ изучается во многих экспериментальных исследованиях, но клинические исследования в таком направлении еще только начинаются. Значительное повышение уровней нитритов в ЦСЖ пациентов в острой стадии САК свидетельствует о специфическом продуцировании Nk в ЦСЖ, причем обнаруженная нами гиперпродукция нитритов положительно коррелирует с САК III степени по шкале Фишера.

Возможно следующее объяснение гиперпродукции нитритов в ЦСЖ после САК: под воздействием спазмогенных веществ излившейся крови и лизатов эритроцитов значительное количество Nk генерируется как конститутивными, так и iNkS. Это поддерживается следующими положениями: 1) возникающее в субарахноидальном пространстве воспаление активирует iNkS, тем более, что после САК в ЦСЖ обнаружены высокие уровни воспалительных цитокинов [25, 26]; 2) активируется несколько клеточных источников генерации Nk: гладкомышечные клетки сосудов, астроциты или воспалительные клетки [1, 5, 8, 10, 22, 26, 28]. Спустя несколько дней вследствие сосудистых повреждений и истощения системы генерации эндотелиального Nk возникают предпосылки для развития вазоспазма в базальных сегментах церебральных артерий. Этому в значительной степени способствует захват эндотелиального нитроксида оксигемоглобином, что значительно уменьшает возможности Nk нейтрализовать нарастающее количество супероксида кислорода и проявить свое антиоксидантное действие. Такая ситуация способствует развитию стойкого вазоспазма в поврежденных сегментах артерий и в этот период нами определялось наиболее низкое содержание нитритов в ЦСЖ у пациентов с ПЦВ.

Полученные данные в определенной степени коррелируют с исследованиями M.Suzuki и соавторов [32], которые установили, что у больных, прооперированных в первые 48 ч от начала САК, уровни нитритов/нитратов в ЦСЖ значительно возрастают в течение 12–14 дней, но при развитии вазоспазма в послеоперационный период на 7–9-е сутки после САК отмечается снижение содержания данного параметра в ЦСЖ из базальных цистерн.

Повышенный уровень нитритов, определяемый при ангиоспазме I степени, вероятно, может свидетельствовать о включении механизмов компенсации пониженного регионарного кровотока в областях спазмированных артерий в острой стадии САК. Так, активность конститутивных изоформ Nk-синтаз возрастает в паренхиме мозговой ткани и микрососудах для компенсации пониженного локального моз-

гового кровотока, а вазодилататорные нитроксидагические нейроны, получая информацию о функциональной активности ишемизированных участков мозга, после активации NMDA-глутаматных рецепторов могут включаться в общую регуляцию церебральной вазодилатации [11, 17]. Если вазоспазм не сопровождается значительными гемодинамическими нарушениями благодаря включению коллатерального кровообращения в бассейне спазмированных артерий, пациенты могут избежать церебральной ишемии, что и наблюдалось у исследуемых пациентов без нарушения церебральной ауторегуляции. В этот период уровни нитритов в ЦСЖ плавно повышаются. Однако при выраженном ПЦВ на фоне изначально пониженной нитроксидагической вазорелаксации индуцируется оксидативное повреждение мозга, и со 2-й недели САК вследствие понижения перфузии происходит нарастание церебральной ишемии. В дальнейшем у больных со стойкими ишемическими очагами, сформированными в результате выраженного вазоспазма, могут проявляться уже отрицательные эффекты избыточного количества Nk вследствие цитотоксичности его метаболитов.

Таким образом, пусковые механизмы ишемии головного мозга после САК зависят от вида и степени сосудистого спазма, а церебральная ишемия оказывает большое влияние на пути биосинтеза Nk. Повышенная продукция Nk может быть или полезной в ранней стадии или вредной для ишемизированного мозга. Принципиально важно, чтобы полезное, защитное влияние Nk, продуцируемого eNkS, преобладало над вредным нейротоксическим потенциалом Nk, продуцируемого nNkS и iNkS.

Профили мониторинга содержания нитритов в ЦСЖ базальных цистерн после операции у больных с ПЦВ в острый период САК (рис.2) демонстрируют пониженные уровни нитритов в ранние сроки (за исключением 1-х послеоперационных суток) с последующим возрастанием до 11–13-х суток от начала заболевания. Это может быть результатом активации не только nNkS, но и iNkS, поскольку последняя генерирует значительно больше Nk. В этих условиях избыток цитотоксического метаболита — пероксинитрита может метаболизироваться в нитрат. При быстро развившемся церебральном инфаркте на фоне вазоспазма и постепенном восстановлении кровотока при относительно благоприятном исходе происходит снижение максимальных уровней нитритов. Это согласуется с представлениями о том, что при геморрагическом инсульте iNkS в макрофагах, эндотелии, гладкомышечных клетках сосудов, глии стимулируется как повышенными

уровнями воспалительных цитокинов в ЦСЖ [26], так и продуктом распада гемоглобина — гемом. Избыток Нк, который в данной ситуации действует в виде свободного радикала, независимо от выраженности ПЦВ, оказывает нейротоксическое влияние [33], поэтому полное удаление крови в первые сутки после САК значительно уменьшает воспалительные реакции в субарахноидальном пространстве и улучшает исход заболевания.

Результаты проведенных клинико-экспериментальных исследований по определению содержания нитритов в ликворе больных в течение острого и хронического периодов САК позволяют сделать следующие выводы.

1. Содержание нитритов в ЦСЖ пациентов с САК значительно возрастает, что может свидетельствовать о специфической продукции нитроксида в ЦСЖ. Динамика содержания нитроксида в ликворной системе зависит от сроков возникновения и объема кровоизлияния, а также от выраженности постгеморрагического вазоспазма.

2. Формирование постгеморрагического вазоспазма сопряжено с недостаточностью системы нитроксида, определяемой по значительному снижению уровня нитритов в ЦСЖ в ранний период заболевания. С уменьшением данного показателя в ликворе перед операцией степень риска развития ишемических осложнений в послеоперационный период значительно возрастает.

3. Различные варианты клинического течения постгеморрагического периода сопровождаются характерными динамическими изменениями содержания нитроксида в ликворе, зависящими от степени выраженности вазоспазма и развития отсроченной церебральной ишемии.

4. Определение содержания нитритов в ликворе с учетом особенностей клинического течения до- и послеоперационного периода позволяет прогнозировать развитие ишемических осложнений после САК и может способствовать оптимизации патогенетически обоснованных способов их предупреждения и лечения.

#### Список литературы

1. Зозуля Ю.А., Сенько Л.Н. Церебральный вазоспазм после субарахноидальной геморрагии. Молекулярные аспекты эндотелиальной дисфункции // Укр. нейрохирург. журн. — 2001. — №1. — С.4–16.
2. Картюк В.В., Черняк Ю.С., Шубич М.Г. Лабораторный мониторинг состояния нитроксидергической вазорелаксации при субарахноидальном кровоизлиянии // Клини. лаб. диагностика. — 2000. — №5. — С.16–17.
3. Alabadi J., Torregrosa G., Miranda F. et al. Impairment

- of Modulatory Role of Nitric oxide on the Endothelin-1- elicited contraction of Cerebral Arteries: A Pathogenetic Factor in Cerebral Vasospasm after subarachnoid Hemorrhage // Neurosurgery. — 1997. — V.41, №1. — P.245–253.
4. Chang C-Z., Winardi K., Lin C-L. et al. Attenuation of Hemolysate-Induced cerebrovascular Endothelial Cell Injury and of Production of Endothelin-1 and Big Endothelin-1 by an Endothelin-Converting Enzyme Inhibitor // Surg. Neurol. — 2002. — V.58, №3–4. — P.181–188.
5. Chehrizi B.B., Giri S., Joy R.M. Prostaglandins and vasoactive amines in cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage // Stroke. — 1989. — V.20. — P. 217–224.
6. Kawson K.A. Nitric oxide and focal cerebral ischemia: Multiplicity of actions and diverse outcome // Cerebrovas. Brain Metab. Rev. — 1994. — №6. — P. 299–324.
7. Kawson T.M., Snyder S.H. Gases as biological messengers: nitric oxide and carbon monoxide in the brain // J. Neurosci. — 1994. — V.14. — P. 5147–5159.
8. Edvinsson L., Kelgado-Zygmunt T., Ekman R. et al. Involvement of perivascular sensory fibers in the pathophysiology of cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage // J. Cereb. Blood Flow Metab. — 1990. — V.10. — P.602–607.
9. Edwards K.H., Byrne J.V., Griffith S. The effect of chronic subarachnoid hemorrhage on basal endothelium — derived relaxing factor activity in intrathecal cerebral arteries // J. Neurosurg. — 1992. — V.76. — P.830–837.
10. Faraci F.M., Brian J.E. Nitric oxide and cerebral circulation // Stroke. — 1994. — V.25. — P.692–703.
11. Faraci F.M., Brian J.F. 7-Nitroindazole inhibits brain nitric oxide synthase and cerebral vasodilatation in response to N-methyl-L-aspartate // Stroke. — 1995. — V.26. — P.2172–2175.
12. Faraci F.M., Heistad K.K. Regulation of the cerebral circulation: role of endothelium and potassium channels // Physiol. Rev. — 1998. — V.78, №1. — P.53–97.
13. Fisher C.M., Kistler J.P., Kavis J.M. Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computed tomographic scanning // Neurosurgery. — 1980. — V.6. — P.1–9.
14. Folley P.L., Takenaka K., Kassell N.F., Lee K.S. Cytotoxic effects of bloody cerebrospinal fluid on cerebral endothelial cells in culture // J. Neurosurg. — 1994. — V.81. — P. 87–92.
15. Green L.G., Wagner K.A., Glogowski J. et al. Analysis of Nitrate, Nitrite and [N15] Nitrate in Biological Fluids // Ann. Biochem. — 1982. — V.126. — P. 131–138.
16. Hatake K., Wakabayashi J., Kakishita E., Hishida S. Impairment of endothelium — dependent relaxation in human basilar artery after subarachnoid hemorrhage // Stroke. — 1992. — V.23. — P. 1111–1117.
17. Hino A., Tokuyama Y., Weir B. et al. Changes in endothelial nitric oxide synthase mRNA during vasospasm after subarachnoid hemorrhage in monkeys // Neurosurgery. — 1996. — 39. — P. 562–568.



18. *Hunt W., Hess R.M.* Surgical risk as related to time of intervention in the repair of intracranial aneurysm // *J.Neurosurg.* — 1968. — V.28. — P. 14–21.
  19. *Iadecola C.* Bright and dark sides of nitric oxide in ischemic brain injury // *Trends Neurosci.* — 1997. — V.20, №1. — P. 132–139.
  20. *Ignarro L.J., Buga G.M., Wood K.S., Byrns R.E.* Endothelium — derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1987. — V.84. — P. 9265–9269.
  21. *Kajita Y., Takayasu M., Kietrich H., Kacey R.* Possible Role of Nitric oxide in Autoregulatory. Response in Rat Intracerebral Arterioles // *Neurosurgery.* — 1998. — V. 42, №4, — P. 834–842.
  22. *Koedel U., Bernatowicz A.* Experimental pneumococcal meningitis: cerebrovascular alterations, brain — edema and meningeal inflammation are linked to the production of nitric oxide // *Ann. Neurol.* — 1995. — V.37. — P. 186–189.
  23. *Lin G., Macdonald R.L., Marton L.S. et al.* Hemoglobin increases endothelin — 1 in endothelial cells by decreasing nitric oxide // *Biochem.Biophys. Res. Commun.* — 2000. — V.280. — P.824–830.
  24. *Macdonald L.L., Weir R.K.* A review of hemoglobin and the pathogenesis of cerebral vasospasm // *Stroke.* — 1991. — V.22. — P. 971–982.
  25. *Mathiesen T., Anderson B., Loftenius A., van Holst H.* Increased interleukin 6 levels in cerebrospinal fluid following subarachnoid hemorrhage // *J.Neurosurg.* — 1993. — V.78. — P.562–567.
  26. *Merrill J.E., Benveniste E.N.* Cytokines in inflammatory brain lesions: Helpful and harmful // *Trends Neurosci.* — 1996. — V.19. — P. 331–338.
  27. *Nozaki K., Moskowitz M., Maynard K.J. et al.* Possible origins and distribution of immunoreactive nitric oxide synthase — containing nerve fibers in cerebral arteries // *J. Cereb. Blood Flow Met.* — 1993. — V.13. — P. 70–79.
  28. *yno S., Komuro T., Macdonald R.L.* Heme oxygenase — 1 therapy for prevention of vasospasm in rats // *J.Neurosurg.* — 2002. — V.96. — P. 1094–1102.
  29. *knoue H., Kaito N., Akiyama M. et al.* Altered reactivity of human cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage // *J. Neurosurg.* — 1995. — V.85. — P. 510–515.
  30. *Pluta R.M., Thompson B.G., Kawson T.M. et al.* Loss of nitric oxide synthase immunoreactivity in cerebral vasospasm // *J. Neurosurg.* — 1996. — V.84. — P. 648–654.
  31. *Ratsep T., Asser T.* Cerebral hemodynamic impairment after aneurysmal subarachnoid hemorrhage as evaluated using transcranial Doppler ultrasonography: relationship to delayed cerebral ischemia and clinical outcome // *J. Neurosurg.* — 2001. — V.95. — P. 393–401.
  32. *Suzuki M., Asahara H., Endo S. et al.* Increased levels of nitrite/nitrate in the cerebrospinal fluid of patients with subarachnoid hemorrhage // *Neurosurg. Rev.* — 1999. — V.22, №2–3. — P. 96–98.
  33. *Suzuki S., Kassell N.F., Lee K.S.* Hemin activation of an inducible isoform of nitric oxide synthase in vascular smooth — muscle cells // *J. Neurosurg.* — 1995. — V.83. — P. 862–866.
  34. *Suzuki Y., Kusaka K., Noda A. et al.* Nitric oxide Metabolites in the Cisternal Cerebral Spinal Fluid of Patients with Subarachnoid Hemorrhage // *Neurosurgery.* — 1997. — V.41, №4. — P. 807–812.
  35. *Toda N., Ayajika K., Kamura T.* Cerebroarterial relaxations mediated by nitric oxide derived from endothelium and vasodilator nerve // *J. Vasc. Res.* — 1993. — V.30. — P. 61–67.
  36. *Zuccarello M., Romano A., Passalacqua M., Rapoport R.M.* Decreased endothelium — dependent relaxation in subarachnoid hemorrhage-induced vasospasm. Role of ET-1 // *Amer. J. Physiol.* — 1995. — V.269. — P. 1009–1015.
- Role of nitric oxide in the cerebrospinal fluid by subarachnoid hemorrhage and vasospasm
- Zozulja Yu.A., Senko L.N., Tsimejko O.A., Moroz V.V.*
- The role of nitric oxide (N<sub>o</sub>) in the pathogenesis of delayed cerebral vasospasm (VS) and cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage (SAH) was investigated by analyzing the stable metabolites of N<sub>o</sub> — nitrite by Griess method in the cerebrospinal fluid (CSF) 45 patients with SAH compared with patients of nonruptured aneurysms. The levels of nitrite in CSF before surgery treatment and in CSF obtained daily from the cisternal drainage after surgery significantly increased with time and were higher than those of control patients, but in the patients with severe VS the levels nitrite transiently decreased on 4–9 days. Decreased levels nitrite in the CSF may be an indicator of the presence of VS and delayed ischemic complication due to SAH.
- Роль оксиду азоту цереброспінальної рідині при субарахноїдальній геморагії та вазоспазмі
- Зозуля Ю.П., Сенько Л.М., Цимейко О.А., Мороз В.В.*
- За допомогою аналізу динамічних рівнів стабільних метаболітів оксиду азоту (N<sub>o</sub>) — нітритів, які вимірювали реактивом Грісса у цереброспінальній рідині (ЦСР) 45 хворих на субарахноїдальну геморагію (САГ) в порівнянні з такими, які були у хворих з нерозірваними артеріальними аневризмами, була з'ясована роль N<sub>o</sub> в патогенезі церебрального вазоспазму (ВС) після САГ. Рівні нітритів в ЦСР пацієнтів перед хірургічним втручанням та в ЦСР, яку отримували кожної доби на протязі двох тижнів після операції з дренажу базальних цистерн мозку, з часом значно зростали і були вищі, ніж у групі контролю в 5–7 разів, але у хворих з стійким вазоспазмом рівні нітритів на протязі 4–9 діб транзитно зменшувались. Зниження рівнів нітритів в ЦСР може бути індикатором вазоспазму, що надалі призводить до стійких ішемічних пошкоджень мозку внаслідок САГ.