

УДК 616.714.3—006:616.24—008.4:616.15:612.015

Роль макроэргических фосфатов эритроцитов крови в диагностике нарушений жизненно важных функций у больных с внемозговыми краниобазальными опухолями

Трош Р.М., Долгова М.И., Онищенко П.М.

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

Ключевые слова: макроэргические фосфаты, эритроциты крови, гипоксия мозга, спинномозговая жидкость.

Опухоли мозга как объёмный процесс в замкнутой полости черепа по мере роста генерируют развитие внутричерепной гипертензии (ВЧГ), снижают энергогенез, перфузию и оксигенацию мозга, так как мозг осуществляет свои функции за счёт энергии макроэргических фосфатов — аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) и гуанозинтрифосфорной кислоты (ГТФ), которые непрерывно и с большой скоростью синтезируются в митохондриях нервных клеток при аэробном окислении глюкозы [1,5]. ВЧГ ещё в самой начальной стадии существенно снижает перфузию, оксигенацию и, следовательно, синтез АТФ и ГТФ. К настоящему времени установлено, что функциональная активность мозга находится в тесной зависимости от уровня высокоэнергетических фосфатов [2]. На долю адениновых нуклеотидов приходится 80%, а гуаниновых — 20% общего содержания. При недостатке кислорода в мозговой ткани возникает сложный комплекс изменений — угнетаются окислительные аэробные и активизируются анаэробные процессы с изменением активности ферментов. Однако наиболее уязвимым звеном этих изменений является аэробный синтез макроэргических фосфатов, который повреждается в первую очередь [5]. Наиболее мобильной фракцией макроэргических фосфатов является концентрация ГТФ. Содержание ГТФ достоверно снижается в ранние сроки гипоксии. При частичной ишемии мозга уже в ранние сроки наблюдается снижение содержания как ГТФ, так и АТФ. При удлинении продолжительности ишемии концентрация АТФ кратковременно нормализуется (за счёт повышения активности гликолиза), а содержание ГТФ остаётся ниже нормы. Снижение уровня АТФ при ишемии связывают с уменьшением сопряженности окисления и фосфорилирования митохондриями мозга. Эти нарушения усиливаются при удлинении сроков ишемии. На основе анализа экспериментальных данных был

предложен способ оценки тяжести гипоксии мозга [3]. По первоначальному снижению уровня ГТФ можно выявить ранние гипоксические изменения в мозговой ткани (лёгкая степень гипоксии). Средняя степень гипоксии характеризуется снижением содержания ГТФ и АТФ при неизменном уровне креатинфосфата (КФ). Тяжёлой степени гипоксия мозга сопровождается уменьшением количества молекул всех трёх макроэргических соединений. Содержание макроэргических фосфатов в мозге отражает глубину кислородного голодания мозга, поскольку является результирующим вектором потребления кислорода, активности ферментов дыхательной цепи, сопряженности дыхания и окислительного фосфорилирования [4].

Хватовой Е.М. и соавторами (1987) установлена уникальная способность мозга накапливать аденозин в спинномозговой жидкости (СМЖ) в условиях гипоксии, который не вымывается за пределы гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), а используется для ресинтеза АТФ и ГТФ при устранении ишемии и гипоксии и восстановлении энергосинтетических функций митохондрий. Поскольку в физиологических условиях СМЖ не содержит аденозина, сам факт присутствия аденозина в ней является объективным критерием гипоксии мозга. Аналогичный факт установлен для гуанозина. Таким образом, дериваты и субстраты энергетического обмена, отсутствующие в СМЖ в физиологических условиях и появляющиеся и сохраняющиеся в ней до ликвидации ишемии и гипоксии мозга, могут использоваться как критерии тяжести его гипоксии и отражать эффективность антигипоксического воздействия [5].

Усиливающаяся гипоксия нервной ткани, вызывающая грубые нарушения метаболизма, приводит к нарастанию отёка мозга с последующими дислокациями и гемодинамическими расстройствами. Поэтому она является одной

из важнейших причин нарушений жизненно важных функций при хирургическом лечении внемозговых краниобазальных опухолей.

В этой связи предпринято исследование механизмов повреждающего действия гипоксии мозга на жизненно важные функции организма. Изучали динамику макроэргических фосфатов (АТФ, ДФГ, АДФ) в эритроцитах смешанной венозной крови, состояние и динамику внутриклеточного Ph, а также динамику субстратов и дериватов (гуанозин, аденозин) энергетического обмена в СМЖ больных на этапе хирургического вмешательства и в ранний послеоперационный период.

Материал и методы. Исследования провели у 81 больного с внемозговыми парастволовыми опухолями (невриномы слухового нерва — 52 больных, краниобазальные менингиомы — 29 больных) с использованием метода ЯМР-спектроскопии. Исследовали венозную кровь и СМЖ, взятые как во время операции, так и в различные сроки острого послеоперационного периода с учётом состояния больных.

Охлаждённую венозную кровь, собранную в пробирки с гепарином, отделяли от плазмы крови центрифугированием при 1500 об. в 1 мин в течение 10 мин.

Эритроцитарную массу последовательно отмывали охлаждённым изотоническим раствором хлорида натрия с фосфатным буфером 0,15 моль ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$, $\text{NaH}_2\text{P}_2\text{O}_7$) рН 7,4 и ещё раз отмывали изотоническим раствором при тех же условиях центрифугированием.

В получившемся в результате последней отмывки осадке эритроцитов, 1 мл которого помещали в стандартную ЯМР-ампулу, регистрировали спектры на ЯМР-фурье-спектроскопе "Брукер" НХ-200 при рабочей частоте на ядрах фосфора 145,78 МГц. Регистрацию спектров проводили без вращения образца и при отсутствии широкополосного подавления спинного взаимодействия с протонами. Каждый спектр получали в результате 500 сканов. Условия накопления спектров: 60-градусный импульс при времени задержки 0,3 с. Накопление проводили на участке памяти 8К при разрешении 2,3 Гц на точку. Значение химических сдвигов в м.д. проведены относительно сигнала 85% H_2PO_4^- . В качестве внешнего эталона использовали натриевую соль этилендиамина тетрафосфоновой кислоты.

По аналогичной методике исследовали смешанную венозную кровь больных в динамике до и во время операции в разные сроки послеоперационного периода с учётом состояния больных. Всего изучили спектры у 81 больного

в динамике. Кроме того, в качестве контроля исследовали спектры у 20 доноров.

Полученные спектры содержат сигналы ДФГ, АТФ и АДФ. В нативных эритроцитах доноров фосфор неорганический не регистрируется, но появляется в эритроцитах больных на этапе хирургического лечения.

Динамический анализ проводили при накоплении серии спектров в автоматическом режиме и их последующей автоматической обработке с использованием коэффициента Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Проведенными исследованиями установлено снижение исходного уровня основных макроэргических фосфатов (АТФ, АДФ и ДФГ) в эритроцитах смешанной венозной крови у больных до операции на 10—16% по сравнению с контролем.

Исследование этих же показателей в динамике во время операции и в разные сроки послеоперационного периода позволило установить, что динамика этих показателей коррелирует с характером течения послеоперационного периода и тяжестью состояния больных. Это позволило выделить три варианта динамики показателей макроэргических фосфатов в эритроцитах обследованных больных.

1. Сохранение показателей на исходном уровне или незначительное и кратковременное их снижение (у 29 из 81 больных) при несложнённом операционно-послеоперационном периоде.

2. Умеренное снижение показателей макроэргических фосфатов во время операции с дальнейшим снижением их в послеоперационный период в первые 7—10 дней и с последующим восстановлением показателей близко к исходному уровню у 39 больных с осложнённым послеоперационным периодом, окончившимся благополучно.

3. Резкое устойчивое снижение показателей макроэргических фосфатов без тенденции к восстановлению у 13 больных, умерших в разные сроки после операции.

Осложнённое течение операционно-послеоперационного периода наблюдали у 52 больных. Во время операции осложнения возникли только у 10 больных и носили гемодинамический (8 больных) и коагуляционный (2 больных) характер. Клинически это проявлялось нестабильностью гемодинамики и кровоточивостью операционной раны. Исследование показателя АТФ эритроцитов на этапе удаления опухоли обнаружило его снижение на 0,1 ммоль/л при резком (в 4 раза) увеличении уровня АДФ с разнонаправленным снижением уровня ДФГ. Его

уровень снизился на 0,5 ммоль/л по сравнению с дооперационным ($P < 0,001$) и составил 62,5%. Дооперационный уровень составлял 87,5%.

У остальных 42 из 52 больных осложнения развивались в первые часы и сутки после операции. Клинически они проявлялись нарушением сознания, психомоторным возбуждением, нарушением ритма дыхания, нестабильной гемодинамикой и тахикардией, желудочно-кишечными кровотечениями, гипертермией.

Уровень АТФ, ДФГ снижался при высоком в 4—5 раз превышающем исходные показатели уровне АДФ. Это указывало на глубокое поражение метаболических функций эритроцитов и прежде всего их кислородтранспортных функций.

У 18 из 52 больных состояние осложнилось выраженным отёком-набуханием мозга, острой сердечно-сосудистой и дыхательной недостаточностью. Из них 13 умерли (4 больных — в 1-е сутки, 9 больных — на 7—9-е сутки после операции). Уровни АТФ и ДФГ у этих больных критически снижались и составляли 57% для АТФ и 28% для ДФГ по отношению к дооперационным уровням ($P < 0,05$) при резко возрастающем показателе АДФ, превышающем в 6 раз дооперационный уровень, и значительном нарастании уровня фосфора неорганического (ФН).

Следует отметить, что у выживших больных содержание АТФ, ДФГ и АДФ имело тенденцию к медленной, постепенной нормализации в эритроцитах венозной крови через 3—4 нед после оперативного вмешательства. К моменту выписки больных из стационара уровень АТФ был только на 0,35 ммоль/л ниже контрольного и на 0,1 ммоль/л выше дооперационного ($P < 0,01$). Для ДФГ эти показатели составили 0,2 ммоль/л и 0,03 ммоль/л соответственно. Фосфор неорганический в эти сроки уже не обнаруживали.

Кроме повреждения энергосинтетических функций эритроцитов, обнаруживается прямое доказательство гипоксического повреждения мозга в виде появления в СМЖ субстратов и дериватов энергетического обмена (гуанозина, аденозина). Оно отмечено у всех обследованных больных.

Следует отметить, что снижение концентрации ДФГ всегда совпадает с появлением в СМЖ гуанозина и аденозина.

Сам факт регистрации этих субстратов и дериватов в СМЖ уже указывает на выраженную гипоксию мозга, гипоксический гидролиз АТФ и ГТФ и гипоксическое угнетение аэробного энергосинтеза в митохондриях мозга.

Гуанозин мы обнаруживали в СМЖ у всех 72 больных одновременно с фосфором неорганическим, аденозин — только у 47 из 72 больных. Причём у всех 47 больных отмечали осложнённый послеоперационный период. 13 больных умерли в ранние сроки после операции, а у 34 — наблюдали обратимые гипоксические нарушения без витальных расстройств. Напрашивается вывод о необходимости количественного определения аденозина в СМЖ ещё до операции с целью фармакологической коррекции до исчезновения его в СМЖ. Это будет способствовать профилактике витальных нарушений во время операции.

Основываясь на экспериментальных данных [5], можно считать, что клиническое значение присутствия гуанозина и аденозина в СМЖ может быть обозначено как гипоксическое повреждение специфических аэробных энергосинтетических функций митохондрий мозга и, возможно, указывает на формирование отёка-набухания мозга.

Внутриклеточный рН эритроцитов венозной крови больных составлял 7,32 до операции против 7,40 в контроле. Динамика этого показателя определялась односторонне сниженными уровнями ДФГ и АТФ и претерпевала сдвиги в сторону закисления на 0,1—0,2 при первых двух вариантах течения. При необратимых осложнениях закисление внутриклеточной среды эритроцитов снижалось на 10 и составляло 7,28—7,22 при терминальных состояниях.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено повреждение энергосинтетических функций эритроцитов (АТФ и ДФГ) и энергосинтетических функций мозга различной степени тяжести (АТФ и ГТФ) у всех обследованных больных с углублением этих повреждений на этапах хирургического лечения, влиянием этих повреждений на характер послеоперационного периода. Учитывая физиологическую роль гликолиза в эритроцитах для обеспечения активности начального звена дыхательной цепи аэробного энергосинтеза в митохондриях мозга, целесообразно рекомендовать в дооперационный период фармакологическую коррекцию энергосинтетических функций эритроцитов до восстановления физиологических уровней ДФГ и АТФ, а в мозге — до восстановления энергосинтетических функций макроэргических фосфатов в митохондриях АТФ и ГТФ (то есть “уборки” аденозина из СМЖ).

Выводы. 1. Динамика показателей макроэргических фосфатов в эритроцитах крови коррелирует с характером течения послеопера-

ционного периода и тяжестью состояния больных.

2. Появление в СМЖ субстратов и дериватов (гуанозина, аденозина) энергетического обмена — прямое доказательство тяжести гипоксического повреждения мозга.

3. Коррекция содержания макроэргических фосфатов в эритроцитах может способствовать профилактике развития витальных нарушений на этапах хирургического лечения больных с внемозговыми краниобазальными опухолями.

Список литературы

1. Волошин М.Я. Зміни біоелектричної активності мозку кроликів під впливом поступово наростаючої компресії // Фізіол. Журн. — 1963. — Т.9, №6. — С.782 — 786.
2. Зинченко В.Д. Исследование метаболизма макроэргических соединений в криоконсервированных эритроцитах методом ³¹P-ЯМР // Успехи современной криобиологии. — X, 1992. — С.72—73.
3. Рубанова Н.А., Фокин В.М., Семёнова Т.С., Бобылева Т.Ф. Ферментативные характеристики мозга при разных патогенетических формах гипоксии. Биохимия гипоксии. — Горький, 1975. — С.65 — 70.
4. Рябов Е.А. Гипоксия критических состояний. — М., 1988. — 285 с.
5. Хватова Е.М., Сидоркина А.И., Миронова Г.И. Нуклеотиды мозга. — М., 1987. — 204 с.

Роль макроэргических фосфатов эритроцитов крови в диагностике нарушений жизневажливых функций у больных с позамозговыми краниобазальными опухолями

Трош Р.М., Долгова М.І., Онищенко П.М.

Вивчення динаміки макроергічних фосфатів в еритроцитах змішаної венозної крові, а також динаміки субстратів і дериватів енергетичного обміну у спинномозковій рідині проведено у 81 хворого з позамозговими краниобазальними пухлинами в операційному та післяопераційному періодах.

Встановлено пошкодження енергосинтетичних функцій еритроцитів і мітохондрій клітин мозку різноманітної важкості з поглибленням цих пошкоджень на різних етапах хірургічного лікування, вплив їх на характер перебігу післяопераційного періоду.

Significance of the erythrocyte macroergic phosphates in the diagnosis of vital function disturbances in patients with extracerebral cranial base tumor

Trosh R.M., Kolgova M.I., Onyschenko P.M.

Study on macroergic phosphates changer in the venous blood erythrocytes and dynamics of energy metabolism substates and derivatives in cerebrospinal fluid (CSF) was done intra-and postoperatively in 81 patients with extracerebral tumors of cranial base.

Kisfunction of the erythrocyte and brain mitochondria energetic-synthesis was identified on different level with further deterioration and intraoperative as well as postoperative course being observed.