

Д. С. Маньковський

ФЕРМЕНТАТИВНО-МЕТАБОЛІЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ОКИСНОГО ГОМЕОСТАЗУ У ПАЦІЄНТІВ З ГІПОКСИЧНО-ІШЕМІЧНИМИ УРАЖЕННЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ НА ЕТАПАХ КАРДІОХІРУРГІЧНИХ ВТРУЧАНЬ

Д. С. Маньковський

Ферментативно-метаболическое обеспечение окислительного гомеостаза у пациентов с гипоксическими ишемическими поражениями головного мозга на этапах кардиохирургических вмешательств

D. S. Mankovskyi

Enzymatic-metabolic support of oxidative homeostasis in patients with hypoxic-ischemic brain lesions in the stages of cardiosurgical interventions

З метою вивчення особливостей ферментативного та метаболічного забезпечення окисного гомеостазу у пацієнтів з гіпоксично-ішемічними ураженнями головного мозку до та після кардіохірургічних втручань з використанням штучного кровообігу обстежено 38 пацієнтів, зокрема з ішемічним інсультом — 14 осіб, енцефалопатією — 15 осіб, тяжкою когнітивною дисфункцією — 9 осіб; діагностику неврологічного статусу виконували відповідно до клінічних протоколів. Клініко-біохімічне дослідження виконано на доопераційному (за 3—5 діб) та післяопераційному (через 5—7 діб) етапах: визначали вміст супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, каталази у еритроцитах та α -токоферолу ацетату у сироватці крові, а також продуктів перекисного окиснення ліпідів мембран клітин: дієнових кон'югатів, метаболітів нітританіону в плазмі. Застосовано варіаційну статистику, вірогідні розподіли даних з подальшим оцінюванням достовірності результатів; використано відносні біохімічні показники: метаболічний індекс, метаболічний коефіцієнт та метаболічний ефект за кожним з індикаторів. Для розрахунків застосовано стандартні методики з використанням адаптованої до середовища "Excel" програми. Отримані дані свідчать на користь формування у пацієнтів специфічного післяопераційного ферментативно-метаболического забезпечення окисного гомеостазу, що слід вважати одним з пускових механізмів гіпоксично-ішемічних уражень головного мозку. Зокрема, на рівні ферментативної ланки про-, антиоксидантного захисту та на рівні метаболічних процесів, пов'язаних з пероксидацією фосфоліпідів мембран клітин, виявлено низку достовірних метаболічних ефектів, які в узагальненому вигляді проявляються вираженням пригнічення ферментативної ланки антиоксидантного захисту та інтенсифікацією утворення первинних, вторинних продуктів окиснення і NO-залежних метаболітів.

Ключові слова: головний мозок, кардіохірургія, гіпоксично-ішемічні ураження, окисний гомеостаз

С целью изучения особенностей ферментативного и метаболического обеспечения окислительного гомеостаза у пациентов с гипоксическими ишемическими поражениями головного мозга до и после кардиохирургических вмешательств с использованием искусственного кровообращения обследовано 38 пациентов, в том числе: с ишемическим инсультом — 14 человек, энцефалопатией — 15 человек, тяжелой когнитивной дисфункцией — 9 человек; диагностику неврологического статуса выполняли в соответствии с клиническими протоколами. Клинико-биохимическое исследование выполнено на дооперационном (за 3—5 суток) и послеоперационном (через 5—7 суток) этапах: определяли содержание супероксиддисмутаза, глутатионпероксидазы, каталазы в эритроцитах и α -токоферола ацетата в сыворотке крови, а также продуктов перекисного окисления липидов мембран клеток: диеновых конъюгатов, метаболитов нитританиона в плазме. Применена вариационная статистика, вероятностное распределение данных с последующим оценением достоверности результатов; использовано относительные биохимические показатели: метаболический индекс, метаболический коэффициент и метаболический эффект по каждому из индикаторов. Для расчетов применены стандартные методики с использованием адаптированной в среде "Excel" программы. Полученные данные свидетельствуют в пользу формирования у пациентов специфического послеоперационного ферментативно-метаболического обеспечения окислительного гомеостаза, что следует рассматривать в качестве одного из пусковых механизмов гипоксическо-ишемических поражений головного мозга. В частности, на уровне ферментативного звена про-, антиоксидантной защиты и на уровне метаболических процессов, связанных с пероксидацией фосфолипидов мембран клеток, выявлен ряд достоверных метаболических эффектов, которые в обобщенном виде проявляются значительным угнетением ферментативного звена антиоксидантной защиты и интенсификацией образования первичных и вторичных продуктов окисления, а также NO-зависимых метаболитов.

Ключевые слова: головной мозг, кардиохирургия, гипоксическо-ишемические поражения, окислительный гомеостаз

To study the features of enzymatic and metabolic support of oxidative homeostasis in patients with hypoxic-ischemic brain lesions before and after cardiac surgery using artificial circulation we examined 38 patients, in particular: ischemic stroke — 14 people, encephalopathy — 15 people, severe cognitive dysfunction — 9 people; diagnosis of neurological status was performed according to clinical protocols. Clinical and biochemical study was performed at the preoperative (3—5 days) and postoperative (5—7 days) stages: determined the content of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase in erythrocytes and α -tocopherol acetate in the serum of the blood, as well as the product cells: diene conjugates, metabolites of nitritanion in plasma. Variation statistics, probabilistic distribution of data with the subsequent estimation of reliability of results are applied; relative biochemical parameters were used: metabolic index, metabolic coefficient and metabolic effect for each. Standard methods using the program adapted to the "Excel" environment were used for calculations. The obtained data support the formation of patients with specific postoperative enzymatic-metabolic support of oxidative homeostasis, which should be considered as one of the triggers of hypoxic-ischemic brain lesions. In particular, at the level of the enzymatic chain of pro-, antioxidant protection and at the level of metabolic processes associated with peroxidation of phospholipids of cell membranes, a number of significant metabolic effects were revealed, which are generalized due to secondary oxidation products and NO-dependent metabolites.

Key words: brain, cardiac surgery, hypoxic-ischemic lesions, oxidative homeostasis

Гіпоксично-ішемічні ураження (ГІУ) головного мозку (ГМ) у кардіохірургічних пацієнтів, насамперед у випадках використання штучного кровообігу (ШК), є нагальною проблемою сучасної клінічної неврології та кардіохірургії [1, 2]. Відомі дослідження з цієї проблематики акцентують увагу на ролі низки факторів ризику ГІУ ГМ: передопераційного соматичного стану [3], неврологічного статусу [4], клініко-анамнестичних та інтраопераційних факторів та можливих механізмів розвитку ішемії унаслідок кардіохірургічного втручання (КХВ) [5]. Важливо не тільки технічно успішно виконати КХВ, але і в максимальному ступені забезпечити безперервний неврологічний супровід, захистивши пацієнта від можливих ГІУ ГМ, пов'язаних із застосуванням апарата.

Біохімічні і молекулярні механізми ГІУ ГМ, що призводять до патології клітин, досить добре вивчені, і однією з основних причин патогенезу вважають розвиток окисного стресу (ОС) як неспецифічної реакції окисного гомеостазу (ОГ), тому що ГМ особливо чутливий до окисного пошкодження внаслідок його високої швидкості споживання кисню, надлишкового вмісту ліпідів та відносної недостатності антиоксидантних ферментів порівняно з іншими тканинами [6].

Ефективність функціонування гематоенцефалічного бар'єра (ГЕБ) залежить від ендотеліальних клітин, астроцитів і перичитів, порушення функцій яких спричиняє дисфункцію ГЕБ [7]. Зокрема, астроцити відіграють ключову роль у мозковому гомеостазі, вони здатні «відчувати» і модулювати середовище нейронів і активно реконструювати себе за постійно мінливих процесів у нейронах. Астроцити є ключовими клітинами нервової тканини, де відбуваються процеси споживання енергії, вивільнення нейро-медіаторів і продукування активних форм кисню [8]. Астроцити синтезують антиоксидантні молекули: глутатіон, аскорбат і супероксиддисмутази, велику кількість факторів росту і нейротрансмітерів, важливих для виживання клітин мозку під час гіпоксії. Саме тому стан ферментативного забезпечення антиоксидантного захисту (АОЗ) та накопичення первинних та вторинних продуктів окиснення є визначально важливим в контексті пошкодження ГЕБ та формування ГІУ ГМ [3, 4, 9].

Мета дослідження полягала у вивченні особливостей ферментативного та метаболічного забезпечення окисного гомеостазу у пацієнтів з гіпоксично-ішемічними ураженнями головного мозку до та після кардіохірургічного втручання з використанням штучного кровообігу.

У дослідженні обстежено 38 пацієнтів з ГІУ ГМ після КХВ з використанням ШК, зокрема з ішемічним інсультом — 14 осіб, енцефалопатією — 15 осіб, тяжкою когнітивною дисфункцією — 9 осіб; діагностику неврологічного статусу виконували відповідно до клінічних протоколів. Клініко-біохімічне дослідження виконано на доопераційному (за 3—5 діб) та післяопераційному (через 5—7 діб) етапах КХВ: визначали вміст супероксиддисмутази (СОД) —

неферментним методом, глутатіонпероксидази (ГПР) — за методикою Г. Б. Гаврилова, каталази (КАТ) у еритроцитах та α -токоферолу ацетату (α -ТФА) у сироватці крові — спектрофотометрично [10]. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) мембран клітин визначено за методикою І. Д. Стальної, дієнових кон'югатів (ДК) — за методикою, що адаптована А. Б. Косухіним, метаболітів нітританіону (NO_{MET}) в плазмі — за методикою Грисса [10]. Застосовано відомі методи статистики та клінічної інформатики, зокрема: варіаційну статистику, вірогіднісний розподіл даних з наступним оцінюванням достовірності результатів на етапах КХВ; як базові критерії оцінки змін ферментативної та метаболічної ланок ОГ використано відносні біохімічні показники стану ОГ та метаболічний індекс (МІ — співвідношення їх вмісту до та після КХВ), метаболічний коефіцієнт ($\text{МК} = -\text{MI} (\log_2 \text{MI})$) та метаболічний ефект (МЕ) по кожному з біохімічних показників. Для розрахунків застосовано стандартні методики з використанням адаптованої до середовища "Excel" програми [11].

У післяопераційному періоді, на рівні ферментативної ланки динаміка змін характеризується достовірною ($p < 0,001$) зміною активності СОД, КАТ, ГПР, а також рівня вмісту ендогенного α -ТФА. Найбільший ефект ($p < 0,001$) зареєстровано у вигляді зменшення практично вдвічі активності КАТ — з $(12,63 \pm 0,246)$ до $(6,171 \pm 0,035)$ у.о./хв; $\text{MI}_{\text{КАТ}} = 2,06 \pm 0,04$, що забезпечило найбільшу (перше рангове місце) інформативність метаболічних змін, що становить $\text{МК} = 0,672 \pm 0,031$ біт та найбільш вагомий внесок у структуру метаболічних розладів — $(15,4 \pm 0,6) \%$. Друге рангове місце за вираженістю змін в післяопераційному періоді ($p < 0,001$) належить ендогенному α -ТФА, вміст якого зменшився з $(2,050 \pm 0,023)$ до $(1,060 \pm 0,007)$ мкмоль/л ($\text{MI}_{\text{ТФА}} = 1,94 \pm 0,02$), що забезпечило клінічну інформативність метаболічних змін на рівні $(0,562 \pm 0,016)$ біт, а внесок у загальну структуру метаболічних змін — $(14,7 \pm 0,5) \%$.

Виявлені також значущі зміни ($p < 0,001$) в післяопераційному періоді КХВ — зниження рівня з $(59,04 \pm 0,74)$ до $(32,26 \pm 0,16)$ у.о./хв активності глутатіонпероксидази ($\text{MI}_{\text{ГПР}} = 1,84 \pm 0,03$), клінічна інформативність метаболічних змін якої та внесок у загальну структуру метаболічних змін досить вагомі та достовірно значущі (відповідно $(0,495 \pm 0,018)$ біт та $(11,9 \pm 0,3) \%$). Менш вираженим, але достовірним ($p < 0,010$) зареєстровано зниження активності СОД: до КХВ — $(226,1 \pm 3,394)$, після — $(158,8 \pm 0,965)$ у.о./хв, що забезпечило клінічну інформативність на рівні $(0,224 \pm 0,011)$ біт, а внесок у загальну структуру метаболічних змін — $(5,3 \pm 0,2) \%$.

Загалом, в системі показників про-, антиоксидантного захисту і стану окиснення фосфоліпідів мембран клітин вираженість зменшення показників активності ферментативної ланки — найбільш значуща, що свідчить на користь формування реакцій функціональної чи метаболічної компенсації в післяопераційному періоді КХВ.

Стан про-, антиоксидантного захисту і окислення фосфоліпідів мембран клітин у пацієнтів з гіпоксично-ішемічними ураженнями головного мозку до та після кардіохірургічних втручань

Стан ферментативної та метаболічної ланок окисного гомеостазу				Показники			Ранг змін, р
				MI	МК	ME	
Ферментативна ланка	Активність СОД, у.о./хв	після	158,8 ± 0,965	1,42 ± 0,02	0,224 ± 0,011	5,3 ± 0,2	4 ↓↓
		до	226,1 ± 3,394 ^a				
	Активність КАТ, у.о./хв	після	6,171 ± 0,035	2,06 ± 0,04	0,672 ± 0,031	15,4 ± 0,6	1 ↓↓
		до	12,63 ± 0,24 ^a				
	Активність ГПР, у.о./хв	після	32,26 ± 0,16	1,84 ± 0,03	0,495 ± 0,018	11,9 ± 0,3	3 ↓↓
		до	59,04 ± 0,74 ^a				
	Вміст α-ТФА, мкмоль/дм ³	після	1,060 ± 0,007	1,94 ± 0,02	0,562 ± 0,016	14,7 ± 0,5	2 ↓↓
		до	2,050 ± 0,023 ^a				
Ферментативна ланка про-, антиоксидантного захисту					0,488 ± 0,015	11,8 ± 0,2	—
Продукти ПОЛ, NO _{МЕТ}	Вміст ДК, мкмоль/дм ³	після	0,513 ± 0,007	0,56 ± 0,02	0,128 ± 0,004	3,0 ± 0,1	8 ↑↑
		до	0,286 ± 0,009 ^a				
	Вміст МДА, мкмоль/дм ³	після	0,815 ± 0,002	0,50 ± 0,02	0,138 ± 0,004	3,4 ± 0,1	5 ↑↑
		до	0,408 ± 0,014 ^a				
	Вміст ТК, мкмоль/дм ³	після	0,320 ± 0,004	0,54 ± 0,02	0,131 ± 0,004	3,3 ± 0,1	6 ↑↑
		до	0,174 ± 0,006 ^a				
	Вміст NO _{МЕТ} , мкмоль/дм ³	після	31,50 ± 0,21	0,54 ± 0,01	0,130 ± 0,003	3,2 ± 0,1	7 ↑↑
		до	16,87 ± 0,18 ^a				
Метаболічна ланка про-, антиоксидантного захисту					0,132 ± 0,003	3,2 ± 0,1	—

Примітки: р — ранг змін в загальному МЕ (стрілкою — напрямок змін показника); ^a — достовірність ефекту, при $p < 0,001$

Зміни на рівні метаболічного забезпечення, пов'язаного з ПОЛ мембран клітин, характеризуються достовірним ($p < 0,05$) підвищенням вмісту NO-залежних метаболітів, проміжних та кінцевих продуктів ПОЛ. Зокрема, найбільш виражено збільшився вміст МДА (до КХВ — $(0,408 \pm 0,014)$, після — $(0,815 \pm 0,002)$ мкмоль/дм³), що відображається відповідним метаболічним індексом ($MI_{MDA} = 0,50 \pm 0,02$) та клінічною інформативністю метаболічних змін на рівні $(0,138 \pm 0,004)$ біт.

Аналогічні закономірності у формуванні метаболічного дисбалансу виявлені і для інших показників стану ПОЛ; зокрема виражено збільшився вміст ДК (до КХВ — $(0,286 \pm 0,009)$, після — $(0,513 \pm 0,007)$ мкмоль/дм³), що відображається відповідним метаболічним індексом ($MI_{DK} = 0,56 \pm 0,02$) та інформативністю метаболічних змін на рівні $(0,128 \pm 0,004)$ біт. Окрім того, зареєстровано підвищення вмісту ТК (до КХВ — $(0,174 \pm 0,006)$, після — $(0,320 \pm 0,004)$ мкмоль/дм³), що також відображається відповідним метаболічним індексом ($MI_{TK} = 0,54 \pm 0,02$) та клінічною інформативністю метаболічних змін на рівні $(0,131 \pm 0,004)$ біт.

Вміст NO_{МЕТ} характеризувався їх накопиченням у післяопераційному періоді: до КХВ — $(16,87 \pm 0,18)$, після — $(31,50 \pm 0,21)$ мкмоль/дм³, що відображається відповідним метаболічним індексом ($MI_{NO} = 0,54 \pm 0,01$) та клінічною інформативністю метаболічних змін на рівні $(0,130 \pm 0,003)$ біт.

Отримані дані свідчать на користь формування у пацієнтів з КХВ специфічного післяопераційного ферментативно-метаболічного забезпечення ОГ, що слід вважати одним з пускових механізмів ГІУ ГМ.

Проведене дослідження дало змогу дійти таких висновків.

1. У пацієнтів з ГІУ ГМ після КХВ з використанням ШК відбуваються значущі зміни на рівні ферментативної ланки про-, антиоксидантного захисту та на рівні метаболічних процесів, пов'язаних з пероксидацією фосфоліпідів мембран клітин, що проявляється низкою достовірних метаболічних ефектів, які в узагальненому вигляді проявляються вираженням пригнічення ферментативної ланки антиоксидантного захисту та інтенсифікацією утворення і первинних і вторинних продуктів окиснення і NO-залежних метаболітів.

2. Загальний внесок ферментативного та метаболічного компонентів окисного гомеостазу у формування його розладів — різниться ($p < 0,05$) і становить: ферментативна ланка — $(11,8 \pm 0,2)$ %, метаболічна ланка — $(3,2 \pm 0,1)$ %, демонструючи первісно більш значущу роль змін ферментативного забезпечення, що може бути використано для ранньої діагностики та прогнозування ГІУ ГМ.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з вивченням змін на рівні мітохондріальної біоенергетики та активності окисної модифікації білків як можливих механізмів формування ГІУ ГМ в післяопераційному періоді КХВ з використанням ШК.

Список літератури

1. Порушення функції центральної нервової системи після операцій зі штучним кровообігом у пацієнтів з низькою фракцією викиду лівого шлуночка: аналіз клінічного досвіду / Тодуров Б. М., Кузьмич І. М., Тарабрін О. О. [та ін.] // Клінічна анестезіологія та інтенсивна терапія. 2015. № 2 (6). С. 82—90. URL: <http://repo.odmu.edu.ua:80/xmlui/handle/123456789/2260>.
2. Minimized extracorporeal circulation does not impair cognitive brain function after coronary artery bypass grafting / D. Reineke, B. Winkler, T. Konig [et al.] // Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery. 2015. Vol. 20 (1). P. 68—73. DOI: <https://doi.org/10.1093/icvts/ivu341>.
3. Маньковський Д. С. Гіпоксично-ішемічні ураження головного мозку: прогностична цінність клініко-анамнестичних факторів для оцінки їх ризику при кардіохірургічних втручаннях з використанням штучного кровообігу / Д. С. Маньковський // The world of science and innovation. 12th International scientific and practical conference (01—03 July 2021, London, United Kingdom). Cognum Publishing House. London, United Kingdom? 2021. P. 232—237. URL: <https://dspace.uzhnu.edu.ua/jspui/bitstream/lib/35892/1/THE-WORLD-OF-SCIENCE-AND-INNOVATION-1-3.07.2021.pdf>.
4. Маньковський Д. С. Церебральний кровообіг та фактори ризику формування гіпоксично-ішемічних уражень головного мозку у кардіохірургічних пацієнтів при використанні штучного кровообігу / Д. С. Маньковський // Збірник тез наукових робіт міжнар. науково-практ. конференції (м. Київ, 9—10 липня 2021 р.). Київ : ГО «Київський медичний науковий центр», 2021. С. 22—26.
5. An N. Difficulties in Understanding Postoperative Cognitive Dysfunction / N. An, W. F. Yu // Journal of Anesthesia & Perioperative Medicine. 2017. Vol. 4. P. 87—94.
6. Astrocyte-derived adenosine is central to the hypnogenic effect of glucose / E. Scharbarg, M. Daenens, F. Lemaitre // Scientific Reports. 2016. Vol. 6. P. 19107. DOI: 10.1038/srep19107.
7. A pilot study of cerebral tissue oxygenation and postoperative cognitive dysfunction among patients undergoing coronary artery bypass grafting randomised to surgery with or without cardiopulmonary bypass / W. F. Kok, A. E. van Harten, B. M. Koene [et al.] // Anaesthesia. 2014. Vol. 69 (6). P. 613—622. DOI: 10.1111/anae.12634.
8. Остапченко Л. І., Гребіник Д. М. Біохімічні механізми ушкодження клітин: молекулярні механізми клітинної загибелі : курс лекцій зі спецкурсу. Київ : ННЦ «Інститут біології», 2014. 100 с. URL: https://biology.univ.kiev.ua/images/stories/Kafedry/Biochimiya/Biblioteka/8_Kurs_lektsiy_Biochimichni_mechanizmy_ushkodzhennya_klityn.pdf.
9. Маньковський Д. С. Діагностичний профіль факторів ризику гіпоксично-ішемічних уражень головного мозку при кардіохірургічних втручаннях зі штучним кровообігом / Д. С. Маньковський // Results of modern scientific research and development. Proceedings of the 4th International scientific and practical conference (28—30 June 2021, Madrid, Spain). Barca Academy Publishing, 2021. P. 72—78. URL: <https://sci-conf.com.ua/wp-content/uploads/2021/06/RESULTS-OF-MODERN-SCIENTIFIC-RESEARCH-AND-DEVELOPMENT-28-30.06.21.pdf>.
10. Щербань Н. Г., Горбач Т. І., Гусева Н. Р. Лабораторные методики для изучения состояния антиоксидантной системы организма и уровня перекисного окисления липидов: методические рекомендации для докторантов, аспирантов, магистрантов, исполнителей НИР. Харьков : ХНМУ, 2014. 36 с.
11. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. Киев : «Моріон», 2000. 320 с.

Надійшла до редакції 30.07.2021

МАНЬКОВСЬКИЙ Дмитро Станіславович, кандидат медичних наук, старший науковий співробітник відділу діагностики патології міокарду та магістральних судин, лікар-невролог відділення інтенсивної терапії для дорослих Державної установи «Інститут серця Міністерства охорони здоров'я України», м. Київ, Україна; e-mail: mds.anest7777@gmail.com

MANKOVSKYI Dmytro, MD, PhD, Senior Researcher of the Department of diagnostics of myocardial pathology and main vessels, Physician-neurologist of the Department of Intensive Care for Adults of the State Institution "Heart Institute of the Ministry of Health of Ukraine", Kyiv, Ukraine; e-mail: mds.anest7777@gmail.com