

УДК 616.133.33 – 009.861:616.831-005.4-08:616.831.957-005.1

© Коллектив авторов, 2012.

ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ МАРКЕРОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ В ОСТРЫЙ ПЕРИОД АНЕВРИЗМАТИЧЕСКОГО СУБАРАХНОИДАЛЬНОГО КРОВОИЗЛИЯНИЯ

М.В. Глоба, И.Г. Васильева, Н.Г. Чопик, Н.Д. Сницар

ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМНУ», отделение функциональной диагностики (зав. – д.мед.н. Л.Л. Чеботарева), отдел нейробиохимии (зав. – к.б.н. И.Г. Васильева), г. Киев.

RESEARCH ON THE LEVEL OF FUNCTIONAL CONDITION OF THE VASCULAR SYSTEM MARKERS IN THE ACUTE PERIOD OF SUBARACHNOID HAEMORRHAGE

M.V. Globa, I.G. Vasylyjeva, N.G. Chopik, N.D. Snitsar

SUMMARY

The level of autoantibodies to antigens of platelets (TrM-03) and vessels endothelium antigens (c-ANCA – anti-neutrophil cytoplasmic antibody; NOS – nitric oxide synthase; PAPP-A – Pregnancy-Associated Plasma protein, plasminogen/angioistatin, collagen) was determined in 26 patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage. The indicators of autoantibodies in all the patients were different from the ones in the control group. Hyperproduction of antibodies was mainly related to PAPP-A and NOS. Abnormally low autoantibody levels were registered to TrM-03 and plasminogen-angioistatin antigens. Reduced indices of mean immunoreactivity were observed in patients in grave condition.

ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ МАРКЕРІВ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ СУДИННОЇ СИСТЕМИ В ГОСТРИЙ ПЕРІОД АНЕВРИЗМАТИЧНОГО СУБАРАХНОЇДАЛЬНОГО КРОВОВИЛИВУ

М.В. Глоба, І.Г. Васильєва, Н.Г. Чопик, Н.Д. Сницар

РЕЗЮМЕ

У 26 хворих з аневризматичним субарахноїдальним крововиливом досліджували рівень аутоантитіл до антигенів ендотелію судин (c-ANCA – anti-neutrophil cytoplasmic antibody; NOS – нітрідоксидсинтаза; PAPP-A – білок, цинк-утримуюча матрична металопротеїназа; плазміноген/ангіостатин; колаген), а також тромбоцитів (TrM-03). У всіх хворих показники аутоантитіл відрізнялись від групи контролю. Гіперпродукція переважно стосувалась антитіл до PAPP-A та NOS. Аномально низький рівень аутоантитіл реєструвався до антигенів TrM-03 та плазміногену/ангіостатину. У осіб з тяжким перебігом захворювання відзначались знижені рівні середньої імунореактивності організму.

Ключевые слова: субарахноидальное кровоизлияние, церебральный вазоспазм, уровень аутоантител к антигенам эндотелия сосудов.

Возникновение субарахноидального кровоизлияния (САК) при цереброваскулярной патологии в 50-60% случаев обусловлено разрывом артериальных аневризм, частота случаев в различных странах варьирует от 2 до 22,5 на 100 000 (по данным World Health Organization stroke study, 2000). Одним из грозных осложнений аневризматического САК является церебральный вазоспазм (постгеморрагическая констриктивно-стенотическая артериопатия), который ангиографически диагностируют в 30-70% наблюдений, с типичным началом на 3-5 день и максимальным развитием на 5-14 сутки после геморрагии. Церебральный вазоспазм (ЦВС) вызывает нарушение мозгового кровообращения, у трети больных клинически проявляясь отсроченными неврологическими нарушениями, в 15-20% случаев приводя к стойкой инвалидизации или смерти [4]. В настоящее время механизм возникновения ЦВС при аневризматическом кровоизлиянии окончательно не ясен. В основе структурных и патофизиологических механизмов, которые могут привести к сужению

просвета сосудов, рассматривают гемолиз эритроцитов с выходом в кровь вазоактивных веществ, таких как оксигемоглобин и продукты его распада. Основным патогенетическим фактором является повреждение эндотелия, в функции которого входит наряду с энзиматической инактивацией ряда веществ, высвобождение вазодилататорных и вазоконстрикторных субстанций. Оксигемоглобин индуцирует нарушение синтеза эндотелийзависимых факторов дилатации, ведущим среди которых является оксид азота (NO), его синтез из L-аргинина катализируется ферментом нитридоксидсинтазой (NOS). Дисбаланс между продуцированием NO и синтезом наиболее сильного вазоконстриктора - эндотелина - становится ключевым фактором в развитии сосудистого спазма [1,5,6]. В экспериментах показано, что в артериях с поврежденным эндотелием ответ на вазоконстрикторные агенты значительно увеличен. Установлено, что эндотелий, выделяя NO, принимает участие в синтезе коллагена гладкомышечного комплекса, определяя количество и соотношение коллагенов типа 1 и 3. Ингибирование

этой функции эндотелия приводит к активации синтеза коллагена, накоплению его в сосудистой стенке и фиброзу стенки [3].

На сегодняшний день имеются убедительные данные об участии в патогенезе цереброваскулярных заболеваний антител к факторам-регуляторам роста, выживаемости и гибели эндотелиальных, нервных и глиальных клеток, поэтому в последние годы проводится изучение иммунологических аспектов аневризматического САК.

Целью работы был анализ патологических изменений в стенках сосудов у больных в острый период аневризматического САК путем оценки продукции аутоантител (ауто-АТ) к антигенам эндотелия сосудов и тромбоцитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены у 26 больных (12 женщин, 14 мужчин) с острым нарушением мозгового кровообращения по геморрагическому типу вследствие САК, обусловленного разрывом церебральной аневризмы. Больные готовились к хирургическому лечению, направленному на выключение аневризмы. Средний возраст больных $43,2 \pm 8,9$ года (от 27 до 55 лет). Все больные поступили на лечение в первые 2 недели после геморрагии: 5 больных - на 1-й неделе (3-7 сутки), 21 больной - на 2-й (8-14 сутки). Комплекс методов обследования, помимо клинических, включал нейровизуализирующие - спиральную КТ мозга, церебральную ангиографию (АГ), ультрасонографические (УС)- дуплексное сканирование сосудов головы и шеи и транскраниальную доплерографию. Верификацию ЦВС проводили по данным АГ при поступлении и с помощью УС в динамике лечения, выделяя градации умеренного и выраженного ЦВС. Забор крови производился из центральной вены на 1-2 день от поступления. Исследование уровня ауто-АТ к антигенам эндотелия сосудов и тромбоцитов осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием диагностических наборов "ЭЛИ-Ангио-ТЕСТ" (Россия) по методике А.Б.Полетаева [2]. В качестве контрольных значений принимались значения уровня ауто-АТ 10 здоровых лиц такой же возрастной группы. Для оценки состояния сосудистой системы определяли уровень ауто-АТ к антигенам тромбоцитов (ТгМ-03), а также эндотелия сосудов (с-ANCA - anti-neutrophil cytoplasmic antibody; NOS - нитридоксидсинтаза; PAPP-A - белок, цинк-содержащая матричная металлопротеиназа; плазминоген/ангиостатин; коллаген). Оценка результатов проводилась фотометрически на фотометре вертикального сканирования. Иммунореактивность анализируемых образцов сывороток крови с каждым из антигенов

рассчитывали относительно контрольных сывороток с учетом нормализованного индивидуального среднего уровня иммунореактивности и выражали в условных единицах (у.е.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Тяжесть состояния больных при поступлении по шкале Всемирной федерации нейрохирургов (WFNS) соответствовала: у 19 пациентов - II-й степени, у 5 - III-й, у одного больного - IV-й, один пациент поступил в удовлетворительном состоянии (I степень). 23 пациента страдали артериальной гипертензией, 11 - сопутствующей ИБС. Всем больным по данным СКТ мозга установлено наличие САК: у 16 больных - неосложненного характера (у 5 - II-го типа по шкале Fisher, у 11 - III-го типа), в 10 наблюдениях - осложненного паренхиматозным и/или внутрижелудочковым компонентом (IV-й тип). Локализация разрыва аневризмы соответствовала каротидному бассейну у 24 больных, вертебрально-базилярному бассейну (ВББ) - у 2-х. По данным АГ и УС у 24 больных зарегистрирован ЦВС: у 15 - умеренный, у 9 - выраженный. В большинстве случаев спазм распространялся на базальные сегменты средней и передней мозговых артерий с одной или двух сторон, в 3-х наблюдениях - также на сегменты ВББ (тотальный ЦВС). Характерным было снижение индексов периферического сосудистого сопротивления, которое регистрировалось по данным УС у 9 (60%) больных с умеренным и у всех (100%) больных с выраженным ЦВС базальных сегментов, что отражало компенсаторную периферическую вазодилатацию.

Результаты исследования уровня ауто-АТ показали следующее. Диапазон уровней всех исследованных показателей в контрольной группе составил от -21 до +10 у.е. (диапазон средних уровней антител к отдельным антигенам - от -7,1 до +0,3). Из всех обследованных больных с САК ни у одного показатели всех ауто-АТ не соответствовали таковым в контрольной группе. У преобладающего большинства отмечалась гиперпродукция, реже - угнетение выработки одного и более видов АТ. Гиперпродукция преимущественно касалась АТ к PAPP-A и NOS. Аномально низкое содержание ауто-АТ чаще всего регистрировалось к антигенам ТгМ-03 и плазминогену/ангиостатину (табл. 1).

Так, высокие уровни к NOS обнаружены у 15 из 26 обследованных больных (55,7%), к белку PAPP-A - у 23 из 26 (88,5%). Диапазон и средние уровни указанных маркеров для NOS составляли соответственно от -13 до +63 у.е. ($M = +27,6$), что превышает средний уровень этого показателя в контрольной группе на 28%. При этом, более чем у половины больных содержание АТ к NOS превышало физиологический уровень на 23-63%. Результаты исследования содержания ауто-АТ к PAPP-A в

Таблица 1

Уровень аутоантител к антигенам сосудистой системы в острый период аневризматического субарахноидального кровоизлияния

Показатель	Контрольная группа (n=10)		Пациенты с САК (n=26)			
	Диапазон уровней показателя (у.е.)	Среднее по группе (M±m)	Диапазон уровней показателя (у.е.)	Среднее по группе (M±m)	Количество больных (%) с аномально высокой продукцией АТ (>20 у.е.)	Количество больных (%) с аномально низкой продукцией АТ (<30 у.е.)
TrM-03	-13...+6	-1,5±2,4	-51...+8	-32,7±1,8	0	61,5
ANCA	-17...+4	-5,8±2,3	-31...+31	-10,2±3,1	7,6	3,8
NOS	-13...+7	+0,1±2,1	-13...+63	+27,6±4,6	57,7	0
PAPP-A	-16...+5	-3,6±2,9	+6...+125	+61,7±6,3	88,5	0
Плазминоген/ ангиостатин	-21...+7	-7,1±3,1	-68...+3	-31,0±3,4	0	61,5
Коллаген	-21...+4	-7,0±3,1	-69...+57	-16,2±5,9	15,4	34,6
Средняя иммунореактивность	-14...+10	+0,3±2,6	-47...+57	-0,2±5,1	34,6	11,5

Примечание: М - среднее, m - стандартная ошибка средних.

сыворотке крови больных с САК обнаружили наиболее значимые его отклонения от уровня контрольных показателей: от +6 до +125 у.е. (M=+61). У 23 из 26 обследованных уровень этих ауто-АТ превышал таковой в контрольной группе на 22-125%, что свидетельствует о выраженных патологических процессах в сосудистой системе.

Полученные результаты соответствуют тому факту, что ряд провоспалительных и антикоагулянтных свойств эндотелия связан с молекулой NO. При заболеваниях избыток NO отвечает за увеличение периферической вазодилатации, а его недостаток может приводить к значительным повреждениям сосудистой стенки. Синтез PAPP-A повышается в тканях в ответ на повреждение, а его биологическое действие опосредовано через IGF-1, который способствует восстановлению поврежденных тканей, повышая чувствительность клеток к инсулину, стимулируя неоангиогенез, вазодилатацию и цитопротективное действие. Преходящая ишемия и повреждение эндотелия сосудов также приводят к активации этого механизма защиты.

Характер и выраженность изменений уровней ауто-АТ к остальным исследованным антигенам, значительно отличался от NOS и PAPP-A: средние уровни ауто-АТ к TrM-03, с-ANCA, плазминогену/ ангиостатину и коллагену в сыворотке большинства

пациентов были значительно понижены по сравнению с уровнями контрольных сывороток. Недостаточная продукция специфических аутоАТ может расцениваться как дезадаптивная реакция той или иной системы, неспецифическое генерализованное снижение содержания ауто-АТ приводит к значительному снижению средней индивидуальной иммунореактивности организма. Полученные результаты можно рассматривать также с позиции снижения эффективности клиренса организма от продуктов распада отмирающих клеток и нарушения регенераторных процессов.

При сопоставлении выявленных значений уровней ауто-АТ с клинико-инструментальными данными следует отметить, что не выявлено достоверных корреляций с возрастом, сроком от начала САК, наличием ЦВС, а также со степенью его выраженности. Так, средний показатель уровня ауто-АТ к NOS у больных с выраженным ЦВС составил 27,9 у.е., с умеренным ЦВС – 29,4 у.е., без ЦВС – 13 у.е. (табл.2).

Анализ клинического течения САК показал более высокие уровни сывороточных ауто-АТ у больных с тяжелым течением и исходом заболевания в сравнении с больными средней тяжести, причем, высокие уровни АТ у этих больных выявлялись к двум и более антигенам. Кроме того, у большего числа лиц с тяжелым течением заболевания отмечались

Таблица 2

Характер ЦВС и показатели ауто-АТ к NOS у обследованных больных

Тяжесть ЦВС, количество больных	Аномально высокие уровни ауто-АТ (>20 у.е.)	
	количество наблюдений, %	Среднее значение, у.е. (M±m)
выраженный, n=9	55,5	27,9±8,2
умеренный, n=15	60,0	29,4±5,8
отсутствует, n=2	50,0	13±26,2

сниженные уровни средней иммунореактивности организма (табл.3).

Таким образом, выявленные повышенные значения уровней ауто-АТ к антигенам NOS и PAPP-A у больных с аневризматическим САК могут расцениваться, с одной стороны, как маркеры острого поражения сосудистой стенки, с другой - как результат длительного повышения ауто-АТ вследствие вовлечения в патологический процесс (сопутствующая артериальная гипертензия, ИБС).

Отсутствие четкой привязанности уровней ауто-АТ к выраженности ЦВС предполагает влияние на тяжесть вазоспазма и других факторов. Трактовка этих фактов затруднена как вследствие отсутствия подобных данных в литературе, так и вследствие сложности патогенеза ЦВС. Перспективы дальнейших нейроиммунологических исследований в этом направлении можно видеть в изучении широкого круга маркеров при подборе более однородных групп пациентов.

Таблица 3

Уровни ауто-АТ и иммунореактивности у больных с различной тяжестью состояния

Аномально высокие уровни ауто-АТ	Состояние больных (шкала EFNS)					
	Тяжелое (III-IV), n=7		Средней тяжести (II), n=18		Удовлетворительное (I), n=1	
	Кол-во (%) наблюдений	Среднее значение	Кол-во (%) Наблюдений	Среднее значение	Кол-во (%) наблюдений	Среднее значение
NOS	6 (85,6%)	35,9	10 (55,5%)	26,6	-	-13
PAPP-A	7 (100%)	69,4	15 (83,3%)	56,1	1 (100%)	110
Коллаген	2 (28,5%)	-21,5	3 (16,6%)	-16,3	1 (100%)	26
Снижение иммунореактивности	5 (71,4%)	-6,28	8 (44,4%)	0,66	-	47

ВЫВОДЫ

У всех больных в острый период аневризматического САК показатели ауто-АТ отличались от таковых контрольной группы. Гиперпродукция преимущественно касалась АТ к PAPP-A и NOS, показатели были выше у больных с тяжелым течением заболевания. Аномально низкое содержание ауто-АТ чаще регистрировалось к антигенам TgM-03 и плазминогену/ангиостатину. Не выявлено корреляций уровней ауто-АТ с возрастом, сроком от начала САК, наличием и степенью выраженности ЦВС. У лиц с тяжелым течением заболевания отмечались сниженные уровни средней иммунореактивности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зозуля Ю.А. Церебральный вазоспазм после субарахноидальной геморрагии. Молекулярные аспекты эндотелиальной дисфункции (обзор литературы)/ Ю.А.Зозуля, Л.Н.Сенько// Укр.нейрохир.журн., -№1, - 2001, - с.3-16.

2. Кузьменко Л.Г. Методы группы ЭЛИ-Тест в клинической лабораторной практике/ Л.Г.Кузьменко, А.Б. Полетаев // М.: Мед. информационное агентство, - 2004. - 46с.

3. Сосудистый спазм при субарахноидальном кровоизлиянии/ В.В.Крылов, С.А.Гусев, Г.П.Титова, А.С.Гусев. - М.: Аким, 2001. - 208 с.

4. Guidelines for the Management of Aneurysmal Subarachnoid hemorrhage/J.B. Bederson, E. Sander Connolly, Jr, H. Hunt Batjer [et al.]//Stroke, - 2009. - N40. - P.994-1025.

5. Pluta R.M. Delayed cerebral vasospasm and nitric oxide: review, new hypothesis and proposed treatment/ Pharmacol. Ther., - 2005, V.105: 23-56.

6. Suhardja A. Mechanisms of disease: roles of nitric oxide and endothelin-1 in delayed cerebral vasospasm produced by aneurysmal subarachnoid hemorrhage/ Nat.Clin.Pract.Cardiovasc.Med, 2004. - V. 1: 110-116.