

УДК 61

## ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКОВОГО СОСТАВА ЛИКВОРА ПАЦИЕНТОВ С НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ МЕТОДОМ ТЕРМОИМПЕДАНСМЕТРИИ

<sup>1</sup>Иванова Н.Е., <sup>2</sup>Шадрин Е.Б., <sup>1</sup>Васькова Н.Л., <sup>3</sup>Пашкевич М.Э.

<sup>1</sup>ФГУ «Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт  
им. проф. А.Л. Поленова Минздрава РФ», Санкт-Петербург,  
e-mail: ivamel@yandex.ru, natyut@yandex.ru;

<sup>2</sup>ФГБУ «Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН»,  
Санкт-Петербург, e-mail: shard.solid@mail.ioffe.ru;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный политехнический университет»,  
Санкт-Петербург, e-mail: marpash@yandex.ru

Проведен анализ 147 наблюдений с различными нейрохирургическими заболеваниями (эпилепсия, черепно-мозговая травма, ишемические и геморрагические инсульты, опухоли головного мозга). Исследование термоимпедансметрии ликвора производилось с помощью установки для измерения температурной зависимости электрического импеданса кюветы с исследуемой жидкостью. Показано, что параметры фазового перехода в ликворе коррелируют с содержанием белка в ликворе и что с увеличением концентрации белка в ликворе увеличиваются коэффициенты корреляции. Сделан вывод о том, что показатели термоимпедансметрии отражают степень поражения головного мозга и могут служить диагностическими и прогностическими критериями.

**Ключевые слова:** белок, фазовый переход, термоимпедансметрия, нейрохирургические заболевания, ликвор

## THE STUDY OF THE PROTEIN COMPOSITION OF CEREBROSPINAL FLUID OF PATIENTS WITH NEUROSURGICAL PATHOLOGY BY TERMOINDUSTRY METHOD

<sup>1</sup>Ivanova N.E., <sup>2</sup>Shadrin E.B., <sup>1</sup>Vaskova N.L., <sup>3</sup>Pashkevich M.E.

<sup>1</sup>Russian A.L. Polenov Neurosurgical Institute, Saint-Petersburg,  
e-mail: ivamel@yandex.ru, natyut@yandex.ru;

<sup>2</sup>Ioffe Physical-Technical Institute of the Russian Academy of Sciences,  
Saint-Petersburg, e-mail shard.solid@mail.ioffe.ru;

<sup>3</sup>Federal state educational institute of higher professional education  
«Saint-Petersburg state Polytechnic University», e-mail: marpash@yandex.ru

The analysis of 147 observations on patients with various neurosurgical diseases (epilepsy, traumatic brain injury, ischemic and hemorrhagic strokes, brain tumors) is performed. The termoindustry study of liquor was carried out using the setup for measuring the temperature dependence of the electrical impedance of the cell with the investigated liquid. It is shown that the parameters of the phase transition in cerebrospinal fluid correlate with protein content in the CSF and that with increasing concentration of protein in the CSF the correlation coefficients increased. The conclusion is that the termoindustry parameters reflect the degree of brain lesions and can use as diagnostic and prognostic criteria.

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

На современном этапе благодаря развитию фундаментальных наук стало возможным более информативно и точно изучать изменения общего белка и белкового состава ликвора у пациентов с патологией центральной нервной системы для постановки диагноза, определения стадии и степени тяжести процесса, составления прогноза исхода заболевания, а также выявления степени нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера [2, 3; 8].

В настоящее время проводятся исследования, цель которых состоит в выявлении наличия в спинномозговой жидкости белковых маркеров ишемического и геморрагического инсульта, ЧМТ, эпилепсии, опухолей

ЦНС, что необходимо для дифференциальной диагностики и прогнозирования развития процесса [4; 5:6, 7, 9]. Для исследования белков в ликворе используют разнообразные биохимические и иммунологические методы. Однако большинство использованных методов имеет ограниченную доступность для применения в клинике.

В то же время, биофизический подход к изучению биологических жидкостей, частным случаем которого является термоимпедансметрия (ТИМ), позволяет получить новую информацию о свойствах ликвора, изменении белковых молекул в норме и патологии, помочь в диагностике и дальнейшем прогнозе развития заболевания [1].

**Цель работы.** Выработка на базе метода термоимпедансметрии ликвора диагностических и прогностических критериев, определяющих степень поражения головного мозга, проницаемость ГЭБ, прогноз течения и исходы при различной нейрохирургической патологии.

**Материалы и методы исследования**

Проведен анализ 147 наблюдений с различными нейрохирургическими заболеваниями: 62 (41,9%) наблюдения с черепно-мозговой травмой (из них 28 наблюдений в компенсированном состоянии, 21 наблюдение в субкомпенсированном, 13 – в декомпенсированном); 27 наблюдений (18,7%) с опухолями головного и спинного мозга (из них 17 наблюдений с опухолями низкой степени злокачественности, 11 – высокой степени злокачественности); 29 наблюдений (19,6%) с сосудистыми заболеваниями ЦНС (13 наблюдений – с ишемическими поражениями, 16 – геморрагическими); 29(19,%) наблюдений – с эпилепсией. Пациентам с ишемическими поражениями головного мозга проводилась ликворсорбция с лечебной целью. Средний возраст пациентов  $43,89 \pm 16,13$  лет, 47 наблюдений составили женщины, 101 – мужчины.

У всех пациентов проводился неврологический осмотр, балльная оценка степени тяжести состояния в зависимости от патологии (шкала ком Глазго, шкала Карновского, шкала инсультов NIHSS, шкала Рэнкин), МРТ и КТ головного мозга, ЭЭГ, дуплексное сканирование сосудов головного мозга, анализ ликвора (количественное определение общего белка, цитоза, эритроцитов). Пациентам с опухолями головного мозга интраоперационно осуществлялась биопсия. До и после проведения ликворсорбции контролировался уровень глюкозы, ЛДГ, АСТ, АЛТ.

Специальным методом исследования в нашей работе являлась термоимпедансметрия ликвора, биофизической основой которой служило измерение полного электрического импеданса образца СМЖ, которое осуществлялось в примененной для этого установке фазометрическим методом. Изменения температурного импеданса СМЖ связано с поляризу-

емостью 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.

У каждого пациента осуществлялся однократный забор ликвора путем люмбальной пункции. Затем в рабочую кювету измерительной ячейки установки с помощью шприца вводился 1,2 мл жидкости. На регистрирующем устройстве фиксировался ход температурной зависимости разности фаз рабочего и опорного напряжений в виде термоимпедансметрической кривой. На следующем этапе осуществлялось разложение термоимпедансметрической 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.

**Результаты исследования и их обсуждение**

В результате обработки полученных кривых термоимпедансметрии были выявлены общие особенности, характерные для всех видов патологии. На кривых отчетливо заметна немонотонность изменения импеданса с температурой, которая и связана с фазовым переходом в ликворе. Присутствие на графике температурной зависимости «клювообразного» участка свидетельствует о совершении фазового перехода в системе (рис. 1).

Кроме того, совершение фазового перехода сопровождается тем, что при достижении температуры, соответствующей положению на графике «клюва», происходит скачкообразное увеличение объема исследуемого ликвора приблизительно в 2 раза, что также свидетельствует о фазовом переходе.

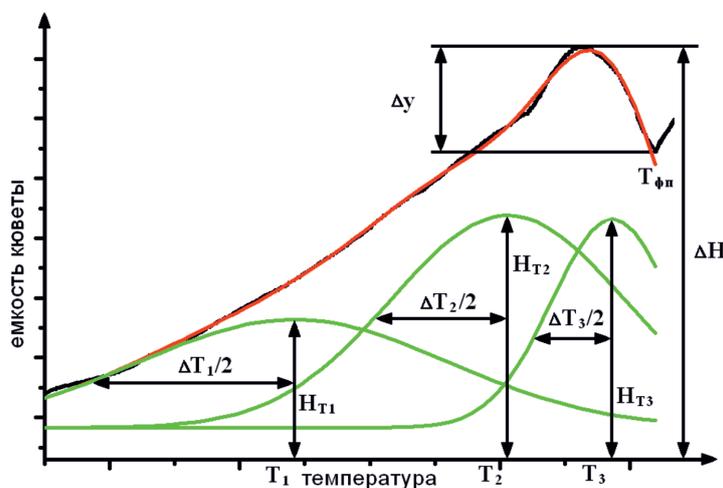


Рис. 1. Графическое представление основных параметров экспериментальных ТИМ кривых

Следует отметить, что выраженность «неоднородного» участка также, скорее всего, может являться диагностическим параметром. Температурные положения максимумов на кривой характеризуют изменение зарядового состояния жидкости в измерительной кювете и связаны с температурными фазовыми или релаксационными переходами внутри составных элементов ликвора, так как изменение поляризуемости ликвора и, соответственно, способности к накоплению заряда кюветы с ликвором, обычно сопряжены с изменением внутренней структуры и подвижности молекулярных цепей, которые обозначают термином «фазовый переход».

Известно, что в температурном интервале, в котором происходит фазовый переход в СМЖ, наблюдается денатурация белков (утрата ими биологической функции, связанная с разрушением четвертичной и третичной структуры белка). Денатурация является фазовым переходом, однако, по мнению некоторых других авторов, фазовым переходом является переход глобула – клубок, который непосредственно не связан с денатурацией, но следует за ней при повышении температуры. Параметры фазового перехода в СМЖ коррелируют с содержанием белка в ликворе. С увеличением количества белка в ликворе увеличиваются коэффициенты корреляции.

В компенсированном состоянии пациента, ликворологически характеризующимся низким количеством белка и цитоза, отсутствием эритроцитов, термоимпедансметрическая кривая носила немонотонный характер с четкими фазовыми переходами, с выраженными комплексами «пики – волны», температура фазового перехода находилась в интервале 90–70 °С. Данные изменения были характерны для благоприятного прогноза заболевания. В субкомпенсированном состоянии, ликворологически характеризующимся повышением общего белка, цитоза и эритроцитов, характер кривой несколько сглаживался, температура фазового перехода держалась в интервале от 80–70 °С. Данные изменения соответствовали сомнительному дальнейшему прогнозу заболевания. В декомпенсированном состоянии, ликворологически выявлялись высокий уровень белка, цитоза, эритроцитов, кривая термоимпедансметрии была пологой, температура фазового перехода носила низкий характер ниже 70 °С. Прогноз заболевания в данной группе был неблагоприятным.

В группе наблюдений у пациентов с опухолями головного мозга показатели тер-

моимпедансметрии и характеристические особенности кривой зависели от степени злокачественности опухолевого процесса: при опухолях с низкой степени злокачественности (благоприятной в прогностическом состоянии), кривая термоимпедансметрии носила в основном типичный немонотонный характер с четкими фазовыми переходами, температура фазового перехода находилась в интервале от 90 до 70 °С; у пациентов с опухолями высокой степени злокачественности (и неблагоприятном прогнозе) характер кривой носил пологий вид без выраженных особенностей, температура фазового перехода имела низкие значения. Коэффициенты корреляции были достоверные в обеих группах, но их значения были выше у пациентов с высокой степенью злокачественности и увеличивались с ростом концентрации белка в ликворе.

Проведение ликворосорбции пациентам с постишемическими поражениями головного мозга приводило к отчетливому изменению показателей кривой термоимпедансметрии, которые существенно отличались друг от друга до и после ликворосорбции (рис. 2). Изменения проявлялись в виде смещения кривой смещения всей кривой в целом в сторону высоких температур, а также увеличения температуры фазового перехода глобула-клубок. Это, по нашему мнению, связано с уменьшением в результате ликворосорбции концентрации в ликворе общего белка, глюкозы, патологических ферментов, что способствовало улучшению неврологического состояния пациентов и приводило в дальнейшем благоприятному прогнозу заболевания.

Таким образом, ликвор демонстрирует четкий отклик на воздействие переменного электрического поля мегагерцового диапазона, причем поляризуемость ликвора сильно зависит от состояния организма. По виду термоимпедансметрической кривой, наличию на ней области фазового перехода и параметрам этого перехода можно судить о концентрации белка, а по ней – о размерах белковых глобул. Кроме того, по форме и параметрам кривой можно делать выводы о структуре и устойчивости белковых глобул, то есть об изменении ее конформации при повышении температуры.

Полученные в настоящей работе статистически достоверные коэффициенты корреляции между концентрацией белка и температурой фазового перехода в группе пациентов, указывают на тот факт, что фазовый переход глобула-клубок представляет собой фазовое превращение, характерное для такого белка ликвора, как альбумин.

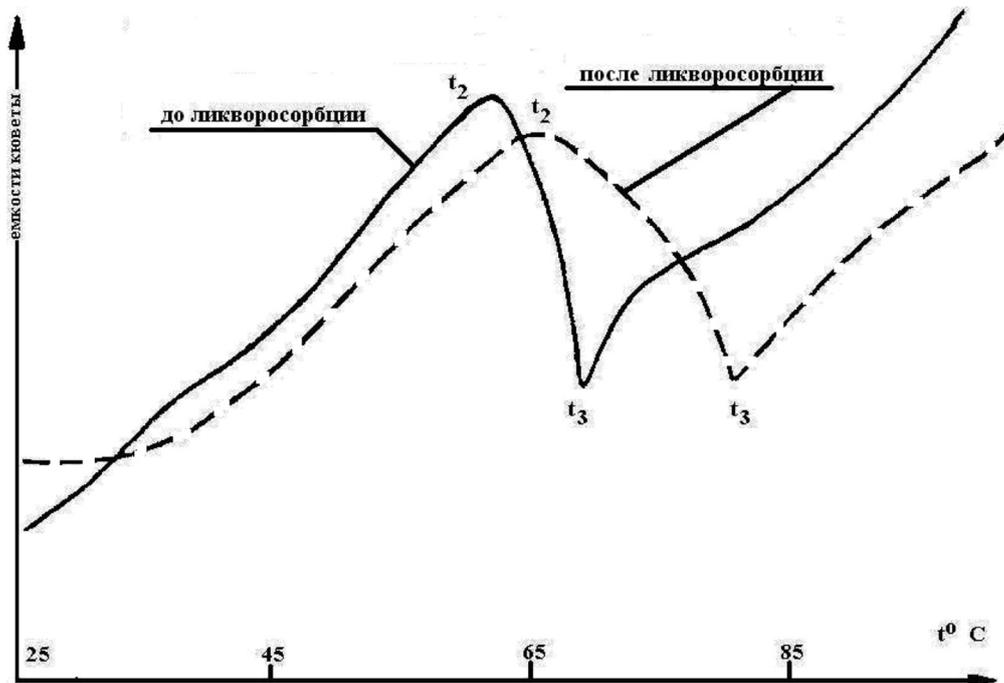


Рис. 2. Усредненные кривые термоимпедансометрии до и после ликворосорбции

Увеличение концентрации общего белка, а также увеличение цитоза в совокупности со снижением коррелирующей с этими показателями температуры фазового перехода служат индикаторами нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера.

### Выводы

Температура фазового перехода и форма термоимпедансометрической кривой являются диагностическими и прогностическими критериями и позволяют определить степень поражения головного мозга, течение, прогноз и исход при нейрохирургических заболеваниях, свидетельствуют о нарушении проницаемости ГЭБ.

### Список литературы

1. Иванова Н.Е., Панунцев В.С., Касумов Р.Д., Шадрин Е.Б., Юткина Н.Л., Шадрин А.Е. Способ прогнозирования исхода ишемического повреждения головного мозга. Патент РФ. Решение о выдаче № 200313036/15(032625).

2. Котельников Г.П. Травматическая болезнь / Г.П. Котельников, И.Г. Труханова. — М.: Гэотар- Медиа, 2009. — 272 с.

3. Лебедева А.В. Показатели нитрозативного стресса и иммунного ответа в ликворе на ранней стадии инсульта / А.В. Лебедева, А.Б. Гехт, Е.И. Гусев и соавт. // Нейрохирургия. — 2011. — № 1. — С. 83–86.

4. Полетаев А.Б. Антитела к антигенам нервной ткани и патология нервной системы / А.Б. Полетаев // Вестн. МЕДСИ. — 2011. — № 13. — С. 14–21.

5. Сумная Д.Б. Способ прогнозирования возникновения воспалительных осложнений в остром периоде черепно-мозговой травмы / Д.Б. Сумная // Изв. Челябинск. науч. центра. — 2003. — Вып. 3 (20). — С. 118–120.

6. Engh J.A. Differential scanning calorimetry applied to cerebrospinal fluid analysis I glioblastoma / J.A. Engh // Neurosurgery. — 2011. — Vol. 69 (4). — P. 22–24.

7. 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.

8. Kunishio K. Matrix metalloproteinase-2 and -9 expression in astrocytic tumors / K. Kunishio, M. Okada, Y. Matsumoto et al. // Brain tumor pathol. — 2003. — Vol. 20. — P. 39–45.

9. Tomkins O. Blood-brain barrier disruption in post-traumatic epilepsy / O. Tomkins, I. Shelef, I. Kaizerman et al. // J. neurol. neurosur. ps. — 2008. — Vol. 79. — P. 774–777.