

УДК 616.12-018.74-008.6:616.831-005:577.115

В.М. Пашковський, І.І. Кричун, Н.В. Васильєва

ЕНДОТЕЛІАЛЬНА ДИСФУНКЦІЯ ТА ПОКАЗНИКИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЮ ЕНЦЕФАЛОПАТІЄЮ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Резюме. Стаття присвячена вивченню показників ендотеліальної дисфункції, оксидантної та глутатіонової систем крові у пацієнтів із дисциркуляторною енце-

фалопатією. Продемонстровані нейропептидний дисбаланс та активація оксидантної системи.

Ключові слова: ендотеліальна дисфункція, оксидантний стрес, енцефалопатія.

Вступ. Протягом 2010-2014 років співробітники кафедри нервових хвороб, психіатрії та медичної психології виконували наукові дослідження в рамках комплексної науково-дослідної роботи на тему «Принципи диференційованого лікування уражень нервової системи різної етіології з урахуванням особливостей їх патогенезу та психічних розладів». Одним з основних напрямів цієї роботи було дослідження патогенезу дисциркуляторної енцефалопатії (ДЕ), яка є найбільш розповсюдженим стражданням центральної нервової системи сучасної людини.

Дослідження наукових центрів за останні десятиріччя спрямовані на вивчення патогенезу, удосконалення методів діагностики, лікування та реабілітації хворих із цереброваскулярною патологією (ЦВП) [1]. Зокрема, використання найсучасніших методів нейровізуалізації дозволило розробити принципи нової концепції патогенезу мозкового інсульту та дисциркуляторної енцефалопатії, механізмів компенсації церебрального кровотоку. Водночас у літературі не одержала достатнього відображення ціла низка питань теоретичного і практичного значення. Так, питання змін ендотеліальної функції та цереброваскулярного резерву при енцефалопатіях різного генезу на сьогодні практично не розроблені [2, 3].

Мета дослідження. З'ясувати особливості ендотеліальної дисфункції та стану процесів пероксидного окиснення ліпідів у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію II стадії для подальшого удосконалення діагностичних та лікувальних заходів.

Матеріал і методи. З метою дослідження вираженості ендотеліальної дисфункції та можливих її механізмів, зокрема процесів апоптозу ендотеліоцитів, обстежено 110 хворих на ДЕ II стадії, причиною якої були церебральний атеросклероз (ЦА) – у 42 осіб та гіпертонічна хвороба (ГХ) – у 68 осіб. Середній вік обстежених пацієнтів склав $55,3 \pm 8,59$ року. Хворі знаходилися на лікуванні в неврологічних відділеннях поліклінік та стаціонарах м. Чернівці.

Контрольні дослідження виконані за допомогою донорів, середній вік яких становив 35-60 років.

У всіх пацієнтів вивчався клініко-неврологічний стан, проводилися загальноприйняті ла-

бораторні обстеження, стандартні інструментальні методи обстеження: ЕКГ, РЕГ, ЕхоЕС, ЕЕГ.

Кров для імуноферментних та біохімічних методів дослідження збирали з ліктьової вени вранці, натщесерце.

Вміст у крові фібронектину, розчинних форм sVCAM-1 і sE-селектину досліджували імуноферментним аналізом з використанням реактивів фірми “Beckman Coulter” (США). Активність ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ) визначали біохімічно на спектрофотометрі “СФ-46” (Росія) за допомогою реактивів (“Buhlmann Lab. AG”, Швейцарія).

У роботі використовували набори реактивів для імуноферментного визначення вмісту в плазмі крові APO1/Fas (CD95), sFas-L, білка p53, фактора некрозу пухлин α (TNF- α), зв'язаного з фактором некрозу пухлин апоптозіндукуючого ліганду (sTRAIL) (Diaclone Res., Франція) та біохімічного дослідження активності каспаз-1, -3, -8 (BioVision, США) з реєстрацією на рідері “Уніплан-М” (Росія).

Стан оксидантної системи (ОС) вивчали за показниками процесу пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). З цією метою спектрофотометрично досліджували вміст сполук з ізольованими подвійними зв'язками (ПЗ) – 220 нм, дієновими кон'югатами (ДК) – 232 нм, кетодієнами та спряженими триєнами (КД і СТ) – 278 нм із розрахунку на 1 мл крові. Вміст малонового альдегіду (МА) визначався за його реакцією з тіобарбітуровою кислотою.

Стан захисної ОС оцінювали за активністю глутатіон-трансферази (ГТ) [КФ 2.5.1.18] і визначали в нмоль на 1 мл плазми за 1 хвилину. Методика побудована на принципі знаходження кількості відновленого глутатіону (ГSH), яка пішла на кон'югацію з 1-хлор-2,4-динітробензолом під дією ферменту плазми крові. Про активність глутатіонпероксидази (ГП) [КФ 1.11.1.9] судили за кількістю ГSSG, що утворився при знешкодженні пероксиду водню в глутатіонпероксидазній реакції і виражали в ммоль на 1 мл крові за 1 хвилину.

Статистична обробка матеріалів дослідження виконувалася з використанням різних критеріїв значимості диференційовано – залежно від типу вихідних даних. Так, для парних досліджень

у динаміці процесу був використаний парний критерій Стьюдента, для показників, виражених у частках одиниці або відсотках – використовувалося кутове Фі-перетворення Фішера. Статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою програми "BioStat" та програми Excel з пакета програм Microsoft Office 2007.

Результати дослідження та їх обговорення.

Аналіз перебігу та клінічної симптоматики ДЕ II стадії продемонстрував наступне. У всіх обстежених пацієнтів були наявні чіткі ознаки судинної недостатності дифузного або регіонарного типу. Вона проявлялася прогресуючим зниженням пам'яті (у т.ч. професійної) (79,31 % осіб), зниженням працездатності, ослабленням функціональної активності. Виявлялися зміни особистості: дратівливість (39,65 %), в'язкість мислення (29,31 %), часто балакучість, неконтактність, іноді апатія, пригнічений настрій (31,03%), некритична оцінка свого стану, розвиток егоцентризму (13,79 %), тобто спостерігались емоційно-особистісні зміни. Спостерігались патологічні зміни характеру та поведінки: грубість, вразливість. Порушувався інтелект, звужувалося коло

інтересів. Типовою ознакою був поганий нічний сон (84,48 %) при сонливості вдень. Поряд із розсіяною мікроорганічною симптоматикою з'являлися симптоми, що свідчили про розлади функцій лобних часток мозку, підкіркових вузлів і мозкового стовбура. Під час обстеження виявляли рефлекс Марінеску-Радовича (89,65 %), ротовий рефлекс Бехтерева (77,58 %). З'являвся хапальний рефлекс (20,68 %), асиметрія черепної іннервації (18,96 %), дизартрія. Значно підвищувалися глибокі рефлекси з розширенням рефлексогенних зон, нерідко вони були асиметричні, виявлялися патологічні рефлекси – на руках (Россолімо, Бехтерева) (8,62 %) і ногах (Бабінського, Оппенгейма) (39,65 %). Поряд із недостатністю пірамідної системи розвивалася й екстрапірамідна недостатність: невиразність мімічних реакцій, брадикінезія, тремор пальців кисті (24,13 %). Мали місце порушення м'язового тону у вигляді пластичної гіпертонії (50 %). Спостерігались прояви псевдобульбарного синдрому (15,51 %). З'являлися ознаки ураження мозочка і стовбурових відділів головного мозку: вестибулярні, координаційні, атактичні розлади.

Таблиця 1

Активність ангіотензинперетворювального ферменту та вміст фібрoneктину, молекул sVCAM-1 і sE-селектину в плазмі крові хворих на дисциркуляторну енцефалопатію ($\bar{x} \pm Sx$)

Показники, що вивчалися	Контроль, n=15	Хворі на атеросклеротичну ДЕ, n=42, 1-ша група	Хворі на гіпертонічну ДЕ, n=68, 2-га група
Активність АПФ, од/мл за 1 год	0,488±0,034	0,729±0,028 p<0,001	0,883±0,035 p<0,001 p ₁₋₂ <0,01
Кон-ція в плазмі крові фібрoneктину, мкг/мл	418,50±30,98	726,10±28,45 p<0,001	605,70±23,07 p<0,001 p ₁₋₂ <0,01
Кон-ція в плазмі крові sVCAM-1, нг/мл	6,03±0,63	11,98±0,88 p<0,001	22,70±1,15 p<0,001 p ₁₋₂ <0,001
Кон-ція в плазмі крові sE-селектину, пг/мл	2,98±0,39	7,85±0,50 p<0,001	8,93±0,54 p<0,001 p ₁₋₂ >0,2

Примітка. p – ступінь достовірності різниць показників відносно контролю; p₁₋₂ – ступінь достовірності різниць показників у відповідних групах хворих; n – число спостережень

Таблиця 2

Вміст молекул sCD95, sFasL та sTRAIL у плазмі крові хворих на дисциркуляторну енцефалопатію ($\bar{x} \pm Sx$)

Групи хворих	sCD95, пг/мл	sFasL, пг/мл	sTRAIL, пг/мл
Контроль, n=15	117,50±10,09	209,40±16,28	390,80±16,39
Хворі на атеросклеротичну ДЕ, n=32, 1-ша група	86,47±4,90 p<0,01	195,60±9,31 p>0,4	467,50±23,36 p<0,05
Хворі на гіпертонічну ДЕ, n=63, 2-га група	405,80±20,02 p<0,001 p ₁₋₂ <0,001	692,60±28,98 p<0,001 p ₁₋₂ <0,001	901,30±41,14 p<0,001 p ₁₋₂ <0,001

Примітка. p – ступінь достовірності різниць показників відносно контролю; p₁₋₂ – ступінь достовірності різниць показників у відповідних групах хворих; n – число спостережень

Таблиця 3

Вміст білка p53, фактора некрозу пухлин- α у плазмі крові хворих на дисциркуляторну енцефалопатію ($x \pm Sx$)

Групи хворих	p53 од./мл	TNF- α , пг/мл
Контроль, n=15	26,64 \pm 2,64	35,97 \pm 3,68
Хворі на атеросклеротичну ДЕ, n=32 1-ша група	19,01 \pm 1,30 p<0,01	35,66 \pm 3,41 p>0,9
Хворі на гіпертонічну ДЕ, n=63 2-га група	61,86 \pm 3,53 p<0,001 p ₁₋₂ <0,001	52,70 \pm 3,10 p<0,05 p ₁₋₂ <0,001

Примітка. p – ступінь достовірності різниць показників відносно контролю; p₁₋₂ – ступінь достовірності різниць показників у відповідних групах хворих; n – число спостережень

Таблиця 4

Динаміка показників оксидантної системи крові у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію, (M \pm m)

Показники	Групи	Контрольна група, n=28	До лікування, n=60
Малоновий альдегід, мкмоль /л еритроцитів		20,22 \pm 0,23	37,51 \pm 0,53 p<0,001
Ізольовані подвійні зв'язки, E 220/мл крові		3,12 \pm 0,073	5,56 \pm 0,05 p<0,001
Дієнові кон'югати, E 232/мл крові		1,10 \pm 0,042	3,52 \pm 0,06 p<0,001
Кетодієни і спряжені триєни, E 278/мл крові		0,93 \pm 0,039	1,29 \pm 0,03 p<0,001

Примітка. p - вірогідність по відношенню до контрольної групи

Таблиця 5

Динаміка показників глутатионової антиоксидантної системи крові у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію (M \pm m)

Показники	Групи	Контрольна група	До лікування, n=60
Глутатіон-трансфераза, нмоль/мл плазми \times хв		69,41 \pm 1,18 n=27	98,36 \pm 0,73 p<0,001
Глутатіон-пероксидаза, ммоль/мл крові \times хв		20,46 \pm 0,46 n=27	12,35 \pm 0,25 p<0,001

Примітка. p - вірогідність по відношенню до контрольної групи

Часто виникали вегетативно-судинні пароксизми (81,03 %).

При ЦА ядром суб'єктивного синдрому вважається тріада симптомів –головний біль, запаморочення, зниження пам'яті. Цю тріаду ми спостерігали у 94,82 % пацієнтів. Водночас слід врахувати, що цефалгічний синдром був характерний для всіх груп хворих. Принагідно зауважити, що при ЦА він частіше локалізувався в лобних ділянках (44,82 %), при ГХ – у потиличних ділянках (32,75 %). При ГХ пароксизми головного болю виникали, зазвичай, під час підвищення артеріального тиску. У більшості пацієнтів при ГХ головний біль виникав вночі і проявлявся відчуттям тяжкості в ділянці потилиці, яка проходила при активному включенні хворого у трудовий

процес, що, можливо, пояснюється утрудненням венозного відтоку з порожнини черепа.

При аналізі показників ендотеліальної дисфункції (ЕД) виявлено наступне (табл. 1): у хворих на ДЕ атеросклеротичного генезу або на тлі ГХ порівняно з контролем вірогідно підвищується активність ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ), на цьому тлі зростають концентрації фібронектину, розчинних молекул судинної адгезії та розчинного Е-селектину. Іншими словами, ДЕ як на тлі атеросклерозу, так і при ГХ характеризується появою в крові маркерів ЕД.

Аналіз факторів апоптозу ендотеліоцитів виявив наступне (табл. 2). У хворих на ДЕ на тлі атеросклерозу, порівняно з контролем, знижується концентрація в плазмі крові молекул sCD95 та

зростає концентрація розчинного апоптозіндукуючого ліганду до фактора некрозу пухлин (sTRAIL). У хворих на ДЕ на тлі гіпертонічної хвороби спостерігається статистично вірогідне підвищення концентрації в плазмі крові всіх трьох досліджуваних показників. Окрім того, у хворих на ДЕ на тлі атеросклерозу було відмічено зниження рівня білка P53 (табл. 3). У хворих на ДЕ на тлі гіпертонічної хвороби спостерігається вірогідне підвищення як рівнів білка P53, так і фактора некрозу пухлин.

При дослідженні стану ПОЛ встановлено зростання рівня МА, ДК, ПЗ, КД та СТ (табл. 4). Дослідження вмісту ДК і МА у суспензії еритроцитів у хворих на ДЕ у всіх випадках виявлялося збільшення рівня цих продуктів у мембранах еритроцитів. Так, при ДЕ II ст. рівень ДК зростає на 19% порівняно з нормою. Аналогічні дані отримано при дослідженні рівня МА у суспензії еритроцитів. Таким чином, при ДЕ активуються процеси ПОЛ, які поглиблюються в зв'язку з погіршенням мозкового кровообігу і патологічного стану судинної системи. Причому зростання рівня сполук з ПЗ у хворих на ДЕ може свідчити про початок ініціації вільно радикального окиснення ліпідів, тому, ймовірно, вміст КД і надзвичайно реактивних СТ зростає при цій патології, особливо при поєднанні церебрального атеросклерозу з артеріальною гіпертензією.

Однією із суттєвих причин посилення процесів ПОЛ у хворих на ДЕ є зниження активності антиоксидантних глутатіонвмісних ферментів внаслідок порушення синтезу відновленого глутатіону, який значною мірою забезпечується ферментом глутатіон-редуктазою (табл. 5). У процесах нейтралізації продуктів ПОЛ активну участь бере глутатіон-пероксидаза, як "пастка" вільних радикалів. Можна побачити, що при всіх формах ДЕ активність цього ферменту знижена приблизно вдвічі, з чого можна дійти висновку, що поси-

лення процесів ПОЛ і зниження активності ферментів глутатіонзалежної антиоксидантної системи може розглядатися як важливий патогенетичний ланцюг розвитку ДЕ, оскільки ліпоперекиси деструктивно впливають на білкові та ліпідні компоненти крові та мембрани клітин.

Висновки

1. Хронічна церебральна ішемія (дисциркуляторна енцефалопатія II ст.) характеризується прогресуванням патологічного процесу, а саме – неврологічним дефіцитом за типом розсіяної мікроорганічної симптоматики.

2. Одним із вузлових патогенетичних механізмів ініціації та формування дисциркуляторної енцефалопатії є клітинно-мембранна дисфункція у вигляді активізації вільнорадикального окиснення, посилення перекисного окиснення ліпідів мембран. Суттєву роль відіграє розвиток ендотеліальної дисфункції, що було підтверджено вірогідним зростанням концентрації в плазмі крові хворих таких показників ендотеліальної дисфункції, як фібронектин, розчинні молекули судинної адгезії sVCAM-1, sE-селектин та активність ангіотензинперетворювального ферменту.

Перспективи подальших досліджень. Проведене дослідження дозволяє коригувати патогенетичну терапію дисциркуляторної енцефалопатії із застосуванням ендотеліотропних та антиоксидантних препаратів.

Література

1. Гайдаєв Ю.О. Стан здоров'я населення України та забезпечення надання медичної допомоги. Аналітично-статистичний посібник / Ю.О. Гайдаєв, В.М. Коваленко, В.М. Корнацький. – К., 2007. – 97 с.
2. Багмет М.А. Ремоделирование сосудов и апоптоз в норме и при патологии / М.А. Багмет // Кардиология. – 2002. – № 3. – С. 83-86.
3. Дамулин И.В. Дисциркуляторная энцефалопатия и сосудистые когнитивные нарушения // Клін. ангіол. – 2008. – № 4 (15). – С. 33-38.

ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У ПАЦИЕНТОВ С ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИЕЙ

В.М. Пашковский, И.И. Кричун, Н.В. Васильева

Резюме. Статья посвящена изучению показателей эндотелиальной дисфункции, оксидантной и глутатионовой систем крови у пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией. Продемонстрирован нейропептидный дисбаланс, активация оксидантной системы.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, оксидантный стресс, энцефалопатия.

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AND INDICES OF FREE RADICAL LIPID OXIDATION IN PATIENTS WITH DYSIRCULATORY ENCEPHALOPATHY

V.M. Pashkovsky, I.I. Krychun, N.V. Vasylieva

Abstract. The article deals with a study of the indices of endothelial dysfunction, oxidant and glutathione blood systems in patients with dysirculatory encephalopathy. Neuropeptide imbalance and activation of the oxidant system have been demonstrated.

Key words: endothelial dysfunction, oxidative stress, encephalopathy.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. О.І. Федів

Buk. Med. Herald. – 2015. – Vol. 19, № 1 (73). – P. 124-127