



Н.В. ПАШКОВСЬКА

Буковинський державний медичний університет,  
Чернівці

## Динаміка показників інтенсивності апоптозу у хворих на діабетичну енцефалопатію на тлі застосування цитиколіну

**Мета** — з'ясування особливостей динаміки показників інтенсивності апоптозу у хворих на діабетичну енцефалопатію при застосуванні у комплексному лікуванні цитиколіну.

**Матеріали і методи.** Обстежено 73 пацієнти з діабетичною енцефалопатією: у 31 — захворювання перебігло на тлі цукрового діабету 1 типу та у 42 — 2 типу. Хворі першої групи (23 особи) отримували базисне лікування, другої (34 хворих) — додатково церебропротекторний препарат Цераксон (цитиколін).

**Результати.** В обстежених хворих відзначено зростання рівня сироваткового фактора некрозу пухлин і збільшення експресії Fas-ліганда родини рецепторів фактора некрозу пухлин та гранзіму В на тлі зменшення вмісту розчинного антиапоптичного фактора sbal-2 та зростання кількості десквамованих ендотеліоцитів у крові з вірогідно більшим ступенем змін за цукрового діабету 2 типу. Застосування цитиколіну сприяло зменшенню вмісту індукторів та зростанню експресії інгібітора апоптозу із зниженням показника ендотеліоцитемії.

**Висновки.** Цитиколін виявив високу ефективність у лікуванні хворих на діабетичну енцефалопатію як препарат, що має цитопротекторну дію, яка реалізується шляхом гальмування індукції апоптозу.

**Ключові слова:** цукровий діабет, енцефалопатія, апоптоз, цитиколін.

Останнім часом цукровий діабет (ЦД) набув ознак «неінфекційної епідемії», яка охопила близько одного мільйона населення нашої країни. Водночас, за даними епідеміологічних досліджень, реальний показник є у 3—4 рази вищим за рахунок недіагностованих випадків цього захворювання [3]. На сьогодні у світі зареєстровано близько чверті мільярда хворих на ЦД, а за прогнозами експертів ВОЗ, до 2030 р. очікується збільшення цього показника у півтора разу [6].

Разом із зростанням поширеності ЦД збільшується частота його хронічних ускладнень, серед яких важливе місце посідають цереброваскулярні захворювання. Так, наявність ЦД підвищує ризик виникнення гострих порушень мозкового кровообігу в 6 разів із зростанням ризику смерті від них майже втричі [10].

Хронічні ураження центральної нервової системи при ЦД називають діабетичною енцефалопатією (ДЕ), що є стійкою церебральною патологією,

яка виникає внаслідок гострих, підгострих і хронічних діабетичних обмінних і судинних порушень, клінічно виявляється неврозоподібними дефектами, органічною неврологічною й вегетативною церебральною симптоматикою [1].

В основі формування церебральних патологічних змін за енцефалопатії будь-якої етіології лежить загибель нейронів. Нейрональний апоптоз — це запрограмована смерть нейронів у результаті ендогенних внутрішньоклітинних процесів, що запускаються «суїцидними» генами. Вона полягає у зменшенні розмірів клітин, секвестрації тіла нейрона на тільця, які фагоцитуються сусідніми клітинами. Програма апоптозу контролюється нейротрофічними чинниками, гормонами і медіаторами. Хронічна ішемія призводить до відстроченої загибелі олігодендроцитів унаслідок активації системи каспаз. Це спричиняє прогресуючу демієлінізацію аксонів, насамперед у білій речовині великих півкуль [10].

ворює прокаспазу 3 на активну каспазу 3), відіграють важливу роль в індукції апоптозу [8, 16]. Активация цитотоксичних Т-лімфоцитів призводить до вивільнення з їхніх гранул перфору і гранзимів. Вважається, що перфорин утворює у плазматичній мембрані клітин-мішеней пори, через які проникають гранзими. Крім того, зростання вмісту Gr-B може свідчити про інтенсифікацію процесів дестабілізації атеросклеротичних бляшок [15].

У хворих на ДЕ відзначено вірогідне підвищення вмісту сироваткового Gr-B: меншою мірою (на 38,2 %) у обстежених з ЦД 1 типу та вірогідно ( $p < 0,01$ ) більше (на 72,6 %) у пацієнтів з ЦД 2 типу.

Провідну роль у механізмах клітинної загибелі відіграють мітохондрії, при цьому відбувається збільшення проникності мітохондріальної мембрани. Співвідношення між про- й антиапоптичними членами сімейства Bcl-2 регулює вихід проапоптичних речовин з мітохондрій, що призводить до запуску апоптозу, зокрема цитохрому С. Вихід цитохрому С з мітохондрій спричиняє утворення апоптосом в цитоплазмі, що активує каспазу-9 і запускає клітинну смерть. Антиапоптична дія Bcl-2 пов'язана з нормалізацією функції мітохондрій, що беруть участь у реалізації апоптозу. Механізмами цього процесу є блокування вивільнення з мітохондрій цитохрому С, участь білків Bcl-2 у формуванні трансмембранних мітохондріальних пор, що визначає трансмембранний потенціал, а також вивільнення різних активних сполук та іонів з мітохондрій. Велике значення надають можливості проникнення згаданих білків у ліпідні структури мембран і формування іонних каналів, що впливає на розподіл іонів  $Ca^{2+}$  між ядром, мітохондріями та ендоплазматичним ретикуломом [14].

У нашому дослідженні ДЕ супроводжувалася вірогідним зниженням сироваткового вмісту sBcl-2 на 27,2 % у хворих на ЦД 1 типу та на 41,2 % у пацієнтів з ЦД 2 типу з вірогідною ( $p < 0,01$ ) різницею між групами, що свідчить про запуск апоптозу, причому це більше проявляється за інсулінонезалежного ЦД.

У формуванні церебральних порушень велику роль відіграє ушкодження судинного ендотелію. При цьому клітини ендотелію, що піддалися апоптозу, мають прокоагулянтні властивості і є причиною скупчення активованих тромбоцитів у ділянках, де багато десквамованих ендотеліоцитів. У цих ділянках також спостерігали експозицію позаклітинної матриці, що призводило до гіперкоагуляції. Все це індукує каскад подальших патологічних змін.

У досліджуваних нами хворих показник кількості десквамованих ендотеліоцитів у периферійній крові вірогідно зростав у 4,6 разу за ЦД 1 типу та у 5,3 разу — за ЦД 2 типу із вірогідною різницею між групами ( $p < 0,01$ ), що свідчить про підсилення процесів десквамації ендотеліальних клітин із більшим ступенем прояву у хворих на інсулінонезалежний ЦД.

Кореляційний аналіз виявив тісний кореляційний зв'язок між показником ендотеліоцитемії та сироватковим рівнем FasL/Apo-1 ( $r = 0,85$ ,  $p < 0,05$ ), що може бути свідченням провідної ролі цього ліганд-клітинної загибелі у механізмах програмованої клітинної смерті клітин судинного ендотелію.

Ендотелій у спокійному стані містить незначну кількість Fas і стійкий до ефектів розчинного і мембранозв'язаного FasL унаслідок експресії на ендотелії білка-інгібітора c-FLIP (FADD-like IL-1 $\beta$ -converting enzyme). Артерії з атеросклеротичними змінами на відміну від артерій здорових донорів меншою мірою експресують c-FLIP унаслідок підвищення чутливості ендотелію до Fas-опосередкованого апоптозу під впливом окиснених ліпопротеїдів низької щільності, продуктів глікозилування тощо. Це може збільшити чутливість ендотелію до апоптозу через активовані Т-лімфоцити, що експресують FasL [12].

Той факт, що виявлені ендотеліальні порушення стосуються саме церебральних судин, підтверджується проведеними нами раніше гістопатологічними дослідженнями [4]. У гістологічних препаратах судин різних ділянок головного мозку померлих, які за життя хворіли на ЦД, встановлено ознаки судинної деформації, периваскулярного набряку, десквамації судинного ендотелію, а також зниження коефіцієнта варіації оптичної густини забарвлення ядерного хроматину ендотеліоцитів, що свідчить про меншу активність ядра щодо залучення ДНК до синтетичних процесів та можливу наявність ендотеліального апоптозу, в ході якого відбувається маргінація та конденсація ядерного хроматину.

Таким чином, аналізуючи все викладене вище, можна дійти висновку, що ДЕ супроводжується посиленням апоптичних процесів як за FAS-опосередкованим, так і за гранзим-індукованим механізми. Крім того, зниження вмісту в крові антиапоптичного фактора Bcl-2 дає змогу припустити можливість реалізації сценарію клітинної загибелі мітохондріальним шляхом (рисунок).

Для корекції виявлених змін ми обрали церебропротекторний препарат цитиколін (цитидин-5-дифосфохолін), що належить до групи нуклеотидів — біомолекул, які відіграють важливу роль у клітинному метаболізмі. Він є незамінним попередником фосфатидилхоліну (лецитину), що становить основу клітинних мембран. За рахунок цього препарат виявляє мембраностабілізуювальну та антиоксидантну дію, інгібуючи активність фосфоліпази та знижуючи концентрацію вільних жирних кислот [15].

Застосування на тлі стандартного лікування хворих на ДЕ цитиколіну (Цераксону) дозволило не тільки поліпшити когнітивні функції та зменшити неврологічний дефіцит у досліджуваних пацієнтів, а й оптимізувати показники інтенсивності апоптозу.

Вміст сироваткового TNF- $\alpha$  у хворих, які отримували виключно базисну терапію, мав невірогідну

нуванню зовнішніх клітинних та інтрацелюлярних мембран, відновлює їхню структурну цілісність, пластичність за рахунок стимуляції синтезу фосфатидилхоліну. Крім того, цитиколін активує енергетичні процеси в нейронах, відновлює активність  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФази і рівень АТФ, інгібує продукцію вільних радикалів, а також активує систему внутрішньоклітинного антиоксидантного захисту. Цей препарат здатний зменшувати тромбоцитарну адгезію та інгібувати експресію проапоптичних білків [9, 13].

Отримані результати свідчать про високу ефективність у лікуванні хронічних діабетичних уражень головного мозку цитиколіну (Цераксону) як препарату з цитопротекторною дією, яка реалізується шляхом гальмування індукції апоптозу.

## Висновки

За діабетичної енцефалопатії відбувається посилена індукція клітинного апоптозу із зростанням рівня сироваткового фактора некрозу пухлин  $\alpha$ , а також вірогідним збільшенням експресії Fas-ліганда родини рецепторів фактора некрозу пухлин та гранзіму В на тлі зменшення вмісту розчинного антиапоптичного фактора Bcl-2 із вірогідно більшим ступенем змін за інсулінонезалежного цукрового діабету.

Мембраностабілізуючий препарат цитиколін (Цераксон) виявляє високу ефективність у лікуванні хворих на діабетичну енцефалопатію як препарат із цитопротекторною дією, яка реалізується шляхом гальмування індукції апоптозу.

## Література

1. Мищенко Т.С., Перцева Т.Г. Сахарный диабет и хронические нарушения мозгового кровообращения // Укр. неврол. журн.— 2008.— № 3.— С. 4—13.
2. Науменко В.Г. Патогенетична терапія ускладнень цукрового діабету // Міжнар. ендокринол. журн.— 2006.— № 1.— С. 55—60.
3. Паньків В.І. Цукровий діабет, переддіабет і серцево-судинні захворювання // Практ. ангіол.— 2007.— № 1 (6).— С. 4—10.
4. Пашковська Н.В. Гістопатологічні аспекти ендотеліальної дисфункції судин мікроциркуляторного русла головного мозку за діабетичної енцефалопатії // Морфологія.— 2008.— Т. 2, № 1.— С. 96—90.
5. Петрищев Н.Н., Беркович О.А., Власов Т.Д. Диагностическая ценность определения десквамированных эндотелиальных клеток крови // Клини. лаб. диагностика.— 2001.— № 1.— С. 50—52.
6. Baliga B.S., Weinberger J. Diabetes and stroke: Part one. Risk factors and pathophysiology // Curr. Cardiol. Rep. DOI.— 2007.— Vol. 8.— P. 23—28.
7. Wax J.J., Inzucchi S.E., Bonow R.O. Cardiac imaging for risk stratification in diabetes // Diabetes Care.— 2007.— Vol. 30, N 5.— P. 1295—1304.
8. Cullen S.P., Adrain C., Luthi A.U. et al. Human and murine granzyme B exhibit divergent substrate preferences // J. Cell. Biol.— 2007.— Vol. 176, N 4.— P. 435—444.
9. Fioravanti M., Buckley A.E. Citicoline (Cognizin) in the treatment of cognitive impairment // Clin. Interv. Aging.— 2006.— Vol. 1, N 3.— P. 247—251.
10. Kaindl A.M., Koppelstaetter A., Nebrich G. Brief alteration of NMDA or GABAA Receptor-mediated neurotransmission has long term effects on the developing cerebral cortex // Mol. Cell. Proteomics.— 2008.— Vol. 17 (7).— P. 2293—2310.
11. Limonta D., Torres G., Capo V., Guzman Apoptosis, vascular leakage and increased risk of severe dengue in a type 2 diabetes mellitus patient // Diabetes Vasc. Dis. Res.— 2008.— N 5.— P. 213—214.
12. Manicassamy S., Sun Z. The critical role of protein kinase C- in Fas/Fas ligand-mediated apoptosis // J. Immunol.— 2007.— Vol. 178.— P. 312—319.
13. Secades J.J., Lorenzo J.L. Citicoline: pharmacological and clinical review // Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.— 2006.— Vol. 27.— P. 1—56.
14. Shore G., Nguyen M. Bcl-2 proteins and apoptosis: choose your partner // Cell.— 2008.— Vol. 135 (6).— P. 1004—1006.
15. Skjelland M., Michelsen A.E., Krong-Sorensen K. et al. Plasma levels of granzyme B are increased in patients with lipid-rich carotid plaques as determined by echogenicity // Atherosclerosis.— 2007.— Vol. 195, N 2.— P. 142—146.
16. Waterhouse N.J., Sutton V.R., Sedelies K.A. Cytotoxic T lymphocyte-induced killing in the absence of granzymes A and B is unique and distinct from both apoptosis and perforin-dependent lysis // J. Cell. Biol.— 2006.— Vol. 173, N 1.— P. 133—144.

Н.В. ПАШКОВСКАЯ

## Динамика показателей интенсивности апоптоза у больных диабетической энцефалопатией на фоне применения цитиколина

**Цель** — выяснение особенностей динамики показателей интенсивности апоптоза у больных диабетической энцефалопатией при применении в комплексном лечении цитиколина.

**Материалы и методы.** Обследовано 73 пациента с диабетической энцефалопатией: у 31 заболел протекло на фоне сахарного диабета 1 типа и у 42 — 2 типа. Больные первой группы (23 обследованных) получали базисное лечение, второй (34 больных) — дополнительно церебропротекторный препарат Цераксон (цитиколін).

**Результаты.** У обследованных больных отмечено повышение уровня сывороточного фактора некроза опухоли  $\alpha$ , увеличение экспрессии Fas-лиганда семейства рецепторов фактора некроза опухоли и гранзіма В на фоне уменьшения содержания растворимого антиапоптичного фактора sBcl-2 и увеличения количества десквамированных эндотелиоцитов в крови с достоверно большей степенью изменений при сахарном диабете 2 типа. Применение цитиколина способствовало уменьшению уровня индукторов и увеличению экспрессии ингибитора апоптоза со снижением показателя эндотелиоцитемии.

**Выводы.** Цитиколін проявил высокую эффективность при лечении больных диабетической энцефалопатией как препарат, обладающий цитопротекторным действием, которое реализуется путем торможения индукции апоптоза.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, энцефалопатия, апоптоз, цитиколін.