УДК: 577.11:616.831 – 005.1 - 08
© Пустовая О.А., Василенко В.Н., Рыбалка О.Ю., Пустовой А.Ю., 2013

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ

Пустовая О.А., Василенко В.Н., Рыбалка О.Ю., Пустовой А.Ю.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»; Луганская областная клиническая больница

Вступление. Одним из универсальных механизмов развития патологических состояний в том числе и головного мозга является гипоксия – недостаточное снабжение или потребление кислорода клетками и тканями человеческого организма. Гипоксия приводит к ишемии – уменьшению кровотока во всем мозге или в отдельных его участках. Восстановление кровоснабжения органа после глубокой ишемии – реперфузия, реоксигенация влечет за собой вторичное реперфузионное повреждение органа, усугубляющее собственно ишемические изменения и нередко придающее им необратимый характер. Среди причин гибели нейронов при ишемическом повреждении ведущими являются взаимосвязанные патобиохимические и молекулярные механизмы, которые за короткий промежуток времени формируют последовательные этапы ишемического каскада [1].

Решающую роль в патогенезе как ишемических, так и реперфузионных повреждений мозга играет активация свободнорадикальных процессов [1,3].

Активация свободнорадикального окисления возникает при самых различных физиологических (физических, психических и эмоциональных) напряжениях и патологических состояниях и включает превращения кислорода, липидов, нуклеиновых кислот, белков под воздействием свободных радикалов.

В ишемизированных и реперфузионных тканях образуются токсические производные кислорода. Генерация активных форм кислорода зависит от сбалансированности работы ферментативных и неферментативных систем, инактивирующих их. Снижение эффективности работы данных систем приводит к увеличению концентрации свободных радикалов и перекисей, а также продуктов их взаимопревращений, которые могут оказывать канцерогенное действие [3].

Одним из проявлений свободнорадикального окисления является перекисное окисление липидов (ПОЛ), окислительная деградация липидов под действием свободных радикалов. Механизм ПОЛ в клетках ЦНС аналогичен механизму его действия в других тканях, однако его интенсивность в мозге значительно выше, что определяется высоким содержанием в мозге полиненасыщенных жирных кислот (субстратов ПОЛ), а также высокими концентрациями ионов металлов с переменной валентностью, необходимых для функционирования ферментов и работы дофаминовых рецепторов. Кроме того, для мозга характерно низкое содержание основных компонентов антиоксидантной защиты, что объясняет его особую чувствительность к продукции свободнорадикального окисления [11,12].

Существует несколько природных способов защиты от повреждающих эффектов свободных радикалов, в частности «ловушки свободных радикалов» (например, альфа-токоферол, аскорбиновая кислота) и специальные ферменты, которые могут их нейтрализовать (супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КТ), глютатион-пероксидаза (ГПО)) [10].

Ткани снабжены защитными антиоксидантными системами (АОС), внутри- и внеклеточными, ферментными и неферментными, обеспечивающими устойчивость к гипоксии и ишемии. Внутриклеточные ферментные системы – СОД, КТ, ГПО. Неферментные факторы внутриклеточной АОС – альфа-токоферол, аскорбиновая кислота, бета-каротин, глютатион реагируют с активными формами кислорода с образованием менее реактивных продуктов. Внеклеточные системы включают церулоплазмин-трансферрин, альбумин, гаптоглобин, мочевую кислоту.

К ферментативным системам, осуществляющим инактивацию активных форм кислорода относится прежде всего СОД. Основной функцией этого фермента является предотвращение спонтанной дисмутации O_2-. СОД эффективно конкурирует с O_2- за доступный для спонтанной дисмутации супероксидный радикал, причем эффективность реакции повышается по мере уменьшения стационарной концентрации O_2-.

СОД очень эффективно превращает O_2- в H_2O_2, предотвращая спонтанную дисмутацию, скорость которой на три порядка ниже, чем ферментативной реакции. Благодаря такой эффективности действия в клетке содержится только 10-12 моль/л O_2-.

Уровень H_2O_2 в клетке регулируется КТ и ГПО. КТ содержит четыре одинаковые субъединицы, в каждой из которых имеется по одной группе с трехвалентным железом. Молекулярная масса фермента 220-250 кД. КТ взаимодействует с H_2O_2 по двум различным механизмам: участвуя в разложении перекиси водорода на кислород и воду, участвуя в окислении перекисью водорода какого-либо донора водорода (пероксидазная реакция). Субстраты пероксидазной активности фермента – спирты, формиат, нитрит, пирогаллол – являются донаторами водорода. Кроме перекиси водорода КТ взаимодействует с органическими гидроперекисями, образуя каталитически малоактивные комплексы [3].

Усиление свободнорадикального окисления играет важнейшую роль в реализации ишемического каскада при ишемическом инсульте [2,7].

Поиск эффективных антиоксидантов, проникающих через ГЭБ, является актуальной проблемой оксидантного стресса при патологии ЦНС [5, 6,8]. Многие исследователи признают возможности медикаментозной коррекции оксидантного стресса [4, 5,6]. Эффективность действия цитиколина показана во многих экспериментальных и клинических исследованиях [2,6,8,9].

Цель исследования : изучить состояние АОС

и уровень активности процессов свободнорадикального окисления в остром периоде церебрального ишемического инсульта путем определения уровня продуктов ПОЛ (диеновых конъюгат (ДК) и ТБК-активных веществ – малонового диальдегида (МДА)), активности внутриклеточных ферментов – СОД, КТ, а также уровню глютатиона восстановленного (ГВ) как неферментного фактора внутриклеточной антиоксидантной защиты; изучить влияние нейропротекторной терапии на уровень ПОЛ и антиоксидантной защиты.

Материалы и методы исследования. Проведено сравнительное исследование 43 пациентов в остром периоде ишемического инсульта (мужчины и женщины), средний возраст составил 63,9 ± 2,6 лет. В исследование были включены больные, которые поступали в стационар в первые 24 часа от начала заболевания. Организация исследования включала такие этапы: отбор пациентов, в том числе по неврологическим шкалам, инструментальные, биохимические исследования, назначение лечения в соответствии с целью работы, анализ полученных данных. Для оценки активности ПОЛ и АОС определялись следующие показатели: ДК, ТБК-активные вещества – МДА, активность внутриклеточных ферментов – СОД, КТ, а также уровень ГВ, как неферментного фактора внутриклеточной антиоксидантной защиты. Биохимические исследования проводились на 1-й и 10-й день лечения. Полученные данные заносились в электронную таблицу Excel 7,0 с последующей обработкой с помощью пакетов прикладных статистических программ.

В исследование были включены пациенты с завершенным верифицированным ишемическим инсультом, с тяжестью инсульта больше 9 и меньше 16 баллов по шкале NIHSS, было получено согласие пациента. В исследование не включались пациенты с тяжестью неврологического дефицита более 16 баллов, с тяжелой соматической патологией, выраженными нарушениями сознания (по шкале Глазго 3 – 8 баллов). Протокол исследования одобрен этическим комитетом на каждой из клинических баз.

Все пациенты были распределены на 2 группы: в первую или основную включены 23 пациента, которым в базисную схему лечения была включена нейропротекторная и антиоксидантная терапия (цитиколин по 1000 мг 2 раза в сутки внутривенно капельно в течение 5 дней, затем по 1000 мг в сутки 5 дней, по 500мг в сутки 5 дней, затем по 1 табл. 3 раза в день длительно до 45 дней); в том числе, 8-м пациентам препарат был введен на догоспитальном этапе, что сократило время от начала инсульта до начала лечения. Группу сравнения составили 20 пациентов, которым проведено исследование системы ПОЛ и АОС и назначено традиционное лечение (антигипертензивные препараты, ацетилсалициловая кислота, дегидратационная терапия). У больных обеих групп, сопоставимых по полу, возрасту, объему и локализации очага ишемии, имела место сходная фоновая неврологическая симптоматика и уровень депрессии сознания. Детальное неврологическое исследование с оценкой по шкале тяжести инсульта NIHSS , шкалы комы Глазго, модифицированной шкалы Ренкина, индекса Бартель проводилось при рандомизации, на 7-е, 14-е, 21-е сутки.

Результаты и их обсуждение. В основной группе находилось 17 мужчин и 6 женщин, в возрасте от 39 до75 лет (65±2,84 года). У всех больных диагностирован супратенториальный ишемический инсульт, у 17 – атеротромботический подтип инсульта, у 5 – кардиоэмболический, у одного пациента – гемодинамический, у одного – неизвестной этиологии. Пациенты основной группы поступили в отделение через 13,4±3,55 часов от начала инсульта. В группе сравнения наблюдалось 20 пациентов (12 мужчин и 8 женщины), в возрасте от 51 до 75 лет (62,9±2,28 года). У всех больных диагностирован супратенториальный ишемический инсульт, у 11 – атеротромботический подтип инсульта, у 7 – кардиоэмболический, у двух – неизвестной этиологии.

При исследовании фоновых (в начале инсульта) показателей ПОЛ и АОС было выявлено в плазме крови достоверное повышение уровня ТБК – реактантов: МДА до 58,97±3,14 нмоль/л в контроле и до 64,65±2,04 нмоль/л в основной группе ($p<0,001$); ДК до 1,03±0,05 ммоль/л в контроле и 1,12±0,04 ммоль/л в основной группе ($p<0,05$). На фоне активации свободнорадикального окисления возникала недостаточность внутриклеточных ферментов антиоксидантной защиты: СОД и КТ. В основной группе уровень СОД составил 26,8± 1,71 усл.ед., КТ – 74,68 $\times 10^3$± 3,10 кат/л, в контрольной 28,00±3,26 усл.ед. и 72,64$\times 10^3$ ± 2,98 кат/л соответственно. Достоверное повышение уровня ТБК-реактантов и ДК свидетельствует об активации процессов свободнорадикального окисления. Одновременное снижение эффективности антиоксидантной защиты манифестируется снижением уровня СОД и КТ. Повторное исследование на 10-е сутки после лечения показало значительное улучшение состояния АОС по сравнению с начальными данными. В основной группе уровень СОД составил 56,5±3.22 усл.ед., КТ – 111,65$\times 10^3$± 5,74 кат/л, в контрольной 47,76±3,01 усл.ед. и 77,13$\times 10^3$± 5,04 кат/л соответственно ($p<0,05$).

Одновременно зафиксировано значительное снижение уровня первичных и вторичных продуктов ПОЛ: в основной группе уровень ДК снизился до 0,69±0,03, ТБК-реактантов – до 37,34±2,37 ($p<0,05$). Для контрольной группы показатели составили 0,91±0,03 и 0,43,58±3,14 соответственно ($p<0,05$) (табл. 1).

Таблица 1. Динамика показателей ПОЛ и АОС.

Метод терапии	Период исследования	Активные продукты ПОЛ		Компоненты АОС	
		ДК, ммоль/л	ТБК, нмоль/л	КТ, кат/л	СОД, усл.ед
Традиционная терапия (20)	До лечения	1,03±0,05	58,97±3,14	72,64$\times 10^3$ ±2,98	28,0±3,26
	После лечения	0,91±0,03	43,58±3,14	77,13$\times 10^3$ ±5,04	47,76±3,01
Цитиколин и актовегин (23)	До лечения	1,12±0,04	64,65±2,04	74,68$\times 10^3$ ±2,98	26,8±1,71
	После лечения	0,69±0,03	37,34±2,37	111,65$\times 10^3$ ±5,74	56,5±3,22

Применение антиоксидантной и нейропротекторной терапии приводит к достоверному увеличению скорости восстановления неврологических функций (табл.2).

Таблица 2. Динамика неврологических показателей неврологического дефицита по шкалам

	Шкала NIHSS		Шкала Ренкина		Шкала Бартель	
	Основная	Контроль	Основная	Контроль	Основная	Контроль
Начало инсульта	13,9±0,86	14,0± 0,10	4,3±0,18	4,3±0,3	-	-
7-е сутки	11,0±0,76	11,2±0,74	3,65±0,17	3,6±0.16	43,0±4,29	36,6±5,21
14-е сутки	9,04±0,7	9,9±0,60	3,08±0,20	3,3±0,15	55,2±4,22	47,5±3,51
21-е сутки	7,73±0,66	9,1± 0,56	2,73±0,16	2.7±0,15	65,4±4,01	57,0±3,88

Выводы: Анализ показателей ПОЛ и АОС показывает, что применение нейропротекторной терапии более эффективно снижает уровень ПОЛ, чем традиционная терапия, при этом значительно повышая активность основных внутриклеточных антиоксидантных ферментов. Традиционная терапия менее активно снижает уровень оксидантного стресса, восстанавливает АОС.

Динамика биохимических показателей коррелировала с позитивными изменениями неврологического статуса и обе эти позиции демонстрировали неоспоримое преимущество нейропротекторной и антиоксидантной терапии как фактора, корригирующего один из наиболее универсальных механизмов (поддержание окислительно-антиоксидантного равновесия).

Целесообразно проведение дальнейших исследований по изучению динамики показателей ПОЛ при ишемическом инсультеу пациентов разных возрастных групп.

ЛИТЕРАТУРА:

1. **Віничук С.М.** Гострий ішемічний інсульт / Віничук С.М., Прокопів М.М. - Київ: Наук. думка, 2006. – 286 с.
2. Комплексна нейропротекція в гострий період ішемічного інсульту / **Віничук С.М., Мохнач В.О., Прокопів М.М., Волосовець А.О., Пустова О.А.** // Медицина неотложных состояний. – 2008. - №4(17). – С.53-59.
3. **Владимиров Ю.А**. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / **Владимиров Ю.А., Арчаков А.И., Франк Г.М. (ред.).-** М. «Наука» 1972.- 252 с.
4. Состояние антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов у больных, перенесших каротидную эндартерэктомию, в течение первых суток под влиянием цераксона / **Дюба Д.Ш., Евтушенко С.К., Родин Ю.В., Федорова А.А.** // Международный неврологический журнал. – 2010.- №4 (34) .- С.21-23.
5. Свободнорадикальные процессы и антиоксидантная терапия при ишемии головного мозга / **Соловьева Э.Ю. , Миронова О.П., Баранова О.А., Бекман Э.М., Асейчев А.В., Федин А.И., Азизова О.А.** // Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. – 2008. – Т 108. - №6. – С. 37 – 42.
6. **Черний В.И.** О целесообразности сочетанного применения нейропротекторов при острой церебральной недостаточности различной этиологии / **Черний В.И., Островая Т.В., Андронова И.А**. //Укр. невр. журн. – 2008. - №1.- С.48-56.
7. **Яворська В.О**.Специфічне лікування ішемічного інсульту: нейропротекція / **Яворська В.О., Фломін Ю.В.** // Международный неврологический журнал.- 2010. - №6(36). – С.147 – 159.
8. **Andersen M.** Effects of citicoline combined with trombolytic therapy in rat embolic stroke model / **Andersen M., Overgaard K., Meden P. et al** // Stroke .- 1999. – Vol.30. – P. 1464-1471.
9. **Adibhatla R.M.** Citicoline: neuroprotective mechanisms in cerebral ischemia/ **Adibhatla R.M., HatcherJ.F., Dempsey R.J.** // J. Neurochem. – 2002. – Vol.80. – P.15-23.
10. **De Bono D.P**. Free radicals and antioxidants in vascular biology: the role of reaction kinetics, environment and substrate turnover/ **De Bono D.P**.// Quarterly Journal of Medicine. – 1994. – Vol.54. – P.445-453.
11. **Halliwell B.O.** Free radicals in biology and medicine / **Halliwell B.O.,Gutteridze J.M.** Oxford: Clarendon press 1989. – P. 115-125.
12. **Parker L.** Free radicals in the brain / **Parker L.** Berlin: Springer 1992. – P. 1 – 14.

Пустовая О.А., Василенко В.Н., Рыбалка О.Ю., Пустовой А.Ю. Свободнорадикальное окисление и его коррекция при ишемическом инсульте // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 2. – С. 71-73.

Было изучено состояние антиоксидантной системы и уровень активности процессов свободнорадикального окисления в остром периоде церебрального ишемического инсульта путем определения уровня продуктов перекисного окисления липидов, показателей неврологического статуса по шкалам, а также влияние нейропротекторной терапии на уровень перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты. Динамика биохимических показателей коррелировала с позитивными изменениями неврологического статуса и обе эти позиции демонстрировали неоспоримое преимущество нейропротекторной и антиоксидантной терапии.

Ключевые слова: ишемический инсульт, перекисное окисление липидов, нейропротекторная терапия.

Пустова О.А., Василенко В.М., Рибалка О.Ю., Пустовий О.Ю. Вільнорадикальне окислення і його корекція при ішемічному інсульті // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 2. – С. 71-73.

Було вивчено стан антиоксидантної системи та рівень активності процесів вільнорадикального окислення в гострому періоді церебрального ішемічного інсульту шляхом визначення рівня продуктів перекисного окислення ліпідів, показників неврологічного статусу за шкалами, а також вплив нейропротекторной терапії на рівень перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту. Динаміка біохімічних показників корелювала з позитивними змінами неврологічного статусу і обидві ці позиції демонстрували незаперечну перевагу нейропротекторной та антиоксидантної терапії.

Ключові слова: ішемічний інсульт, перекисне окислення ліпідів, нейропротекторная терапія.

Pustovaya O.A., Vasilenko V.N., Rybalka O.Y., Pustovoy A.Y. Free radical oxidation and its correction in ischemic stroke // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 2. – С. 71-73.

It has been studied the state of the antioxidant system and the level of activity of free radical oxidation in acute cerebral ischemic stroke by determining the level of lipid peroxidation products, neurological status indicators on the scale and the effect of neuroprotective therapy on lipid peroxidation and antioxidant protection. The dynamics of biochemical parameters correlated with positive changes of neurological status and both of these positions showed a distinct advantage neuroprotective and antioxidant therapy.

Key words: ischemic stroke, peroxidation of lipids, neuroprotective therapy.

Надійшла 11.01.2013 р.
Рецензент: проф. І.В.Лоскутова