

8. Bogdan C. Regulation of lymphocytes by nitric oxide / C. Bogdan // *Methods Mol. Biol.* – 2011. – Vol. 677. – P. 375-393.
9. Boyum A.A. A one-stage procedure for isolation of granulocytes and lymphocytes from human blood / A.A. Boyum // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 1968. – Vol. 21, Suppl. 97. – P. 51-76.
10. Dennie J. Distressing perineal and vaginal pain in prepubescent girls: an aetiology / J. Dennie, S.R. Grover // *J. Paediatr. Child. Health.* – 2013. – Vol. 49. – № 2. – P. 138-140.
11. Dotters-Katz S. Parasitic infections in pregnancy / S. Dotters-Katz, J. Kuller, R.P. Heine // *Obstet. Gynecol. Surv.* – 2011. – Vol. 66, № 8. – P. 515-525.
12. Geyer J.W. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates / J.W. Geyer, D. Dabich // *Anal. Biochem.* – 1971. – Vol. 39, № 2. – P. 412-417.

СИСТЕМА NO-СИНТАЗА/АРГИНАЗА ПЛАЗМИ КРОВІ І ЛІМФОЦИТІВ У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ І АСКАРИДОЗОМ

В.О. Склярєва, Л.П. Білецька, Н.Б. Панасюк

Резюме. Показані зміни стану системи NO-синтаза/аргиназа і окислювальних процесів в плазмі крові і лізаті лімфоцитів у здорових жінок, жінок з первинним бесплодием без аскаридоза і жінок з первинним бесплодием з аскаридозом. Отримані дані свідчать про підвищення в лізаті лімфоцитів жінок з первинним бесплодием активності eNOS. Виражених змін активності NO-синтази і аргинази в лізаті лімфоцитів і окислювальних процесів в плазмі крові і лізаті лімфоцитів у жінок з первинним бесплодием з аскаридозом не виявлено.

Ключові слова: аскаридоз, NO-синтаза, аргиназа, окислювальні процеси, лімфоцити.

THE STATUS OF NO-SYNTHASE/ARGINASE SYSTEM OF BLOOD PLASMA AND LYMPHOCYTES IN WOMEN WITH INFERTILITY AND ASCARIASIS

V.O. Sklyarova, L.P. Biletska, N.B. Panasyuk

Abstract. The status of the system NO-synthase/arginase and oxidative processes in blood plasma and lymphocytes lysate in healthy women, women with primary infertility without ascariasis and women with primary infertility and ascariasis was investigated. Obtained data show the increase of eNOS activity in lymphocytes lysate of women with primary infertility. We revealed no significant changes of NO-synthase and arginase activity in lymphocytes lysate and oxidative processes in blood plasma and lymphocytes lysate in women with primary infertility and ascariasis.

Key words: ascariasis, NO-synthase, arginase, oxidative processes, lymphocytes.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Lviv)

Рецензент – проф. О.М. Юзько

доц. Н.П. Григор'єва

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 4 (68). – P. 132-135

Надійшла до редакції 17.09.2013 року

© В.О. Склярєва, Л.П. Білецька, Н.Б. Панасюк, 2013

УДК 616.155+616.155.3-008.853+616.12-005.4

Н.Р. Сохор

ЧИННИКИ, ЩО ВПЛИВАЮТЬ НА ВМІСТ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ ТА АПОПТОЗ ЛЕЙКОЦИТІВ КРОВІ У ГОСТРОМУ ПЕРІОДІ ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського»

Резюме. Вивчено вміст лейкоцитів крові у стадії апоптозу, некрозу та з підвищеним вмістом активних форм кисню в гострому періоді ішемічного інсульту (II) методом проточної цитофлуориметрії. На вміст ANV^T, PI⁺ - та АФК⁺- лейкоцитів крові в гострому періоді мозкового інфаркту впливають патогенетичний тип інсульту,

вік хворих, тяжкість інсульту, розмір вогнища, наявність набряку та геморагічної трансформації інфаркту.

Ключові слова: гострий період ішемічного інсульту, апоптоз, некроз, активні форми кисню.

Вступ. Окислювальний стрес може відігравати вирішальну роль в ішемічному каскаді через апоптотичну чи некротичну загибель нейронів при ішемічному інсульті (II) [12]. Найпоширенішими окислювачами є активні форми кисню (АФК) та продук-

ти перекисного окиснення ліпідів. У фізіологічних умовах АФК, які включають супероксид-аніон ($\cdot\text{O}_2^-$), перекис водню (H_2O_2) і гідроксильні радикали ($\cdot\text{OH}$), генеруються на низькому рівні і відіграють важливу роль у передачі сигналів і метабо-

© Н.Р. Сохор, 2013

лічних шляхах [10]. Внутрішньоклітинні джерела АФК включають ксантинооксидази, мітохондріальні ланцюги перенесення електронів, арахідонову кислоту, і NADPH-оксидази [7]. При надзвичайно високих рівнях окисного стресу відбувається некроз клітини, зумовлений вичерпанням АТФ. Важливо відзначити, що вміст АФК контролюється рівнем ендогенних антиоксидантів, таких, як супероксиддисмутаза, глутатіон-пероксидаза, глутатіон і каталаза [14].

Ряд досліджень вказують на важливу роль АФК у пошкодженні тканин та клітинній смерті після церебральної ішемії [3]. У зоні інфаркту проходить надлишкове виділення АФК, інактивація ферментів антиоксидантного захисту, підвищення споживання антиоксидантів, у результаті чого природні захисні механізми не в змозі захистити нейрони від окиснювального пошкодження [10]. АФК викликають пошкодження тканин після інсульту або безпосередньо через участь у руйнуванні клітинних білків, ліпідів і ДНК, або побічно, шляхом порушення нормальної клітинної сигналізації та регуляції генів [13]. Взаємодія АФК з іншими компонентами тканин веде до генерації різних інших радикалів. Особливе значення має взаємодія O_2 з окисом азоту, якому синтезується високотоксична молекула пероксинітриду. Цей окиснювач викликає подальше пошкодження тканини і визначений як важлива молекула-тригер для апоптозу при ІІ [4]. Вважається, що мітохондрії, які є основним джерелом АФК, беруть участь в апоптозі, індукованому ішемією. Дослідження показали, що мітохондріальні АФК виробляються за допомогою різних стимулів, у тому числі гіпоксії, токсичності (глутамат) і Ca^{2+} перевантаження після церебральної ішемії [6]. Генерація АФК є найбільшою після реперфузії [9], яка, зокрема, може викликати надлишковий синтез АФК в мітохондріях [16]. Генеровані мітохондріальні АФК впливають на вивільнення цитохрому С й інших апоптотичних білків з мітохондрій у цитозоль нейронів, що призводить до апоптозу і дефектної експресії генів після ІІ [5, 15]. Таким чином, сучасні дані свідчать про те, що окиснювальний стрес і апоптоз явища тісно пов'язані між собою в патофізіології ІІ.

Мета дослідження. Оцінити вміст лейкоцитів периферичної крові на стадії апоптозу і некрозу та лейкоцитів з підвищеним рівнем внутрішньоклітинних АФК у гострому періоді ІІ залежно від віку пацієнтів, типу ІІ, тяжкості інсульту та змін на комп'ютерній томограмі (КТ).

Матеріал і методи. Обстежено 86 хворих на ІІ з різними підтипами, які перебували на стаціонарному лікуванні в інсультному відділенні Тернопільської обласної комунальної клінічної психоневрологічної лікарні віком від 45 до 76 років (у середньому $(59,4 \pm 3,7)$ р.). І вікову групу склав 41 (47,7 %) пацієнт 45-60 р., ІІ – 45 (52,3 %) осіб старше 60 р. Гемодинамічний ішемічний інсульт (ГДІ) діагностовано у 24 (27,9 %) обстежуваних пацієнтів, атеротромботичний (АТІ) – у 19

(22,1 %), кардіоемболічний (КЕІ) – у 23 (26,4 %) та лакунарний (ЛІ) – у 20 (22,2 %) пацієнтів. Діагноз мозкового інфаркту верифікували за допомогою спіральної КТ (Astelon 4, Toshiba). Визначали розмір інсульту, його локалізацію, наявність набряку та геморагічної трансформації (ГТ), зміщення серединних структур. Відповідно до змін на КТ пацієнти були розподілені на три групи: з малими ІІ – до 10 см^3 – 30 (34,9 %), ІІ середніх розмірів – $(10-100) \text{ см}^3$ – 44 (51,2 %) та великими ІІ – $>100 \text{ см}^3$ – 12 (13,9 %) пацієнтів. Тяжкість стану пацієнтів та ступінь неврологічного дефіциту оцінювалися за шкалою NIHSS на 1-шу добу інсульту. Легкий ІІ діагностовано у 25 (29,1 %), середньотяжкий – у 37 (45,2 %), тяжкий – у 16 (18,6 %) та дуже тяжкий – у 8 (9,3 %) пацієнтів.

Кількість лейкоцитів периферичної крові в апоптозі та некрозі визначали за допомогою проточного цитофлуориметра Epics XL (Beckman Coulter, США). Використовували набір ANNEXIN V-FITC-kit (Bender Medsystems, Австрія), який включає анексин AV, кон'югований з флуоресцеїнізотіоціанатом (Annexin AV – FITC), пропідій йодид (PI) і зв'язуючий буфер. Анексин V застосовували для виявлення клітин, які вступили в апоптоз (ANV⁺-клітини). Пропідій йодид (PI) використовували як маркер клітинного некрозу (PI⁺-клітини) [2]. Досліджувану популяцію клітин гейтували в координатах FSC (вісь абсцис) і SSC (вісь ординат), потім аналізували на наявність флуоресценції в координатах на основі Dot Plot (рис.). Дискримінаційний аналіз типу клітинної смерті включав: 2-й квадрант – лейкоцити, позитивні за PI і анексином V-FITC – пізня стадія апоптозу або некроз; 3-й квадрант – лейкоцити, негативні за PI і анексином V-FITC – життєздатні клітини; 4-й квадрант – лейкоцити, позитивні за анексином V-FITC і негативні за PI – рання стадія апоптозу. Отримані результати представляли у відсотках (співвідношення числа ANV⁺-клітин та PI⁺-клітин до загальної кількості фракції лейкоцитів).

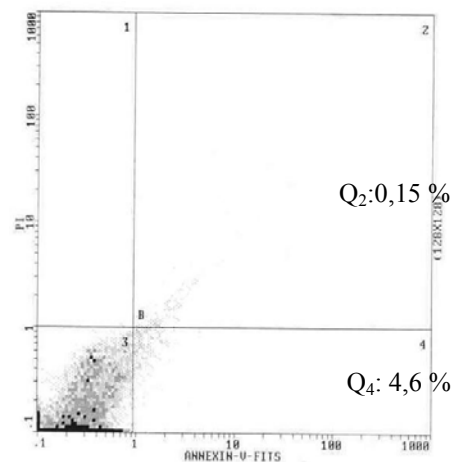


Рис. Розподіл апоптотичних і життєздатних клітин у режимі DotPlot (двопараметрична гістограма). По осі абсцис – інтенсивність флуоресценції анексину V – FITC. По осі ординат – інтенсивність флуоресценції PI. Контроль

Для визначення кількості клітин з підвищеним рівнем АФК використовували дихлорфлуоресцеїну діацетат (ДХФ-ДА) («Sigma Aldrich», USA). Оцінювали параметри зеленої флуоресценції в клітинах, виявлених на FL1-каналі за допомогою проточної цитофлуориметрії Erics XL (Beckman Coulter, США) [1]. Значення досліджуваного параметра виражали у відсотках (кількість лейкоцитів із підвищеним внутрішньоклітинним вмістом АФК (АФК⁺-клітини) до кількості клітин із нормальним вмістом АФК).

Контрольну групу (КГ) склали 34 пацієнти, репрезентативні за віком і статтю по відношенню до осіб з П.

Статистичну обробку отриманих результатів виконано за допомогою пакета статистичного аналізу Statistica 8. Визначали наступні показники: середнє значення (М), стандартна похибка (m). Порівняння вибірок здійснено із застосуванням критерію Стьюдента (t) та коефіцієнта кореляції Пірсона (r).

Результати дослідження та їх обговорення. У хворих на П виявлено достовірно вищі значення усіх визначуваних показників по відношенню до КГ. Так, рівень ANV⁺-клітин склав 25,5±2,01 %, PI⁺- клітин – 1,87±0,12 %, АФК⁺-клітин – 30,57±2,04 %, у КГ ці показники стано-

Таблиця 1

Вміст AN⁺, PI⁺ та АФК⁺-клітин у хворих на ішемічний інсульт різного віку (M±m)

Показник	Вікові групи	
	45-60 р. (n=41)	Старше 60 р. (n=45)
ANV ⁺ -клітини, %	22,8±1,0	27,3±1,2*
PI ⁺ -клітини, %	1,49±0,16	2,12±0,13*
АФК ⁺ -клітини, %	23,71±1,6	36,27±3,4*

Примітка. *- показники достовірні по відношенню до значень пацієнтів 45-60 р.

Таблиця 2

Вміст AN⁺, PI⁺ та АФК⁺-клітин у хворих на ішемічний інсульт з різним розміром ішемічного вогнища (M±m)

Показник	Розмір ішемічного вогнища		
	до 10 см ³ (n=30)	10-100 см ³ (n=44)	>100 см ³ (n=12)
ANV ⁺ -клітини, %	23,20±1,64	24,78±1,32	30,12±1,46*
PI ⁺ -клітини, %	1,65±0,11	1,94±0,13*	2,07±0,10*
АФК ⁺ -клітини, %	23,71±1,6	24,78±2,24	43,8±3,01*

Примітка. *- показники достовірні по відношенню до значень хворих на П до 10 см³

Таблиця 3

Вміст AN⁺, PI⁺ клітин та активних форм кисню у хворих на ішемічний інсульт залежно від наявності та відсутності набряку (M±m)

Показник	Зміни на КТ	
	Без набряку (n=69)	Наявність набряку (n=17)
ANV ⁺ -клітини, %	25,22±1,29	29,37±1,25*
PI ⁺ -клітини, %	1,88±0,15	1,91±0,25
АФК ⁺ -клітини, %	22,37±2,16	31,15±1,42 *

Примітка. *- показники достовірні по відношенню до пацієнтів без набряку головного мозку

Таблиця 4

Вміст AN⁺, PI⁺ клітин та активних форм кисню у пацієнтів із кардіоеMBOLІЧНИМ інсультом із геморагічною трансформацією ГТ (M±m)

Показник	Без ГТ (n=18)	З ГТ (n=5)
ANV ⁺ -клітини, %	25,31±1,28	30,10±1,09*
PI ⁺ -клітини, %	1,88±0,15	1,48±0,25
АФК ⁺ -клітини, %	32,60±2,27	48,70±1,29*

Примітка. *- показники достовірно відрізняються по відношенню до хворих без ГТ

вили $5,12 \pm 1,31$ %, $0,13 \pm 0,03$ % та $12,1 \pm 2,04$ % відповідно.

Проведений аналіз вмісту клітин у апоптозі та некрозі і з підвищеним рівнем АФК у пацієнтів різного віку (табл. 1).

У пацієнтів обох вікових груп вміст ANV⁺, PI⁺ та АФК⁺-клітин був достовірно ($p < 0,05$) вищим, ніж у КГ. Проте в пацієнтів II групи рівень лейкоцитів, що підлягли апоптозу та некрозу, був достовірно вищим, ніж у пацієнтів I групи. У більшій мірі в старшій віковій групі зростала кількість клітин з некрозом (в 1,42 раза). У пацієнтів старше 60 р. достовірно ($p < 0,05$) по відношенню до пацієнтів 45-60 р. підвищувався вміст АФК у клітинах (в 1,5 раза). Виявлено достовірний кореляційний зв'язок між вмістом АФК⁺- та ANV⁺-клітин ($r = 0,679$, $p = 0,003$) та між АФК⁺- і PI⁺-клітинами ($r = 0,736$, $p = 0,002$) у пацієнтів II вікової групи. Також виявлений прямий кореляційний зв'язок між віком хворих та кількістю лейкоцитів з підвищеним вмістом АФК ($r = 0,615$, $p = 0,003$).

Патогенетичний тип II також впливав на апоптичні процеси в лейкоцитах крові у гострому періоді II. Виявлено наступні значення ANV⁺, PI⁺- та АФК⁺-клітин у хворих на II при різних типах: KEI – $25,08 \pm 1,12$ %, $1,95 \pm 0,16$ % та $39,51 \pm 3,23$ %; АПІ – $29,19 \pm 1,33$ %, $2,08 \pm 0,11$ % та $28,00 \pm 3,08$ %; ГДІ – $26,86 \pm 1,03$ %, $1,71 \pm 0,10$ % та $25,60 \pm 2,95$ %; ЛІ – $19,37 \pm 0,77$ %, $1,66 \pm 0,13$ % та $25,87 \pm 2,66$ % відповідно. Таким чином, найвищий вміст лейкоцитів у стадії апоптозу та некрозі виявлявся у хворих на II з АПІ. Достовірно ($p < 0,05$) нижчий, ніж при всіх інших типах II, вміст ANV⁺ клітин спостерігався при ЛІ; кількість лейкоцитів, забарвлених пропідієм йодидом, за даного типу II, була достовірно нижчою порівняно з АПІ та KEI. Найбільша кількість клітин із підвищеним вмістом АФК діагностована при KEI – достовірно ($p < 0,01$) вища, ніж при інших підтипах II.

Виявлено, що вміст ANV⁺-клітин, PI⁺- та АФК⁺-клітин залежить від ступеня тяжкості II. Так, кількість ANV⁺-клітин при легкому II склала $21,08 \pm 1,61$ % і була достовірно нижчою, ніж при інших ступенях тяжкості інфаркту. При середньотяжкому інсульті кількість лейкоцитів, забарвлених алексином, становила $25,91 \pm 1,15$ %, тяжкому – $26,57 \pm 1,03$ % та дуже тяжкому – $40,01 \pm 0,83$ %. Рівень PI⁺-лейкоцитів, по відношенню до осіб з легким II, був достовірно вищим лише при тяжкому ($p < 0,05$) та дуже тяжкому ($p < 0,01$) інсульті. Вміст PI⁺-клітин при легкому мозковому інфаркті становив $1,59 \pm 0,15$ %, середньотяжкому – $1,82 \pm 0,13$ % тяжкому – $2,16 \pm 0,20$ % та дуже тяжкому – $3,04 \pm 0,17$ %. Так само кількість АФК⁺-клітин достовірно відрізнялася порівняно з пацієнтами з легким II – $24,25 \pm 1,90$ % при тяжкому – $31,16 \pm 2,25$ % та дуже тяжкому інфаркті мозку – $32,23 \pm 1,84$ %.

При вивченні вмісту циркулюючих ANV⁺-лейкоцитів у пацієнтів з різними розмірами мозкового інфаркту були виявленні достовірні ($p < 0,05$) відмінності в значеннях при величині інсульту до 10 см^3 та $> 100 \text{ см}^3$ (табл. 2).

На наш погляд, такі зміни можна пояснити більшими розмірами пенумбри та більш значною активацією каскаду імунозапальних процесів, які завжди відбуваються у великій ділянці церебральної ішемії. Так само достовірно ($p < 0,01$) вищим у хворих на II більше 100 см^3 порівняно з пацієнтами з середніми та малими інфарктами мозку був рівень АФК⁺-клітин, оскільки енергетичний дефіцит та посилене вивільнення оксирадикалів при зниженні кровотоку є пусковими механізмами процесів апоптозу. Вміст PI⁺-лейкоцитів був достовірно ($p < 0,05$) вищим по відношенню до групи осіб із невеликим розміром II (до 10 см^3) у пацієнтів із середніми ($10-100 \text{ см}^3$) та великими ($> 100 \text{ см}^3$) вогнищами інфаркту.

Виявлений прямий кореляційний зв'язок між вмістом ANV⁺-клітин та розміром ішемічного вогнища ($r = 0,421$, $p = 0,047$). Одночасно достовірна кореляційна залежність спостерігалася між розміром II та рівнем АФК, визначеним на 1-й день інсульту ($r = 0,505$, $p = 0,023$).

Відповідно до змін на КТ у 17 (19,8 %) пацієнтів спостерігався набряк навколо ішемії зі стисненням бокового шлуночка на боці вогнища (у п'яти з них зі зміщенням серединних структур у протилежний бік). Встановлено, що в осіб із набряком кількість лейкоцитів у стадії апоптозу достовірно ($p < 0,05$) перевищувала їх вміст у пацієнтів без набряку (табл. 3). Вміст лейкоцитів, позитивний за пропідієм йодидом, достовірно не відрізнявся у пацієнтів обох груп. Рівень АФК⁺-клітин був достовірно ($p < 0,01$) вищим у пацієнтів із набряком навколо вогнища ішемії.

У п'яти пацієнтів із KEI на КТ виявлено ГТ. Встановлено, що в пацієнтів із ГТ порівняно з іншими хворими з KEI, достовірно ($p < 0,05$) збільшувався рівень циркулюючих апоптичних лейкоцитів (табл. 4). Достовірно вищим ($p < 0,01$) був вміст АФК⁺-клітин. Рівень PI⁺-клітин при ГТ був нижчим, хоча недостовірно. Наведені дані свідчать про перевагу апоптичних механізмів загибелі клітин при ГТ над некрозом.

ГТ, як правило, зумовлена реперфузією у вогнище некрозу, з подальшим набряком навколо ураженої ділянки. Дослідженнями на тваринах показано, що неконтрольована реперфузія веде до набухання мітохондрій, яке досягає свого піку через 24 години після реперфузії [11]. Набухання мітохондрій, у свою чергу, пов'язане з відкриттям мітохондріальних пор, через які в клітину переходять іони кальцію і концентрація Ca^{2+} пропорційна ступеню відкриття цих пор [8]. У результаті цього посилюється окисний стрес через підвищення синтезу внутрішньоклітинних (у першу чергу мітохондріальних) АФК, активованих різними сигнальними шляхами. Реперфузія ішемізованої мозкової тканини є критичною для відновлення нормальної функції і веде до її вторинного пошкодження – ішемічно-реперфузійного. При цьому медіатори оксидативного стресу, у тому числі АФК, вивільняються прозапальними клітинами в зоні навколо цього ішемічно-реперфузійного ураження.

Висновки

1. На вміст ANV⁺, PI⁺ та АФК⁺-лейкоцитів крові у гострому періоді ішемічного інсульту впливають патогенетичний тип інсульту, вік пацієнтів, тяжкість інсульту, розмір вогнища, наявність набряку та геморагічної трансформації інфаркту.

2. Достовірно більша кількість апоптичних, некротичних та АФК⁺-лейкоцитів виявляється у пацієнтів старше 60 р. порівняно з пацієнтами 45-60 р., при великій ішемії (>100 см³) по відношенню до хворих з мозковими інфарктами до 10 см³, тяжкому та дуже тяжкому ішемічному інсульту за шкалою NIHSS.

3. Найвищий вміст лейкоцитів у стадії апоптозу та некрозу виявлявся у пацієнтів з атеротромботичним інсультом, АФК⁺-клітин – при кардіо-емболічному інсульті, найнижчі значення цих показників – при лакуарному інсульті.

4. Достовірно більша кількість ANV⁺ та АФК⁺-лейкоцитів спостерігається за наявності набряку навколо ішемічного інсульту та при геморагічній трансформації інфаркту.

Перспективи подальших досліджень будуть спрямовані на вивчення особливостей анти-апоптичних механізмів при різних підтипах ішемічного інсульту в гострому періоді.

Література

1. Дамбаева С.В. Оценка продукции активных форм кислорода методом лазерной проточной цитометрии в клетках периферической крови человека / С.В. Дамбаева, Д.В. Мазуров, В.В. Пинягин // Иммунология. – 2001. – № 6. – С. 58-61.
2. Annexin V-affinity assay: a review on an apoptosis detection system based on phosphatidylserine exposure / van M. Engeland, L.J. Nieland, F.C. Ramaekers [et al.] // Cytometry. – 1998. Jan 1. – Vol. 31 (1). – P. 1-9.
3. Caveolin-1 Inhibits Expression of Antioxidant Enzymes through Direct Interaction with Nuclear Erythroid 2 p45-related Factor-2 (Nrf2) / W. Li, H. Liu, J. S. Zhou [et al.] // J. Biol. Chem. – 2012. – Vol. 287, № 25. – P. 20922-20930.
4. Dirnagl U. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view / U. Dirnagl, C. Iadecola, M.A. Moskowitz // Trends Neurosci. – 1999. – Vol. 22. – P. 391-397.

5. A Bax-induced pro-oxidant state is critical for cytochrome c release during programmed neuronal death / R.A. Kirkland, J.A. Windelborn, J.M. Kasprzak [et al.] // J. Neurosci. – 2002. – Vol. 22. – P. 6480-6490.
6. Mergenthaler P. Pathophysiology of stroke: lessons from animal models / P. Mergenthaler, U. Dirnagl, A. Meisel // Metab. Brain Dis. – 2004. – Vol. 19. – P. 151-167.
7. NADPH-oxidase activity is elevated in penumbral and non-ischemic cerebral arteries following stroke / A.A. Miller, G.J. Dusting, C.L. Roulston [et al.] // Brain Res. – 2006. – Vol. 1111. – P. 111-116.
8. Mitochondrial calcium and the permeability transition in cell death / J.J. Lemasters, T.P. Theruvath, Z. Zhong [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 2009. – Vol. 1787. – P. 1395-1401.
9. Superoxide during reperfusion contributes to caspase-8 expression and apoptosis after transient focal stroke / Y. Morita-Fujimura, M. Fujimura, T. Yoshimoto [et al.] // Stroke. – 2001. – Vol. 32. – P. 2356-2361.
10. Oxidative stress: apoptosis in neuronal injury / K.P. Loh, S.H. Huang, R.De Silva [et al.] // Curr. Alzheimer Res. – 2006. – Vol. 3. – P. 327-337.
11. Reperfusion promotes mitochondrial dysfunction following focal cerebral ischemia in rats / J.Li, X. Ma, W. Yu [et al.] // PLoS One. – 2012. – Vol. 7. – P. 46498-46498.
12. Protective effects of peroxisome proliferator-activated receptors gamma coactivator-1 alpha against neuronal cell death in hippocampal CA 1 subfield after transient global ischemia / S.D. Chen, T.K. Lin, D.I. Yang [et al.] // J. Neurosci. Res. – 2010. – Vol. 88. – P. 605-613.
13. Roles of Oxidative Stress, Apoptosis, PGC-1α and Mitochondrial Biogenesis in Cerebral Ischemia / Shang-Der Chen, Ding-I Yang, Tsu-Kung Lin [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2011. – Vol. 12. – P. 7199-7215.
14. Overexpression of SOD1 protects vulnerable motor neurons after spinal cord injury by attenuating mitochondrial cytochrome c release / T. Sugawara, A. Lewen, Y. Gasche [et al.] // FASEB J. – 2002. – Vol. 16. – P. 1997-1999.
15. Sugawara T. Reactive oxygen radicals and pathogenesis of neuronal death after cerebral ischemia / T. Sugawara, P.H. Chan // Antioxid. Redox. Signal. – 2003. – Vol. 5. – P. 597-607.
16. Szeto H.H. Mitochondria-targeted cytoprotective peptides for ischemia-reperfusion injury / H.H. Szeto // Antioxid. Redox. Signal. – 2008. – Vol. 10. – P. 601-619.

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СОДЕРЖАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И АПОПТОЗ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА*Н.Р. Сохор*

Резюме. Изучено содержание лейкоцитов крови в стадии апоптоза, некроза и с повышенным содержанием активных форм кислорода в остром периоде ишемического инсульта методом проточной цитофлуориметрии. Установлено, что на содержание ANV⁺, PI⁺ и АФК⁺-лейкоцитов крови в остром периоде мозгового инфаркта влияют патогенетический тип инсульта, возраст больных, тяжесть инсульта, размер очага, наличие отека и геморагической трансформации инфаркта.

Ключевые слова: острый период ишемического инсульта, апоптоз, некроз, активные формы кислорода.

FACTORS AFFECTING THE CONTENT OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND APOPTOSIS OF WHITE BLOOD CELLS IN THE ACUTE PERIOD OF ISCHEMIC STROKE*N.R. Sokhor*

Abstract. The content of white blood cells in the stages of apoptosis and necrosis and content of white blood cells with high level of reactive oxygen species in acute period of ischemic stroke were studied by means of flow cytometry. The

content of ANV⁺, PI⁺ and ROS⁺ white blood cells in acute period of brain infarction depends on pathogenetic type of ischemic stroke, the patients' age, severity of stroke, the size of the ischemic focus, the presence of edema and hemorrhagic transformation of infarction.

Key words: acute period of ischemic stroke, apoptosis, necrosis, reactive oxygen species.

SHEE «I.Ya. Horbachevskiy State Medical University» (Ternopil)

Рецензент – проф. В.М. Пашковський

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 4 (68). – P. 135-140

Надійшла до редакції 16.09.2013 року

© Н.Р. Сохор, 2013

УДК 615.211:618.5-089.888.61

М.В. Стигар

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ ЗАЛЕЖНО ВІД РІВНЯ АДИПОНЕКТИНУ

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Резюме. У 78 хворих на ревматоїдний артрит (РА) жіночої статі віком (50,2±12,1) років вивчена ефективність стандартного лікування залежно від рівня адипонектину в крові. Дослідження динаміки показників кількості болісних, набряклих суглобів, швидкості осідання еритроцитів та DAS28 показало, що за наявності гіпоадипонектиемії (менше 1,4 нг/мл) ефективність лікування була нижчою. Максимальна позитивна динаміка

досліджуваних показників через 12 та 24 тижні спостерігалася в пацієнтів з рівнем адипонектину вище 2,9 нг/мл, серед яких виявлено найбільшу кількість респондентів за ACR20 та ACR50. Отримані дані засвідчують, що гіпоадипонектиемія у хворих на РА є предиктором резистентності до лікування.

Ключові слова: адипонектин, ревматоїдний артрит.

Вступ. В останні роки з'явилися дані про те, що перебіг РА ускладнюється при дисбалансі гормонів жирової тканини [2]. У низки робіт продемонстровано, що РА проявляє себе як захворювання із системними порушеннями обміну, яке включає порушення в стромальному диференціюванні клітин адипогенезу та хондрогенезу і репрезентується дисбалансом адипокінів [3]. Останні причетні до регулювання як імунних, так і запальних процесів [8, 9]. Вплив адипонектину на перебіг аутоімунних захворювань пов'язують з їх впливом на обмін цитокінів [1, 4, 5, 10]. У низки робіт висловлюється припущення про те, що адипонектин може діяти як захисний фактор при РА [5]. Відомо, що нормальний рівень адипонектину в порожнині суглоба сприяє більшій стійкості гіалінового хряща до навантажень. Також продемонстровано зміну концентрації адипонектину в порожнині запалених суглобів, уражених РА [10].

З урахуванням цих даних можна припустити, що дисадипокінемія може бути обтяжуючим чинником несприятливого перебігу РА та впливати на ефективність його лікування.

Мета дослідження. Оцінити ефективність лікування хворих на РА залежно від рівня адипонектину.

Матеріал і методи. Дослідження проведене згідно з принципами Гельсінської декларації та було Етичним Комітетом при Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова. Усі хворі дали письмову згоду на участь у до-

слідженні. Згідно з цілями і завданнями дослідження обстежено 78 хворих на РА жіночої статі і 30 здорових осіб контрольної групи, репрезентативних за віком. Діагноз РА встановлювали за діагностичними критеріями, запропонованими Американською Колегією ревматологів спільно з Європейською протиревматичною лігою [7]. Рівень адипонектину в сироватці крові визначали за допомогою імуноферментного методу, використовуючи стандартні набори фірми "Orgenium" (Фінляндія).

Для оцінки активності РА використовувався індекс активності DAS28 (Disease Activity Score), який розраховували за формулою, запропованою D. Van der Heijde [11]. Також оцінювався загальний стан здоров'я за візуальною аналоговою шкалою (ВАШ), де мінімальне значення (відсутність симптомів і ознак захворювання) було рівне нулю, а максимальне значення (найвищий ступінь вираженості захворювання) – 100 [6].

Для оцінки зв'язку між ефективністю лікування та рівнем адипонектину в крові хворих на РА усіх досліджуваних розподілили за процентильним рангом на три групи. До першої групи увійшли 20 пацієнтів із рівнем адипонектину менше 1,4 нг/мл (до 25-го процентіля). Другу групу склали 39 пацієнтів, у яких рівень адипонектину був у межах від 1,4 нг/мл до 2,9 нг/мл (від 25-го до 75-го процентіля). Пацієнти третьої групи (вище 75-го процентіля) мали рівень адипонектину вище 2,9 нг/мл (19 осіб).

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою стандартного програмного