

УДК 616.721.1:577.73

В.В. Погорелов, В.І. Жуков

Харківський національний медичний університет

ПАТОГЕНЕТИЧНІ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКИ МІЖ ОКСИДАНТНОЮ Й АНТИОКСИДАНТНОЮ СИСТЕМАМИ В РОЗВИТКУ ДИСКОГЕННОЇ РАДИКУЛОШЕМІЇ

Досліджено патогенетичні взаємозв'язки між оксидантною та антиоксидантною системами у розвитку та прогресуванні дискогенної радикулошемії поперекового відділу хребта, яка у своїй основі має нейродеструктивні порушення, що виникають внаслідок метаболічних змін гомеостазу як відповідь на оксидативний стрес. У сироватці крові 46 хворих та 20 здорових вивчено зміни стану оксиду азоту і його синтази та ферментативної системи глутатіону з мелатоніном у хворих у віці 31–50 років. Виявлено вірогідне зниження активності ферментів антиоксидантної системи глутатіону та мелатоніну у хворих у порівнянні з групою контролю.

Ключові слова: оксид азоту, глутатіон, дискогенна радикулошемія, мелатонін.

За сучасними уявленнями більшість життєво важливих метаболічних процесів в організмі людини тісно пов'язана з процесами вільнорадикального окиснення, які є необхідними біологічними реакціями і визначають рівень діяльності функціональної системи регуляції клітинного гомеостазу [1, 2].

Надлишок вільних радикалів і продуктів перекисного окиснення ліпідів спричиняють структурні і функціональні uszkodження біологічних мембран. Доведено, що вивільнення активних форм кисню і гіперпродукція оксиду азоту (NO) як відповідь на оксидативний стрес сприяють прогресуванню дискогенної компресії з розвитком радикулошемії [2, 3].

Відомо, що NO є регулятором клітинних взаємозв'язків. Він підтримує гомеостаз, формує базальний тонус судин, поряд з простаглінінами інгібує агрегацію тромбоцитів, таким чином підвищує реологічні властивості крові. NO – жиророзчинний газ, який легко перетинає мембрани клітин, має вільнорадикальні властивості. Його утворюють різні клітини: ендотеліоцити, мезангіоцити, міоцити, лімфоцити, тромбоцити, макрофаги, фібробласти, нейротицити тощо. В нервовій тканині NO є головним регулятором циклічного аденінмонофосфату. Велика кількість NO утво-

рюється в ендотелії судин нервової системи. Зв'язує та знищує NO мелатонін, який захоплює активні форми кисню. Мелатонін входить у природну систему захисту нейронів від агресії NO, накопичення якої підсилює нейротоксичність. Підвищення продукції NO пов'язане з індукцією NO-синтазою (iNOS), інтерлейкінами (ІЛ), ліпосахаридами, ендотоксинами. Головним регулятором iNOS є мелатонін, протизапальні цитокіни, ІЛ та індуктори оксидативного стресу. Зниження рівня NO під впливом мелатоніну, у тому числі за рахунок інгібування iNOS, запобігає апоптозу та пригнічує фрагментацію ДНК нейронів. У крові здорової людини знаходиться до 10 мкмоль, а в сечі – 50 мкмоль NO [4]. Негативні явища виникають тоді, коли його сумарна кількість різко знижується або різко підвищується. Це веде до функціональних і структурних змін [1, 2, 4, 5].

Мелатоніну притаманні такі властивості: гіпотермічні, антиоксидантні, імуномодулюючі, адаптогенні. Він приймає участь у проліферації і диференціюванні клітин. Мелатонін – нейрогормон, який являє собою 5-метокси-N-ацетильований дериват серотоніну, а ключовим ферментом його синтезу є N-ацетилтрансфераза і гідроксиіндол-0-метил-

© В.В. Погорелов, В.І. Жуков, 2012

трансфераза. Синтез і секреція його підсилюються у нічні часи, таким чином він приймає участь у циркадних ритмах та регулює різні функції організму. Пік його секреції припадає на другу годину ночі і становить 42–75 пг/мл. У віці від 10 до 40 років середня кількість мелатоніну вдень і пік його всередині ночі складає 10 та 60 пг/мл (40 та 260 пмоль/л) відповідно. Загальна кількість синтезованого за добу мелатоніну дорівнює 30 мкг. Максимальна концентрація припадає на молодий вік, мінімальна – на 65 років і більше [5].

Крім епіфізу, мелатонін синтезується також фагоцитами, тромбоцитами, ендотеліоцитами та іншими клітинами. Він регулює функцію імунної системи та підвищує активність Т- і В-імунних клітин, що зв'язано зі зростанням його концентрації. Про це свідчить відсутність рецепторів до мелатоніну периферичних імунокомпетентних клітин (лімфоцити, нейтрофіли), активуючих мелатонін по відношенню до продукції цими клітинами цитокінів. Між кількістю лімфоцитів і рівнем мелатоніну є зворотний взаємозв'язок, що свідчить про адаптивну направленість впливу мелатоніну на імунітет шляхом підвищення продукції цитокінів, які утворюють Т-хелпери. Таким чином, мелатонін здатний прямо чи опосередковано втручатися в роботу імунної системи, тобто виконувати адаптаційний і модулюючий вплив [6, 7].

Механізм антиоксидантної дії мелатоніну пов'язаний з його здатністю зв'язувати найбільш токсичні гідроксильні радикали, пероксинітрид, NO, синглетний кисень та пероксильний радикал. Поряд з прямим антиоксидантним ефектом, він діє як вторинний антиоксидант, який стимулює активність глутатіонпероксидази (ГП), що перетворює перекис водню у воду, активує супероксиддисмутазу, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу. Крім цього, мелатонін зв'язує іони металів з перемінною валентністю Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , які мають прооксидантні властивості. Антиоксидантні ефекти мелатоніну не пов'язані з його дією на рецептори клітинних мембран, а обумовлені його проникненням в клітину. Мелатонін взаємодіє практично з усіма субклітинними структурами, включно з ядром. Тобто мелатонін може впливати на вільнорадикальні процеси. Його антиоксидантний

ефект забезпечує захист ДНК, ліпідів і білків від пошкодження вільними радикалами.

Таким чином, мелатонін може бути однією з основних ланок у захисті організму від оксидативного стресу [5–7]. Його антиоксидантні ефекти попереджають пошкодження нейронів різними агресивними продуктами деградації міжхребцевих дисків [7]. Мелатонін здатний стимулювати активність антиоксидантних ферментів – ГП, глутатіонредуктази (ГР) і глутатіонтрансферази (ГТ), та пригнічувати активність iNOS. В патогенезі розвитку дискогенної радикулоішемії важливу роль відіграє контрактура м'язів поперекового відділу хребта. Тому можливо припустити, що зниження рівня мелатоніну в ранковий час приводить до збільшення NO, який здатен інгібувати гуанілатциклазу, що у свою чергу приводить до зменшення циклічного гуаніномонофосфату в м'язових волокнах та підвищує рівень внутрішньоклітинного кальцію і тим самим блокує розслаблення м'язів [8–10].

При аналізі літературних даних патогенезу дискогенної радикулоішемії із нашого досвіду встановлено, що провідну роль у розвитку та прогресуванні цього синдрому відіграють патологічні зміни у формі активації процесів перекисного окиснення ліпідів. При прогресуванні дискогенної радикулоішемії закономірно виникає оксидативний стрес, що призводить до накопичення в крові великої кількості вільних радикалів. Як встановлено в наших попередніх роботах, у хворих на вертеброгенну нейрокомпресійну радикулоішемію відмічається підвищення вмісту в сироватці крові дієвих кон'югат і малонового діальдегіду, що свідчить про суттєву активацію процесів ліпопероксидації у хворих з зазначеною патологією [1–3].

У фізіологічних умовах ушкоджуючій дії вільних радикалів і перекисних сполук на біомембрани запобігає багатокomпонентна система антиоксидантного захисту (АОЗ), яка контролює та сприяє зменшенню надмірного рівня продуктів ліпопероксидації. При цьому провідну роль у формуванні АОЗ у клітинах, зокрема у нейронах, відводять ферментативній редокс-системі глутатіону, до складу якої входять відновлений глутатіон і ферменти, що забезпечують регенерацію відновленого глутатіону з його окисненої форми,

а саме ГП, ГР та ГТ [2, 8, 9]. Ця система внутрішньоклітинно забезпечує детоксикацію перекисів, органічних гідроперекисів та інактивацію інших вільних радикалів [3, 9].

В літературі недостатньо даних щодо функціональної активності АОЗ у хворих на дискогенну радикулоішемію. Виходячи з цього, ми вважаємо за доцільне проаналізувати деякі ланки АОЗ хворих на дискогенну радикулоішемію та знайти взаємозв'язки між глутатионом, NO, NOS і мелатоніном у розвитку та формуванні цього синдрому.

Мета роботи – вивчити вміст у сироватці крові хворих на дискогенну радикулоішемію оксиду азоту, відновленого глутатиону і мелатоніну та визначити їх значення в патогенетичній терапії.

Матеріал і методи. Досліджена сироватка крові у 20 здорових (контрольна група) та 46 хворих на дискогенну радикулоішемію віком від 31 до 50 років у період загострення хронічного процесу. Хворі були розподілені на дві групи за віком: 31–40 та 41–50 років. Ферментативну активність NOS і кількість метаболітів NO визначали за модифікованим методом, запропонованим О.М. Ковальновою з співавт. [3, 4]. Кількість мелатоніну в сироватці крові визначали твердофазовим імуноферментним методом [5–7]. Визначали вміст вільних радикалів і окисненої форми глутатиону, їх співвідношення, та активність специфічних ферментів ГП, ГР, ГТ у гомогенаті еритроцитів [8, 9].

Статистичну обробку одержаних результатів здійснювали за допомогою дисперсійного аналізу, при цьому дотримувались основних методів у медико-біологічних дослідженнях [11].

Результати та їх обговорення. Стимуляція нейронів супроводжується активацією iNOS і вивільненням NO, у той час як зміни продукції NO пов'язані з індукцією оксидативного стресу, головними регуляторами якого можуть бути мелатонін і прозапальні цитокіни, які приймають участь у формуванні механізмів запалення та цитотоксичних процесів. Розслаблення і скорочення м'язів поперекового відділу хребта залежить від рівня вивільнення NO з нейронів. Проникаючи у м'язи, NO зв'язується з гуанілатциклазою, відповідальною за синтез вторинного месенджера – циклічного гуанозин-3,5-мо-

нофосфату. Активність м'язових клітин прямо пропорційна концентрації цитозольного кальцію, а збільшення його рівня сприяє з'єднанню актину з міозином, що забезпечує скорочення волокон м'язів поперекового відділу хребта. Проведене дослідження показало зниження рівня NOS у хворих на дискогенну радикулоішемію в порівнянні з контролем у період загострення захворювання (рис. 1).

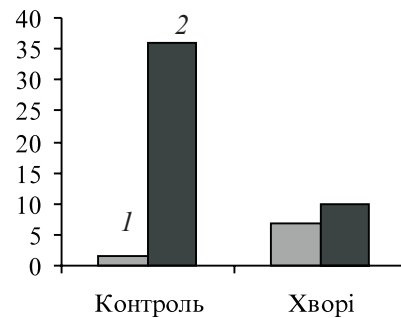


Рис. 1. Зміни стану NO та iNOS у хворих на дискогенну радикулоішемію: 1 – NO, мкМ/л; 2 – NOS, нмоль/мг/білка в мин

Крім цього, у результаті проведеного дослідження встановлено, що у хворих на дискогенну радикулоішемію в порівнянні з групою контролю мав місце виражений дисбаланс у системі глутатиону, тобто концентрація окисненого глутатиону була істотно зниженою, а відновленого глутатиону – підвищеною. Співвідношення окисненого глутатиону до відновленого глутатиону мало тенденцію до зниження. Також мало місце вірогідне зниження ферментів ГП, ГР і ГТ в порівнянні з контролем (табл. 1).

Виражений дисбаланс в системі глутатиону представлений на рис. 2.

Наведені дані свідчать про вірогідне зменшення активності ферментів АОЗ глутатиону. Виходячи з цього, можна вважати, що таке підвищення відновленого глутатиону пов'язане зі збільшенням його споживання, необхідного до нейтралізації вільних радикалів, які утворюються внаслідок активації процесів ліпопероксидації при виникненні оксидативного стресу у хворих на дискогенну радикулоішемію. Зменшення активності ферментативної системи глутатиону супроводжувалось підвищенням рівня прозапальних інтерлейкінів, про що свідчать показники змін цитокінів, наведені в табл. 2.

У сироватці крові хворих на дискогенну радикулоішемію було виявлено дисбаланс

Таблиця 1. Зміни стану глутатіону у хворих з дискогенною радикулоішемією ($M \pm m$)

Показник	Контроль	Хворі
Глутатіон окиснений, ммоль/л	2,32±0,22	1,65±0,17
Глутатіон відновлений, ммоль/л	1,30±0,08	2,32±0,20
Глутатіон окислений/відновлений	1,78	0,71
Глутатіонпероксидаза, нмоль/л ГВ/(хв·гНб)	156,2±3,3	118,5±4,4
Глутатіонредуктаза, НАДФ2/(хв·гНб)	35,4±1,5	23,4±1,5
Глутатіонтрансфераза, нмоль ГВ/(хв·гНб)	160,5 ±4,5	116,2±4,0

Примітка. $p < 0,05$.

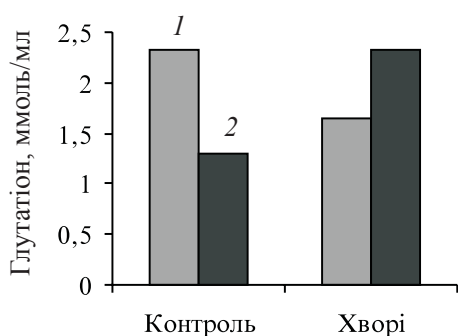


Рис. 2. Зміни стану глутатіону у хворих на дискогенну радикулоішемію:
1 – глутатіон окиснений; 2 – відновлений

Таблиця 2. Зміни профілю цитокінів у хворих на дискогенну радикулоішемію, ($M \pm m$) пг/мл

Показник	Контроль	Хворі
ІЛ-1 β	18,1±0,5	42,9±1,6
ІЛ-2	19,3±0,8	60,8±2,3
ІЛ-6	23,4±1,2	94,7±2,2
ФНП- α	41,8±3,3	118,6±5,1
ІЛ-4	39,6±1,0	34,3±1,2

Примітка. $p < 0,05$.

цитокінів, тобто підвищення вмісту прозапальних цитокінів: ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-6 та ФНП- α , на тлі відносної недостатності протизапального цитокіну ІЛ-4. Такі зміни свідчать про активацію запального процесу у хворих на дискогенну радикулоішемію.

Між концентрацією метаболітів NO і серотоніном існує взаємозв'язок. Серотонін є прямим попередником мелатоніну, тобто NO і мелатонін знаходяться у прямій залежності один від одного. Зниження рівня мелатоніну у хворих на дискогенну радикулоішемію супроводжувалось зниженням рівня NO та зни-

женням NOS (див. рис. 1). Цей механізм діє через механізм пригнічення NOS. Зміни мелатоніну в сироватці крові хворих на дискогенну радикулоішемію наведені на рис. 3.

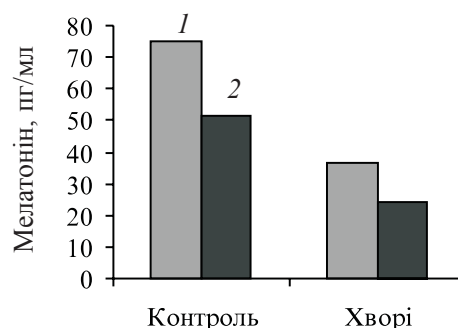


Рис. 3. Зміни мелатоніну в сироватці крові хворих на дискогенну радикулоішемію груп віком 31–40 (1) і 41–50 (2) років

Від рівня мелатоніну також залежить активність оксидативних ферментів – ГР, ГП, ГТ і NOS. Як показали наші дослідження, зниження рівня мелатоніну супроводжувалось пригніченням ферментів ГП, ГР і ГТ (див. табл. 1). Таким чином, підвищення рівня NO інгібує гуанілатциклазу, що веде до зменшення вмісту циклічного гуанозин-3,5-монофосфату у волокнах скелетних м'язів, який збільшує рівень внутрішньоклітинного кальцію, що викликає контрактуру м'язів.

Висновки

1. Механізми дискогенної радикулоішемії пов'язані з контрактурою м'язів, компресією і дислокацією нервових корінців, дисциркуляторними порушеннями їх трофіки та впливом токсичних метаболітів з аутоімунним запаленням, пери- та інтраневральними реакціями, нейроімунними та нейрозапальними процесами в корінцях спинного мозку.

2. Напрямок метаболічних змін у нервовій тканині в умовах оксидативного стресу залежить від вмісту оксиду азоту та його взаємодії з глутатионом і мелатоніном.

3. Виявлені нові механізми у розвитку оксидативного стресу дозволять науково обґрунтувати використання лікарських засобів, які впливають на антиоксидантну систему

глутатиону і мелатоніну в комплексній терапії дискогенної радикулоїшемії.

Перспективність дослідження. Виявлені взаємозв'язки між оксидом азоту, антиоксидантною системою глутатиону і мелатоніну дозволять визначити їх прогностичне значення в патогенетичній терапії дискогенної радикулоїшемії.

Список літератури

1. Біленічев І. Ф. Продукти вільнорадикального перекисного окислення та методи їх ідентифікації / І. Ф. Біленічев, Є. Л. Левицький, С. І. Коваленко // Совр. пробл. токсикологии. – 2002. – № 4. – С. 9–18.

2. Оксидативный стресс у детей, проживающих в экологически неблагоприятных условиях. Возможности нейровитана в его коррекции / Н. В. Нагорная, Н. А. Четверик, А. В. Дубовая [и др.] // Совр. педиатрия. – 2009. – № 1 (23). – С. 124–129.

3. Жуков В. І. Застосування альфа-ліпоєвої кислоти у комплексній терапії вертеброгенної нейрокомпресійної радикулоїшемії / В. І. Жуков, В. В. Погорелов, О. Є. Марченко // Вісник наук. досліджень. – 2011. – № 2. – С. 53–55.

4. Метельская В. А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови / В. А. Метельская, Н. Г. Гуманова // Клин. лаб. диагностика. – 2005. – № 6. – С. 15–17.

5. Мелатонин в норме и патологии / под ред. Ф. И. Комарова, С. И. Комарова, С. И. Рапопорта и др. – М. : Медпрактика, 2004. – 308 с.

6. Значение мелатонина в диагностике некоторых заболеваний внутренних органов и перспективы его применения в практической медицине / К. И. Прошаев, А. Н. Ильницкий, Т. В. Кветная [и др.] // Мед. акад. журн. – 2007. – Т. 7, № 2. – С. 95–105.

7. Дорогой А. П. Мелатонін і його біологічне та клінічне значення у клінічній практиці / А. П. Дорогой // Укр. мед. часопис. – 2005. – № 2–3. – С. 84–88.

8. Мальцев Г. Ю. Методы определения содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / Г. Ю. Мальцев, Н. В. Тышко // Гигиена и санитария. – 2002. – № 2. – С. 69–72.

9. Мецишен И. Н. Глутатионова система організму за умов норм та патології: Актова промова / И. Н. Мецишен. – Чернівці : Мед. академія, 1999. – 26 с.

10. Andersen Julie K. Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence? / Andersen Julie K. // Nature Reviews Neuroscience. – 2004. – Vol. 5. – P. 18–25.

11. Юнкеров В. И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В. И. Юнкеров, С. Г. Григорьев [2-е изд. доп.]. – СПб. : 2005. – 292 с.

12. Каладзе Н. Н. Итоги и перспективы изучения физиологических, патогенетических и фармакологических эффектов мелатонина / Н. Н. Каладзе, Е. М. Соболева, Н. Н. Скоромная // <http://www.pediatric.mif-ua.com/2010>

В.В. Погорелов, В.И. Жуков

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ОКСИДАНТНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМАМИ В РАЗВИТИИ ДИСКОГЕННОЙ РАДИКУЛОИШЕМИИ

Исследованы патогенетические взаимосвязи между оксидантной и антиоксидантной системами в развитии дискогенной радикулоишемии поясничного отдела позвоночника, имеющей в своей основе нейродеструктивные изменения, которые возникают вследствие метаболитических изменений гомеостаза как ответ на оксидантный стресс. В сыворотке крови 46 больных и 20 здоровых людей изучались изменения состояния оксида азота и его синтазы, ферментативной системы глутатиона и мелатонина у больных в возрасте 31–50 лет. Было выявлено достоверное снижение активности ферментов антиоксидантной системы глутатиона и мелатонина у больных в сравнении с группой контроля.

Ключевые слова: оксид азота, глутатион, дискогенная радикулоишемия, мелатонин.

V.V. Pogorelov, V.I. Zhukov

**PATHOGENETIC INTERDEPENDENS BETWEEN OXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE SYSTEMS
IN PROGRESS OF DISCOGENIC RADICULOISCHEMIA**

In article we examined pathogenetic relationship between oxidative and antioxidative systems in developing of discogenic radiculosis. Neurodestructive damages in its structure, appearing in consequence of metabolic disorders of homeostasis as a response to oxidative stress. Changes of nitric oxide and its synthase, glutathione, melatonin were examined in blood serum of 46 sick and 20 healthy people aged of 31–50 years. Trustworthy descent of the antioxidative system of glutathione and melatonin was revealed in comparison with healthy group.

Key words: *nitric oxide, glutathione, discogenic radiculosis, melatonin.*

Поступила 19.03.12