

УДК 616.83–07:612.015.39

ХРОНИЧЕСКИЙ ОКСИДАНТНЫЙ СТРЕСС И ОСОБЕННОСТИ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ЭНДОТОКСИНОВ У БОЛЬНЫХ С ОЧАГОВЫМ НАРУШЕНИЕМ НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ

В. В. Алферова, М. Г. Узбеков, Э. Ю. Мисионжник, Е. В. Лукьянюк, А. Б. Гехт,
В. М. Шкловский, С. Н. Шихов

*ФГУ «Московский НИИ психиатрии» Минздравсоцразвития России,
ГОУ ВПО РГМУ им. Н. И. Пирогова*

Оксидантный стресс (ОС), который сопровождается снижением активности систем антиоксидантной защиты, считается одним из универсальных процессов, которые патогенетически связаны с усилением деструктивных изменений ткани мозга, и соответственно, с нарушением восстановления неврологических и психических функций [2, 3, 6, 8, 9]. Образование вторичных продуктов ОС, токсичных, обладающих высокой биологической активностью «реактивных молекул», таких как свободные кислородные радикалы, малоновый диальдегид (МДА), пероксинитрит, гипохлорит, приводит к прямому цитотоксическому действию, инициирует процессы патологического апоптоза и усиливает глутаматный эксайтотоксический молекулярный каскад, который также вызывает деструктивные изменения нейрональной ткани мозга [2, 3, 6, 8, 9]. Ряд компенсаторных реакций организма больного, направленных на поддержание гомеостаза в условиях ОС, связан с активацией различных систем биотрансформации афизиологических метаболитов, в частности процессов ферментативного окисления эндогенных соединений. Дисрегуляция этих ферментативных систем сопряжена с накоплением токсических продуктов распада, как правило, резко усиливающих процессы ОС и, соответственно, снижающих репаративную пластичность нейрональной ткани мозга. С этой точки зрения представляется актуальным исследование активности семикарбазид-чувствительной аминоксидазы (САО) сыворотки крови, которая участвует в окислении как ксенобиотиков, включая лекарственные препараты, так и эндогенных соединений [8, 11, 17]. Известно, что САО метаболизирует ряд эндогенных аминов с вторичным образованием высокотоксичных альдегидов и перекиси водорода [15, 16]. Можно предположить, что при патологических условиях повышение активности САО будет сопровождаться накоплением вторичных токсичных соединений, что приведет

к усилению ОС и уменьшению репаративных процессов ткани мозга. Вопрос о патогенетическом влиянии хронического ОС и снижения активности систем биотрансформации токсических вторичных продуктов на восстановление нарушенных функций у больных с очаговым поражением мозга мало изучен и остается открытым для дискуссии.

Таким образом, **целью** настоящего исследования явилось определение ряда биохимических показателей окислительного стресса и активности семикарбазид-чувствительной аминоксидазы сыворотки крови у больных с очаговым поражением мозга вследствие ишемического полушарного инсульта (ИИ).

Материал и методы исследования

Клинико-биохимические исследования проведены на базе Центра патологии речи и нейрореабилитации, в лаборатории патологии мозга Московского НИИ психиатрии и на кафедре неврологии и нейрохирургии лечебного факультета ГОУ ВПО РГМУ.

Основную клиническую группу составили 30 больных (средний возраст 69±8 лет, 18 жен., 12 муж.) на 4–5 месяце ИИ в системе внутренней сонной артерии. Диагноз перенесенного инфаркта мозга был поставлен на основании анамнестических сведений, результатов клинического осмотра и данных нейровизуализации (магнитно-резонансной и компьютерной томографии головного мозга). Оценка неврологического дефицита больных основывалась на результатах клинического осмотра и тестирования по международной шкале National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS [10]. Положительная динамика неврологического статуса была связана с уменьшением суммарного клинического балла (более 2 баллов NIHSS). Функциональное восстановление больных ИИ (преимущественно моторная функция) оценивалось по суммарному баллу Bartel Index [14]. Степень тяжести афазии определяли по Бостонской диагностической шале афазии, Scale

from the Boston Diagnostic Aphasia Examination, BDAE [12]. Согласно классификации тяжести афазии по этой шкале: тяжелая степень соответствовала 1–2 балла BDAE, умеренная степень 3–4 балла BDAE, легкая степень 5 баллов BDAE и отсутствие афазии 6 баллов BDAE. Клинический осмотр больных, балльная оценка неврологического дефицита и биохимическое исследование крови проводились в один и тот же день.

Критериями исключения из исследования послужили: тяжелая соматическая патология, которая сопровождалась нарушением системной гемодинамики и метаболизма, психические заболевания и очаговое поражение ЦНС в анамнезе, лакунарные инсульты, тяжелая степень афазии, гемиплегия, выраженные когнитивные нарушения, экстрапирамидный синдром, эпилептические припадки.

Контрольную группу составили 17 испытуемых без клинических признаков церебро-васкулярной недостаточности (ЦВН), сопоставимых по полу и возрасту с группой больных ИИ (Student's t-test, $p < 0,1$).

Во всех случаях было получено информированное письменное согласие на проведение обследования. Исследование было проведено в соответствии с Хельсинской Декларацией для экспериментов, включающих людей.

Биохимические методы исследования. Биохимические параметры у всех больных определяли однократно при поступлении в клинику, до начала какого-либо лечения. Уровень процессов ПОЛ в плазме крови оценивался по концентрации вторичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА). Концентрацию МДА в сыворотке крови определяли при помощи теста с тиобарбитуровой кислотой по методу Е.Н.Коробейниковой [4]. Усиление процессов катаболизма оценивалось по уровню средних молекул (СМ) в плазме крови, который определяли по методу В.В.Николайчик и соавт. [5]. Активность семикарбазид-чувствительной аминоксидазы сыворотки крови определяли по описанным в литературе методам [1].

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием пакета программ Statistica for Windows, версия 6. В связи с малым объемом выборок проверка данных на нормальность распределения проводилась с использованием W-теста Шапиро-Уилки (Shapiro-Wilk W test). При согласовании данных с гипотезой нормальности сравнение несвязанных групп и оценка вариабельности переменной проводилось по t-тесту Стьюдента (Student's t-test). При отсутствии нормального распределения переменных для отличия независимых выборок применялся U-критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney U Test), для оценки связи признаков использовались ранговые коэффициенты корреляции Спирмена (Spearman Rank Order Correlations, r_s) и логистическая регрессия. Во всех видах статистического анализа различия считались значимыми при достигнутом уровне $p < 0,05$.

Результаты

В исследуемой группе больных ИИ ведущими этиологическими факторами заболевания в 64% случаев (19 больных) послужили атеросклероз и артериальная гипертензия и в 30% случаев (11 больных) заболевания сердца (мерцательная аритмия, патология клапанного аппарата). По данным методов нейровизуализации (компьютерной и магнитно-резонансной томографии – КТ и МРТ) постинфарктные изменения вещества мозга (глиомезодермальные рубцы и кисты) в бассейне левой мозговой артерии были выявлены у 24 больных, в правой средней мозговой артерии – в 6 случаях. Во всех случаях при КТ или МРТ отмечались признаки дисциркуляторной энцефалопатии разной степени выраженности. В 24 случаях основные неврологические (и психоневрологические симптомы) были представлены двигательными нарушениями (диссоциированными гемипарезы) различной степени тяжести, нарушением чувствительности и синдромом афазии различной степени выраженности. При поражении правого полушария у 6 больных, наряду с гемипарезом и гипестезией, отмечались нарушения зрительного гнозиса и спастико-паретическая дизартрия.

Хорошее восстановление неврологических функций, связанное с легким моторным и сенсорным дефицитом, а также легкими или умеренными нарушениями экспрессивной речи (Bartel Index 80–85 баллов, NIHSS менее 7 баллов, BDAE 5–4 балла) было выявлено у 30% больных ($n=9$).

Умеренное восстановление неврологических функций в виде негрубого диссоциированного гемипареза и нарушений речи различной степени выраженности (Bartel Index 70–75 баллов, NIHSS 9–12 баллов, BDAE 4–2 балла) наблюдалось у 47% больных ($n=14$).

Минимальное восстановление неврологических функций (отсутствие значимой динамики суммарного клинического балла NIHSS 1–4 месяц ИИ), связанное с выраженным двигательным дефицитом (грубый гемипарез до плегии в дистальных отделах верхней конечности), нарушениями речи различной степени выраженности (Bartel Index 60–55 баллов, NIHSS более 14 баллов, BDAE 4–2 балла) наблюдалось у 23% больных ($n=7$). У 96% больных были выявлены нарушения эмоционально-волевой сферы.

В группе больных ИИ было выявлено достоверное повышение уровня СМ и концентрации МДА по сравнению с группой контроля (Mann-Whitney U Test, $p < 0,001$). Определенная взаимосвязь процессов избыточной липопероксидации МДА и избыточного образования низкомолекулярных продуктов обмена СМ в группе больных ИИ подтверждалось умеренной положительной корреляционной связью МДА/МСМ: $r_s = +0,38$, $p < 0,04$, которая не была характерна для контрольной группы. Определенный параллелизм между накоплением СМ в крови больных в остром периоде ИИ и индукцией процессов ПОЛ, которые могут быть фактором генерации СМ, показан В.А.Яворской и соавт. [9]. Появление поло-

жительной корреляционной связи пула СМ и вторичных продуктов ПОЛ в восстановительном периоде заболевания так же, как и в остром периоде ИИ, отражает патологическое усиление процессов катаболизма. Дизрегуляция системы «перекисное окисление липидов – антиоксиданты» и увеличение концентрации МДА в восстановительном и резидуальном периоде ИИ показано в ряде исследований [2, 7]. Известно, что МДА является чрезвычайно токсичным соединением, обладающим самостоятельной высокой биологической активностью [3, 6, 9]. Для группы контроля была характерна сильная отрицательная корреляционная связь САО/МДА: $r_s = -0,69$, $p < 0,002$, которая, вероятно, отражала один из гомеостатических механизмов биотрансформации ксенобиотиков (включая МДА), связанный с усилением ферментативной активности САО. В группе больных ИИ повышение концентрации МДА не сопровождалось достоверным повышением активности САО, при этом характерная для нормы корреляционная связь САО/МДА отсутствовала. Нарушение сопряженности изменения САО/МДА свидетельствовало о нарушении одного из метаболических путей детоксикации в группе больных ИИ. При этом, в группе больных ИИ прослеживалось формирование нового патологического метаболического пути, связанного с увеличением концентрации СМ, что подтверждалось появлением новой сильной положительной (не характерной для нормы) корреляционной связи увеличения концентрации средних молекул и активности САО: СМ/САО: $r_s = +0,80$; $p < 0,02$.

По данным логит-регрессии, значимая положительная регрессионная связь была выявлена между тяжестью очагового неврологического дефицита больных ИИ и повышением активности САО: критерий сопряженности признаков «тяжесть неврологического дефицита, баллы»/активность САО: $\chi^2(1) = 4,98$; $p = 0,025$. Появление значимой положительной регрессионной связи этих показателей свидетельствовало о патогенетической значимости САО для процессов восстановления нарушенных функций. Косвенным подтверждением значимости активности САО для восстановления неврологических функций (преимущественно двигательных) послужила достоверная отрицательная корреляционная связь показателей функционального восстановления больных (суммарный балл по Bartel Index) и активности САО: $r_s = -0,61$; $p = 0,02$.

Обсуждение

Сопряженное повышение уровня молекул средней массы и конечного продукта ПОЛ (МДА/СМ: $r_s = +0,38$; $p < 0,04$) в группе больных ИИ по сравнению с нормой ($p < 0,000$) свидетельствовало о формировании хронического окислительного стресса на 4–5 месяце заболевания. Патогенетическая связь увеличения МДА и нарушения восстановления неврологических функций показана рядом авторов [3, 9]. Однако, в настоящем исследовании статистически достоверное повышение концентрации МДА

и СМ в сыворотке крови больных, перенесших ИИ, не было связано со структурой и тяжестью неврологического дефицита. Одним из возможных объяснений отсутствия взаимосвязи концентрации МДА, СМ и клинической симптоматики больных, может служить реализация различных компенсаторных механизмов, связанных с биотрансформацией и биотранспортом эндотоксинов. Менее исследованным механизмом биотрансформации ксенобиотиков служит компенсаторное усиление активности САО. В группе больных ИИ среднее значение (медиана) активности САО находилось в пределах нормы ($p < 0,09$). Вместе с тем, усиление процессов катаболизма (повышение уровня СМ) сопровождалось ростом активности САО, что подтверждалось сильной достоверной положительной корреляционной связью (уровень СМ/активность САО: $r_s = +0,8$; $p = 0,002$) в группе больных ИИ в отличие от группы контроля. Для группы контроля была характерна лишь тенденция корреляционной связи противоположной по знаку (СМ/САО: $r_s = -0,4$; $p = 0,07$). Появление сопряженного роста активности САО и процессов катаболизма свидетельствовало о формировании патологического метаболического пути. Установлена патогенетическая связь повышения активности САО и исхода ИИ, связанного с минимальным восстановлением неврологических функций: критерий сопряженности признаков исход ИИ/САО: $\chi^2(1) = 4,98$, $p = 0,025$. У больных с тяжелым неврологическим дефицитом отмечалось повышение активности САО, при этом для всей группы больных ИИ лучшее восстановление двигательных функций ассоциировалось с нормальными значениями САО (Bartel Index баллы/САО: $r_s = -0,61$; $p = 0,02$).

Одно из возможных объяснений патогенетической связи повышения активности САО и нарушения восстановления функций у больных ИИ может быть связано с накоплением токсических вторичных продуктов метаболических реакций с участием САО, которые связаны с рядом патофизиологических процессов. Известно, что САО участвует в метаболизме некоторых эндогенных аминов с вторичным образованием высокоокислительных альдегидов и перекиси водорода [8, 15, 16]. Клиническими и экспериментальными исследованиями установлено, что повышенная активность САО и образование цитотоксических продуктов реакций (формальдегид и перекись водорода) усиливает процессы ОС, воспаления, дисфункции эндотелия сосудов мозга и связано с прогрессированием атеросклероза [13, 15, 16]. Известно, что все эти процессы снижают репаративную пластичность ткани мозга и способствуют процессам нейродегенерации [2, 6, 7].

Таким образом, у больных с очаговым поражением мозга формирование хронического окислительного стресса приводит к нарушению метаболического пути детоксикации эндогенных соединений с участием САО, что, в свою очередь, может запускать ряд патохимических реакций, связанных с нарушением восстановления неврологических функций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаклеевский А.И. Колориметрический способ определения активности моноаминоксидазы в сыворотке крови // Лаб. дело. 1976. № 3. С. 151–153.
2. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001. С. 13–14.
3. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. М.: Знание-М, 2000. С. 223–234.
4. Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. 1989. № 7. С. 8–10.
5. Николайчик В.В., Моин В.М., Кирковский В.В. и соавт. Способ определения «средних молекул» // Лаб. дело. 1991. № 10. С. 13–18.
6. Раевский К.С., Башкагова В.Г. Окислительный стресс, апоптоз и повреждение мозга // Нейрохимия. 1996. № 1. С. 61–65.
7. Суслина З.А., Пирадов М.А., Танашиян М.М. Принципы лечения мозгового кровообращения // Очерки ангионеврологии / Под ред. З.А.Суслиной. М.: «Атмосфера», 2005. С. 206–216.
8. Узбеков М.Г., Мисионжников Э.Ю., Шмуклер А.Б., Гурович И.Я. и соавт. Активность моноаминоксидазы и показатели эндогенной интоксикации у больных с первым эпизодом шизофрении // Журн. неврол. и психиатрии. 2009. № 5. С. 48–52.
9. Яворская В.А., Белоус А.М., Мохамед А.Н. Исследование уровня молекул средней массы и процессов перекисного окисления липидов в крови больных с разными формами инсульта // Журн. неврол. и психиатрии. 2000. № 1. С. 48–51.
10. Frankel M.R., Morgenstern L.B., Kwiatkowski T. et al. Predicting prognosis after stroke: a placebo group analysis from the National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Trial // Neurology. 2000. Vol. 55. P. 952–959.
11. Gong B., Boor P.J. The role of amine oxidases in xenobiotic metabolism // Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. 2006. Vol. 2. P. 559–571.
12. Goodglass H., Kaplan E. The assessment of aphasia and related disorders // Philadelphia, Pa: Lea & Febiger, 1983. P. 230.
13. Karadi I., Meszaros Z., Csanyi A., Szombathy T. Serum semicarbazide-sensitive amine oxidase (SSAO) activity is an independent marker of carotid atherosclerosis // Clinica Chimica Acta. 2002. Vol. 323, Issues 1–2. P. 139–146.
14. Mahoney F., Barthel D. Functional evaluation: the Barthel Index // MD State Med. J. 1965. Vol. 14. P. 61–65.
15. Magyar K., Meszaros Z., Matyus P. Semicarbazide-sensitive amine oxidase. Its physiological significance // Pure Appl. Chem. 2001. Vol. 73, N 9. P. 1393–1400.
16. Somfai G.M., Knippel B., Ruzicka E., Stadler K. Soluble semicarbazide-sensitive amine oxidase (SSAO) activity is related to oxidative stress and subchronic inflammation in streptozotocin-induced diabetic rats // Neurochemistry Int. 2006. Vol. 48, Issue 8. P. 746–752.
17. Strolin Benedetti M., Whomsley R., Baltes E. Involvement of enzymes other than CYPs in the oxidative metabolism of xenobiotics // Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. 2006. N 2. P. 895–921.

ХРОНИЧЕСКИЙ ОКИДАНТНЫЙ СТРЕСС И ОСОБЕННОСТИ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ЭНДОТОКСИНОВ У БОЛЬНЫХ С ОЧАГОВЫМ НАРУШЕНИЕМ НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ

В. В. Алферова, М. Г. Узбеков, Э. Ю. Мисионжников, Е. В. Лукьянюк, А. Б. Гехт, В. М. Шкловский, С. Н. Шихов

Целью исследования явилось определение ряда биохимических показателей окислительного стресса и активности семикарбазид-чувствительной аминоксидазы сыворотки крови у больных с очаговым поражением мозга вследствие ишемического полушарного инсульта (ИИ). Обследовано 30 больных (средний возраст 69±8 лет, 18 жен., 12 муж.), на 4–5 месяце ИИ. В сыворотке крови больных и здоровых добровольцев определяли уровни средних молекул (СМ) и малонового диальдегида (МДА) и активность семикарбазид-чувствительной аминоксидазы (САО). Сопряженное повышение уровня СМ и конечного продукта ПОЛ – МДА в группе больных ИИ по сравнению с нормой свидетельствовало о формировании хронического окислительного стресса на 4–5 месяце заболевания. Усиление процессов

катаболизма (повышение уровня СМ) сопровождалось ростом активности САО, что подтверждалось сильной достоверной положительной корреляционной связью (уровень СМ/активность САО: $r_s = +0,8$, $p=0,002$) в группе больных ИИ в отличие от группы контроля. Таким образом, у больных с очаговым поражением мозга формирование хронического окислительного стресса приводит к нарушению метаболического пути детоксикации эндогенных соединений с участием САО, что, в свою очередь, может запускать ряд патохимических реакций, связанных с нарушением восстановления неврологических функций.

Ключевые слова: очаговое поражение мозга, средние молекулы, малоновый диальдегид, семикарбазид-чувствительная аминоксидаза.

CHRONIC OXIDATION STRESS AND BIOTRANSFORMATION OF ENDOTOXINS IN PATIENTS WITH FOCAL IMPAIRMENT OF NEUROLOGICAL FUNCTIONS

V. V. Alfeyorova, M. G. Uzbekov, E. Yu. Misionzhnik, E. V. Loukyanyuk, A. B. Geht, V. M. Shklovsky, S. N. Shikhov

The goal of this investigation was measuring a number of biochemical parameters of the oxidation stress and activity of the semicarbazide-sensitive amine oxidase in blood serum of patients with focal brain impairment caused by hemispheric ischemic stroke. Material: 30 patients (average age 69±8 years, 18 females and 12 males) four to five months after the ischemic stroke. In patients' blood serum and in healthy volunteers, the researchers measured the levels of 'middle molecules' (MM) and malonic dialdehyde (MDA) and the activity of the semicarbazide-sensitive amine oxidase (SAO). An associated increase of the MM level and the ultimate product of lipid peroxidation and MDA in patients' group, in comparison with the norm, pointed to development of a chronic oxidation stress 4 to 5

months after the stroke. Increased catabolism (higher MM levels) was accompanied by increased SAO-activity, which was confirmed by a significant positive correlation (MM-level/ SAO-activity: $r_s = + 0.8$, $p=0.002$) in the patients' group. Thus, the development of the chronic oxidation stress in patients with focal brain impairments leads to disturbances in the detoxification metabolism, specifically, detoxification of endogenous substances with SAO, which, in its turn can trigger off a number of pathochemical reactions associated with problems of neurological functioning recovery.

Key words: focal brain impairment, middle molecules, malonic dialdehyde, semicarbazide-sensitive amine oxidase.

Алферова Вера Вадимовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник НИЛ сосудистых заболеваний головного мозга кафедры неврологии и нейрохирургии №1 ГОУ ВПО РГМУ им. Н.И.Пирогова; e-mail: valferova@mail.ru

Узбеков Марат Галиевич – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории патологии мозга ФГУ «Московский НИИ психиатрии» Минздравсоцразвития России; e-mail: uzbekovmg@mtu-net.ru

Мисионжников Эдуард Юльевич – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патологии мозга ФГУ «Московский НИИ психиатрии» Минздравсоцразвития России

Лукьянюк Елена Владимировна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Центра патологии речи ФГУ «Московский НИИ психиатрии» Минздравсоцразвития России

Гехт Алла Борисовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии №1 ГОУ ВПО РГМУ им. Н.И.Пирогова; e-mail: guext@mail.ru

Шкловский Виктор Маркович – доктор психологических наук, профессор, академик РАПН, руководитель Центра патологии речи ФГУ «Московский НИИ психиатрии» Минздравсоцразвития России

Шихов Сергей Николаевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии мозга ФГУ «Московский НИИ психиатрии» Минздравсоцразвития России