

УДК 616.831-005.4-0.36.11-0.36.1

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ РАЗНЫХ ПОДТИПОВ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

¹Е.Ю. Кравцова, ¹Г.А. Мартынова, ¹Т.Ю. Кравцова, ²Т.Н. Хайбуллин

*Пермская государственная медицинская академия им. Академика Е.А. Вагнера, г. Пермь, Россия¹
Государственный медицинский университет города Семей, Казахстан²*

Резюме

При изучении окислительной модификации белков при различных подтипах ишемического инсульта выявлены значительные нарушения оксидантной системы при атеротромботическом, кардиоэмболическом, лакунарном инсультах в диапазоне альдегидо- и кетонпроизводных динитрофенилгидразонов, что обосновывает продолжение и интенсификацию антиоксидантной терапии.

Summary

At study of oxidizing modification of fibers at different subtypes of ischemic heart disease significant breaches of oxidant system at atherothrombotic, cardioembolic, lacunar insults are revealed in the range aldehyd and keton-dinitrophenilhydrazon, what proves continuation and intensification of antioxidative treatment.

Актуальность. Согласно современным представлениям, окислительный стресс является неотъемлемым патогенетическим компонентом сердечнососудистых заболеваний [6]. При окислительном стрессе все основные классы биомолекул, включая липиды, белки и нуклеиновые кислоты, становятся критическими элементами повреждающего действия активированных кислородных метаболитов (АКМ), что приводит к их патологической окислительной модификации [6]. Окислительная модификация белков при окислительном стрессе, приводящая к изменению их физико-химических свойств, к нарушению их конформации, фрагментации, агрегации, образованию межмолекулярных сшивок [4], патогенетически тесно сопряжена с процессами перекисного окисления липидов (ПОЛ) и эндотелиальной дисфункцией. Несмотря на широкое изучение перекисного окисления липидов в процессе окислительного стресса и его роль в патогенезе ишемического каскада, практически не изучена динамика окислительной модификации белков в остром периоде у пациентов трудоспособного возраста с разными патогенетическими типами ишемического инсульта в процессе комплексного лечения с включением официальных препаратов-антиоксидантов. Не изучено влияние окислительного стресса на динамику неврологического дефицита, тревожно-депрессивных расстройств у пациентов трудоспособного возраста с различными патогенетическими вариантами ишемического инсульта. R.T. Dean с соавторами (1991) считают, что в состоянии окислительного стресса атаке за счет АКМ подвергаются в первую очередь не липиды, а белки плазматических мембран, что приводит к их деполимеризации и лизису клетки [4]. Обсуждение возможной окислительной деструкции белков в организме до последнего времени носило в основном теоретический характер. В ряде исследований этот процесс рассматривался как одна из возможных причин инактивации ферментов, изменения структурной организации белков при состоянии окислительного стресса [2,3,5].

Цель исследования – изучить динамику окислительной модификации белков для оптимизации лечения острого периода разных подтипов ишемического инсульта.

Материал и методы исследования.

Исследована окислительная модификация белков (ОМБ) сыворотки крови по методике Е.Е. Дубининой (1995) [1] у 80 больных в возрасте 45-60 лет с разными вариантами ишемического инсульта (31 – с атеротромботическим инсультом (АТИ), 21 – с кардиоэмболиче-

ским инсультом (КЭИ), 14 – с гемодинамическим инсультом (ГДИ) и 14 – с лакунарным инсультом (ЛКИ) в динамике (на первые, третьи и пятнадцатые сутки острого периода заболевания). Лиц женского пола было 38, мужского – 42. Выделены две группы больных с ишемическим инсультом: I – 39 (15 – с АТИ, 10 – с КЭИ, 7 – с ГДИ и 7 с ЛКИ), принимавших наряду с традиционным лечением этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС), и II – 41 (16 – с АТИ, 11 – с КЭИ, 7 – с ГДИ и 7 с ЛКИ) больных, получавших традиционное лечение. Контрольную группу составили 20 здоровых испытуемых, сопоставимых по полу и возрасту.

Стационарное лечение проводили в соответствии с общепринятыми медицинскими стандартами. Традиционная терапия ишемического инсульта включала кавинтон, пирасетам, аспирин и др. Этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС) назначался в дозе 4 мл 5% раствора (200мг) внутривенно капельно один раз в сутки со 2 по 14 день лечения. Оценка эффективности отечественного антиоксиданта в комплексном лечении острого периода ишемического инсульта основывалась на изучении объективной динамики неврологического и психоневрологического статуса и показателей ОМБ.

Проведен сравнительный анализ показателей окислительной модификации белков в динамике при разных вариантах ИИ по сравнению с контрольными показателями и между собой, а также у больных ИИ одного типа I и II групп. Показатели оптической плотности динитрофенилгидразонов выражались в длинах волн 356, 370, 430, 530 нм (I, II, III, IV волны соответственно). Основное количество образовавшихся динитрофенилгидразонов относится к альдегидам и кетонпроизводным нейтрального характера (I и II волны). Алифатические альдегидо- и кетонпроизводные динитрофенилгидразонов основного характера были преимущественно представлены III, IV волнами. У 5 практически здоровых испытуемых контрольной группы кетондинитрофенилпроизводные основного характера не обнаруживались.

Разница в показателях между группами зависит от степени оксидантного состояния. Определение степени оптической плотности нейтральных и основных альде- и кетонпроизводных в белках сыворотки крови позволяет оценить интенсивность окислительной деструкции в норме и в состоянии окислительного стресса.

Проведенный анализ позволил выявить продукты окислительной деструкции белков, образовавшиеся в результате воздействия на белковые производные 2,4 –

динитрофенилгидрозина, в сыворотке крови испытуемых контрольной группы и пациентов с разными типами ИИ в динамике.

На первые сутки развития ИИ показатели окислительной модификации белков плазмы крови пациентов в обеих группах при КЭИ, АТИ, ГДИ в диапазоне I, III, IV волн, при АТИ – всех, при ЛКИ – III и IV волн достоверно превышали показатели ОМБ здоровых испытуемых контрольной группы (табл.1).

Самые высокие показатели ОМБ были отмечены у пациентов обеих групп при АТИ в диапазоне всех волн. Показатели у больных с АТИ в диапазоне III и IV

($p < 0,05$), у больных с КЭИ и ГДИ а в диапазоне IV волн превышали показатели у больных с ЛКИ ($p < 0,05$), у которых они также были изменены. Уровень алифатических альдегидо- и кетонпроизводных динитрофенилгидразонов основного характера был значительно ниже (III, IV волны) и у испытуемых контрольной группы, что при отличии показателей от контрольных позволяет говорить об их высокой диагностической ценности.

Анализ показателей ОМБ у больных с разными типами ИИ на третьи сутки заболевания представлен в таблице 2.

Таблица 1. - Показатели оптических плотностей нейтральных и основных альдо- и кетонпроизводных в белках сыворотки крови при разных вариантах ишемического инсульта на первые сутки заболевания.

Длина волны	КЭИ (n=21)		АТИ (n=31)		ГДИ (n=14)		ЛКИ (n=14)		Контр. группа n=20
	Группы		Группы		Группы		Группы		
	I n=10	II n=11	I n=15	II n=16	I n=7	II n=7	I n=7	II n=7	
I (356нм)	33,8± 5,5♦	32,9± 2,9♦	43,2± 5,1♦♦♦	42,8± 4,9♦♦♦	34,7± 2,8♦	33,8± 2,6♦	26,3± 2,5	26,7± 2,5	25,2± 2,1
II (370нм)	28,6± 5,3	28,3± 2,4	36,5± 4,2♦	34,3± 3,3♦	30,9± 2,3	29,6± 2,5	25,6± 3,2	25,0± 2,1	24,3± 3,9
III (430нм)	7,4± 2,2♦	9,1± 3,6♦	10,2± 3,1♦♦♦	8,1± 2,5♦♦♦	6,8± 1,7♦	7,9± 1,8♦	6,7± 2,1♦	6,6± 2,2♦	3,2± 0,8
IV (530нм)	2,3± 0,2♦♦	2,4± 0,3♦♦	3,1± 0,8♦♦♦	2,9± 0,5♦♦♦	2,6± 0,5♦♦	2,3± 0,3♦♦	1,0± 0,3♦	1,5± 0,3♦	0,2± 0,03

- ♦ – $p < 0,05$;
- ♦♦ – $p < 0,01$ – достоверность различия показателей по сравнению с контрольной группой;
- ♦♦♦ – $p < 0,05$ достоверность различия показателей по отношению к аналогичным показателям у больных ЛКИ.

Таблица 2. - Показатели оптических плотностей нейтральных и основных альдо- и кетонпроизводных в белках сыворотки крови при разных вариантах ишемического инсульта на третьи сутки заболевания.

Длина волны	КЭИ (n=21)		АТИ (n=31)		ГДИ (n=14)		ЛКИ (n=14)		Контр. группа n=20
	Группы		Группы		Группы		Группы		
	I n=10	II n=11	I n=15	II n=16	I n=7	II n=7	I n=7	II n=7	
I (356нм)	36,2± 5,49♦	38,2± 3,8♦	47,3± 6,7♦♦	45,8± 5,9♦♦	37,2± 5,4♦	36,5± 5,4♦	28,2± 3,4♦	28,2 2,1□	25,2± 2,1
II (370нм)	30,1± 4,1	29,6± 3,4	40,2± 4,6♦♦	38,8± 4,4♦	34,6± 3,8	35,2± 3,8	26,8± 3,6♦	27,1± 2,8♦	24,3± 3,9
III (430нм)	8,7± 1,2♦□	7,6± 1,9♦□	12,8± 1,9♦♦	12,5± 1,1♦	7,2± 1,8♦□	8,1± 1,2♦□	7,1± 1,1♦□	6,3± 1,2♦□	3,2± 0,8
IV (530нм)	2,3± 0,3♦□	2,4± 0,2♦□	4,2± 0,8♦♦	4,1± 0,0♦♦	2,1± 0,3♦□	2,1± 0,1□	2,5± 0,3♦□	1,8± 0,2♦□	0,2± 0,03

- ♦ – $p < 0,05$;
- ♦♦ – $p < 0,01$ – достоверность различия показателей по сравнению с контрольной группой;
- – $p < 0,05$ достоверность различия показателей по отношению к аналогичным показателям у больных АТИ.

На третьи сутки острейшего периода у пациентов обеих групп при всех вариантах инсульта наблюдалась тенденция к росту показателей ОМБ с сохранением отмеченной выше закономерности в виде преобладания показателей у больных АТИ. По-прежнему самые высокие показатели ОМБ были отмечены у пациентов обеих групп при АТИ в диапазоне всех волн, превышая аналогичные показатели у больных с ЛКИ, которые в диапазоне I и II волн достоверно не отличались от контрольных показателей, а в диапазоне III и IV волн отличались от последних ($p < 0,05$). Показали ОМБ у пациентов с КЭИ и ГДИ в диапазоне III, IV волн, несмотря на превышающие контрольные значения, были также ниже ($p < 0,05$) аналогичных значений ОМБ у больных АТИ. У больных с ЛКИ вследствие возросших показателей ОМБ в диапазоне IV волны различия между показателями больных с КЭИ и ГДИ сгладились. На третьи сутки острого периода инсульта у больных двух групп при всех патогенетических вариантах ИИ между показате-

лями ОМБ во всех диапазонах волн достоверных изменений не выявлено.

Исследование ОМБ, проведенное на пятнадцатые сутки острого периода ишемического инсульта (после двухнедельного комплексного лечения, в т.ч. с включением ЭМГПС – I группа), выявило общую тенденцию к положительной динамике показателей во всех диапазонах волн при всех патогенетических типах ИИ в обеих группах больных, выявив ряд закономерностей. Полученные результаты отражены в таблице 3.

На 15 сутки острого периода заболевания выявлена положительная динамика со снижением значений ОМБ у всех больных I группы с различными типами ишемического инсульта ($p < 0,05$) даже при отсутствии полной нормализации показателей в диапазоне III, IV волн (за исключением наблюдений с ЛКИ). Так, в I группе больных значения ОМБ отличались ($p < 0,05$) от контрольных при АТИ, КЭИ и ГДИ в диапазонах III и IV волн.

Таблица 3. - Показатели оптических плотностей нейтральных и основных альдо- и кетопроизводных в белках сыворотки крови при разных вариантах ишемического инсульта на пятнадцатые сутки заболевания

Длина волны	КЭИ (n=21)		АТИ (n=31)		ГДИ (n=14)		ЛКИ (n=14)		Контр. группа n=20
	Группы		Группы		Группы		Группы		
	I n=10	II n=11	I n=15	II n=16	I n=7	II n=7	I n=7	II n=7	
I (356нм)	24,7 ±2,3 ◀■	37,2 ±2,9 ◆	30,5 ±2,4 ◀■	41,6 ±5,2 ◆■	25,8 ±2,3 ◀■	37,1 ±2,5 ◆	26,1 ±2,3	27,7 ±2,8	25,2 ±2,1
II (370нм)	25,9 ±3,6	27,3 ±2,8	27,6 ±2,9 ◀	36,1 ±3,6 ◆	26,3 ±2,8 ◀	34,9 ±3,4 ◆	24,8 ±2,3	25,6 ±2,4	24,3 ±2,9
III (430нм)	6,1 ±2,1 ◆◀	7,3 ±2,8 ◆◆	7,1 ±2,1 ◆◆◀	6,7 ±2,1 ◆◀	4,6 ±2,4 ◀◻	4,7 ±1,0 ◆◀◻	3,01 ±1,1 ◀◻◻	5,8 ±1,3 ◆	3,2 ±0,4
IV (530нм)	0,8 ±0,01 ◆◀◻◻	1,9 ±0,1 ◆◆◻	1,8 ±0,3 ◆◆◀◻	2,9 ±0,3 ◆◆◀◆	0,5 ±0,03 ◆◀◻◻	0,96 ±0,01 ◆◆◀◻	0,18 ±0,01 ◀◻◻	0,5 ±0,01 ◆◀◀◻	0,2 ±0,03

◆ – $p < 0,05$; ◆◆ – $p < 0,01$ – достоверность различия показателей по сравнению с контрольной группой;
 ■ – $p < 0,05$ – достоверность различия показателей у больных I и II групп;
 ◻ – $p < 0,05$ – достоверность различия показателей у больных по отношению к аналогичным показателям АТИ;
 ◀ – $p < 0,05$; ◀◀ – $p < 0,01$ – достоверность различия показателей в динамике по сравнению с аналогичными показателями на третьи сутки (табл. 33).

Вместе с тем у пациентов I группы показатели ОМБ были ниже ($p < 0,05$) идентичных показателей больных II группы при АТИ, КЭИ и ГДИ в диапазоне IV волны. Только у больных с ЛКИ I группы в диапазоне всех волн показатели полностью нормализовались. Нормализация показателей ОМБ у больных II группы с КЭИ, АТИ, ГДИ в диапазонах всех волн, а при ЛКИ – III, IV волн не выявлена. Наиболее выраженными оставались изменения у пациентов с АТИ обеих групп, превышая показатели больных с ГДИ и ЛКИ в диапазоне III и IV волн, а показатели больных с КЭИ в диапазоне IV волны. Следует отметить, что, несмотря на положительную динамику у больных I группы, наиболее стойкие изменения показателей ОМБ ($p < 0,05$) выявлены в диапазонах III и IV волн при КЭИ и АТИ, в диапазоне IV волны при ГДИ, что в свою очередь подтверждает высокую информативность показателей альдегидо- и кетонопроизводных динитрофенилгидразонов основного характера.

Отмеченный факт, по-видимому, объясняется значительным нарушением оксидантной системы при КЭИ, АТИ, ГДИ в диапазоне альдегидо- и кетонопроизводных динитрофенилгидразонов основного характера и обосновывает продолжение и интенсификацию антиоксидантной терапии целенаправленного действия. Большая вариабельность и сохранение изменений в диапазоне III и IV волн при всех вариантах ИИ свидетельствует о высокой ценности данных показателей.

Заключение. Таким образом, анализ проведенного в динамике исследования ОМБ установил достоверное повышение ($p < 0,05$) показателей ОМБ сыворотки крови у больных обеих групп в диапазоне I, III, IV волн в острый период (1-4 сутки) КЭИ, АТИ, ГДИ с достоверным преобладанием показателей при АТИ и регистрацией их отклонения в режиме всех волн. У пациентов с ЛКИ сдвиг показателей отмечен только в режиме III, IV волн. Терапия с включением этилметилгидроксипиридина сукцината (I группа) способствовала нормализации содержания нейтральных альдо-и кетонопроизводных динитрофенилгидразонов белков плазмы крови нейтрального характера (диапазон I и II волн) к 15 дню у пациентов при всех типах ИИ с полной нормализацией показателей в режиме всех волн только у пациентов с ЛКИ, что подтверждает антиоксидантный эффект препарата. Установлено отсутствие полной нормализации

показателей к 15 дню заболевания на фоне приема этилметилгидроксипиридина сукцината в диапазонах III и IV волн при КЭИ и АТИ ($p < 0,05$), в диапазоне IV волны при ГДИ ($p < 0,05$) с преобладанием изменением и замедленностью регресса при АТИ ($p < 0,05$).

Отмеченный факт, по-видимому, объясняется значительным нарушением оксидантной системы при КЭИ, АТИ, ГДИ в диапазоне альдегидо- и кетонопроизводных динитрофенилгидразонов основного характера и обосновывает продолжение и интенсификацию антиоксидантной терапии целенаправленного действия. Большая вариабельность и сохранение изменений в диапазоне III и IV волн при всех вариантах ИИ свидетельствует о высокой ценности данных показателей. Отсутствие полной нормализации показателей ОМБ к 15 дню заболевания на фоне приема мексидола, обусловленное значительным нарушением оксидантной системы при КЭИ, АТИ, ГДИ с преобладанием изменений и замедленностью регресса при АТИ, обосновывает продолжение и интенсификацию антиоксидантной терапии и разработку лекарственных средств с целенаправленным устранением процессов ОМБ в диапазоне альдегидо- и кетонопроизводных динитрофенилгидразонов основного характера.

Литература:

- Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Пототов Г.Е. // *Вопр. мед. химии.* – 1995. – Т.41, № 1. – С.24–26.
- Кравцова Е.Ю. Мексидол в комплексной терапии инсульта у лиц работоспособного возраста / Е.Ю. Кравцова, Г.А. Мартынова // *Журнал «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины»* – М. Издательство РАМН, 2006. – С. 37–39.
- Меньшикова Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б.Меньшикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков и др. – М., 2006. – С.24-28.
- Dean R.T., Hunt J.V., Grant A.J. et al. // *Free Radikal Biol. Med.* – 1991. – Vol. 11, N12. – P. 161- 165.
- Stocker R., Keane J.F. // *Physiol. Rev.* – 2004. – Vol. 84. – P. 1381 – 1478.
- Oliver C.N., Ahn B. W., Moerman E. J. et al. // *J. boil. Cyem.* – 1987. – Vol. 262. – P. 5488–5491