

**АКТИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ
У ДЕТЕЙ СО СПАСТИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ РАННЕЙ РЕЗИДУАЛЬНОЙ
СТАДИИ ДЕТСКОГО ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ПАРАЛИЧА**

Дина Дамировна Гайнетдинова, Дина Вадимовна Айзатулина

*Казанский государственный медицинский университет, кафедра неврологии, нейрохирургии
и медицинской генетики, 420012, Казань, ул. Бутлерова, д. 49, e-mail: dina34@rambler.ru*

Реферат. Исследованы активность свободнорадикального окисления и выраженность клинических проявлений заболевания (степень тяжести) у детей со спастическими формами детского церебрального паралича. Доказано, что у детей, больных спастической диплегией и двойной гемиплегией с перивентрикулярной лейкомаляцией, активно протекают процессы свободнорадикального окисления – увеличивается уровень ферментов антирадикальной защиты и продуктов перекисного окисления липидов. Выявлена корреляция активности окислительных процессов и тяжесть клинических проявлений детского церебрального паралича. Установлена, что тяжелая степень заболевания протекает на фоне высокой активности свободнорадикального окисления, в особенности процессов перекисного окисления липидов.

Ключевые слова: детский церебральный паралич, перивентрикулярная лейкомаляция, окислительный стресс, степень тяжести.

ACTIVITY OF FREE-RADICAL OXIDATION AT SMALL
CHILDREN WITH SPASTIC FORMS OF CHILDREN'S
CEREBRAL PARALYSIS AT EARLY RESIDUAL STAGE

Dina D. Gajnetdinova, Dina V. Ayzatulina

Kazan State Medical University, department of neurology,
neurosurgery and medical genetics,
420012 Kazan, Butlerov Street 49, e-mail: dina34@rambler.ru

The activity of free-radical oxidation and expressiveness of clinical manifestation of disease (severity level) in children with spastic forms of children's cerebral paralysis have been studied. It has been proved that in children with spastic diplegia of children's cerebral paralysis and double hemiplegia with pathological changes of periventricular area the process of free-radical oxidation proceeds actively – the level of antiradical protection enzymes has been increased as well as products of lipid peroxidation. There was revealed a correlation of activity of oxidation processes and severity of clinical manifestations of children's cerebral paralysis. It was established that a severe degree of the disease proceeds in the background of high-active peroxidation, especially of processes of lipid peroxidation.

Key words: a children's cerebral paralysis, periventricular leukomalacia, oxidative stress, severity level.

Детский церебральный паралич (ДЦП) принято рассматривать как непрогрессирующее хронически-резидуальное заболевание, формирующееся в различные периоды гестации и клинически проявляющееся нарушением двигательного, психического и речевого развития [5]. Совершенствование нейровизуализационных методов исследования позволило выделить изменения перивентрикулярной области как наиболее частую патологию головного мозга у детей с ДЦП [4, 7]. По мнению большинства исследователей проблемы ДЦП, в основе двигательных нарушений у большинства детей, больных спастической диплегией и двойной гемиплегией, особенно родившихся недоношенными, лежит патология перивентрикулярной области, прежде всего перивентрикулярная лейкомаляция (ПВЛ) [4, 10]. Предполагается, что ПВЛ формируется из-за нарушения ауторегуляции и селективной уязвимости сосудов перивентрикулярной области, что ведет к ишемии перивентрикулярного белого вещества незрелого головного мозга.

В литературе последних лет обсуждается роль патологических изменений структур перивентрикулярной области мозга в тяжести клинических проявлений спастических форм ДЦП, их влиянии на эффективность медикаментозной и реабилитационной терапии, а также прогноз заболевания [6]. ПВЛ, инициированная во внутриутробном периоде гипоксией или интранатальной асфиксией, может привести к хроническому патологическому процессу (например, аутоиммунному), сопровождающемуся свободнорадикальным окислением с преобладанием продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1,5].

Большинство современных исследователей все больше склоняются к положению, согласно которому основой пусковых механизмов формирования спастических форм ДЦП является гипоксия

[5, 8]. Дефицит кислорода инициирует в нервных клетках и окружающей ткани целый ряд морфофункциональных изменений с образованием цитотоксичных активных форм кислорода (АФК) – свободных радикалов. Контроль над избыточной выработкой АФК осуществляет система антирадикальной защиты, представленная прежде всего антиоксидантными ферментами (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза, глутатион-пероксидаза, глутатионтрансфераза) и белком плазмы церулоплазмином [2]. При избыточной продукции АФК и/или недостаточной активности системы антиоксидантной защиты формируется окислительный стресс – один из основных механизмов повреждения нейрона при различной патологии нервной системы [9]. Принимая во внимание доказанное положение о том, что выраженность окислительного стресса отражает активность патологического процесса в организме больного человека [2], мы изучали интенсивность свободнорадикального окисления у детей со спастическими формами ДЦП.

Цель исследования – оценка активности процессов свободнорадикального окисления у детей со спастическими формами ДЦП в ранней резидуальной стадии в зависимости от наличия ПВЛ в раннем постнатальном периоде.

Обследовано 30 мальчиков и 42 девочки (72 чел.) в возрасте от одного года до 5 лет со спастическими формами ДЦП, находившихся на стационарном лечении в неврологическом отделении Детской республиканской клинической больницы МЗ РТ. В исследование включили детей со спастическим тетрапарезом при наличии у них патологии перивентрикулярной области (по данным НСГ и МРТ), детей с гемипарезом с рождения полушарных кист без патологии перивентрикулярных образований при отсутствии медикаментозного, физиотерапевтического лечения и инфекционного процесса за 30 дней до госпитализации. Группа контроля состояла из 20 здоровых детей и была сопоставима по полу и возрасту.

Тяжесть клинических проявлений заболевания изучали по выраженности симптомов ДЦП (19 клинических признаков), отражающих способности в сфере самообслуживания, степень двигательного дефицита, состояние психоэмоциональной сферы, сенсорных функций и иммунной системы. Каждый показатель выражали в баллах (от 0 до 5), и по их сумме оценивали тяжесть ДЦП [3].

Спектрофотометрическим методом по стандартным методикам исследовались активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и пероксидазы в гемолизате крови; содержание церулоплазмина, гидроперекиси липидов и малонового диальдегида (МДА) в плазме. Кровь для исследования брали в первый день поступления больного в стационар до начала лечения.

Статистическая обработка результатов производилась с помощью непараметрического t-критерия Манна – Уитни и корреляционным анализом по программе Origin 6,1.

Больные ДЦП были распределены согласно классификации К.А. Семеновой [5] на 3 группы: со спастической диплегией – 34 (47,0%), двойной гемиплегией – 28 (39,0%), гемипаретической формой – 10 (14,0%). Для оценки выраженности клинической картины различных форм ДЦП нами исследовались двигательные нарушения, развитие мышления и речь. Объективность оценки тяжести заболевания обеспечивала шкала выраженности клинических симптомов при ДЦП в баллах. Все больные по сумме баллов были распределены на легкую (28–39 баллов) – 27 (37,5%) человек, среднюю (40–51 балл) – 20 (28,0%) и тяжелую (52–63 балла) – 25 (34,5%) степени тяжести ДЦП. В группе больных с легкой степенью ДЦП оказались все пациенты с гемипаретической формой без патологии перивентрикулярной области (10 чел.) и 17 (63,0%) со спастической диплегией. В группу лиц со среднетяжелой степенью поражения вошли 11 (55,0%) человек со спастической диплегией и 9 (45,0%) с двойной гемиплегией, а в группу больных с тяжелой степенью заболевания – 6 (24,0%) со спастической диплегией и 19 (76,0%) с двойной гемиплегией.

Исследование активности ферментов антирадикальной защиты (СОД, каталазы, пероксидазы) и содержание церулоплазмина в крови у пациентов, перенесших ПВЛ (со спастической диплегией и двойной гемиплегией) выявило высокую активность всех изучаемых ферментов антиоксидантной защиты (табл. 1), но достоверность различий была получена по активности СОД и каталазы по сравнению с показателями в группе контроля (1,0 и 0,6 у.е.; 777 и 659 мккатал/л соответственно; $p < 0,05$). В группе детей, перенесших ПВЛ, активность СОД оказалась достоверно ниже, чем в группе больных без ПВЛ (1,0 и 1,5 у.е. соответственно; $p < 0,05$). Активность каталазы у детей, перенесших ПВЛ, достоверно превышала показатели у пациентов с гемипарети-

Таблица 1

Показатели активности ферментов антиоксидантной защиты и церулоплазмина у больных ДЦП с ПВЛ и без ПВЛ

Обследованные группы	Ферменты антиоксидантной защиты			Белок плазмы
	СОД, у.е.	каталаза, мккатал/л	пероксидаза, тыс. долей интернац.ед.	церулоплазмин, мг%
Дети с ПВЛ (n=62)	1,0±0,2*	777±91**	41,4±7,7	53,8±10,8***
Дети без ПВЛ (n=10)	1,5±0,4*	583±28**	38,0±13,2	77,0±2,7***
Контроль (n=20)	0,6±0,2*	659±93**	33,0±16,3	51,5±15,5***

*p <0,05 – различия в активности СОД у детей с ПВЛ и без ПВЛ между собой и с контролем; ** p<0,05 – различия в активности каталазы у детей с ПВЛ и без ПВЛ между собой и с контролем; *** p<0,05 – различия содержания церулоплазмина у детей без ПВЛ и с ПВЛ, а также с контролем.

ческой формой (без ПВЛ) – 777 и 583 мккатал/л соответственно (p<0,05).

Содержание церулоплазмина у больных ДЦП без патологии перивентрикулярной области достоверно превышало показатели белка плазмы детей, перенесших ПВЛ (77,0 и 53,8 мг% соответственно; p<0,05). В то же время важно отметить, что активность церулоплазмина у детей, перенесших ПВЛ, и в группе контроля были практически равны.

Таблица 2

Показатели продуктов ПОЛ у детей с ПВЛ и без ПВЛ

Обследованные группы	Продукты ПОЛ	
	гидроперекись липидов, отн. ед.	МДА, мкМ/л
Дети с ПВЛ (n=62)	11,3±3,2	1,47±0,5*
Дети без ПВЛ (n=10)	9,0±1,3	0,7±0,3*
Контроль (n=20)	8,3±2,9	0,6±0,2*

* p<0,02 – различие в содержании МДА у детей с ПВЛ и без ПВЛ, а также с контролем.

Повышение активности ферментов антирадикальной защиты у детей с ПВЛ с исходом в спастические формы ДЦП позволяет предположить активацию свободнорадикальных процессов – повышение продукции свободных радикалов, и прежде всего супероксид-анион радикала, ингибируемого СОД. Выявленный достоверно высокий уровень церулоплазмина у детей, больных гемипаретической формой ДЦП (без ПВЛ), по сравнению с контролем (77,0 и 53,8 мг% соответственно; p<0,05) позволяет предположить, что у пациентов этой группы увеличен уровень свободных радикалов, и прежде всего супероксид-анион радикала. Данное предположение основывается на том, что в плазме крови церулоплазмин в первую очередь инактивирует супероксид-анион радикал (т.е. действует как СОД) и, окисляя Fe²⁺ до Fe³⁺, способен приостанавливать процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) [2].

Исследование содержания продуктов ПОЛ в группе пациентов с ПВЛ с исходом в спастическую диплегию и двойную гемиплегию обнаружило повышенное содержание продуктов ПОЛ – как гидроперекиси липидов, так и МДА (табл. 2). Уровень МДА у детей, перенесших ПВЛ, превышает показатели пациентов без патологии перивентрикулярной области и группы контроля более чем в два раза (1,47, 0,7, 0,6 мкМ/л соответственно; p< 0,001). Активность гидроперекиси липидов у больных ДЦП, перенесших ПВЛ, оказалась незначительно повышенной по сравнению с контролем (11,3 и 8,3 отн. ед. соответственно; p>0,05). Вероятно, это связано с особенной реактивностью гидроперекиси липидов, поскольку она является малоустойчивым соединением и быстро переходит в более устойчивый МДА. Исходя из этого, высокое содержание МДА в полной мере может отражать ПОЛ в целом и свидетельствовать об окислительном стрессе [2]. Активность показателей ПОЛ у детей без ПВЛ приближается к значениям в группе контроля, что свидетельствует об отсутствии окислительного стресса у данных пациентов, а свободные радикалы полностью ингибируются ферментами и белком антирадикальной защиты – церулоплазмином. Выявленные изменения показателей свободнорадикального окисления у больных ДЦП, перенесших ПВЛ, могут свидетельствовать о том, что высокий уровень АФК активизирует антирадикальные ферменты, но вследствие чрезмерного окислительного стресса и/или вследствие слабости антиоксидантной защиты дальнейшие события свободнорадикальных процессов происходят по пути активации ПОЛ. В свою очередь, продукты ПОЛ, в особенности МДА, обладающие разрушительным действием на клетки организма в целом и, особенно, на клетки мозга, утяжеляют течение заболевания у детей, перенесших ПВЛ. С учетом этого далее была изучена активность ферментов антирадикальной защиты, содержание

церулоплазмина и продуктов ПОЛ при различной тяжести заболевания.

У детей с легкой и средней степенями тяжести ДЦП активность всех ферментов антиоксидантной защиты и содержание церулоплазмина оказались выше, чем в группе контроля (табл. 3). Кроме того, у больных со средней степенью ДЦП активность ферментов антиоксидантной защиты была самой высокой. Минимальные значения показателей СОД, каталазы и пероксидазы обнаружены при тяжелом течении ДЦП, и они были ниже значений в контроле.

контроля (1,41; 1,43 и 0,57мкМ/л соответственно; $p < 0,05$). При легкой степени ДЦП уровень МДА повышен незначительно, а количество гидроперекиси липидов ниже, чем в контроле ($p > 0,05$). Важно отметить, что содержание МДА повышается с утяжелением клинической картины заболевания, что нельзя сказать о значениях гидроперекиси. При тяжелой степени болезни высокий уровень МДА свидетельствует о высокоактивном окислительном стрессе: АФК настолько много, что все ферменты антирадикальной защиты используются на ингибирование супероксид

Таблица 3

Активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание белка плазмы церулоплазмина у детей с различной степенью ДЦП и у здоровых лиц

Степени тяжести ДЦП, баллы	Ферменты антиоксидантной защиты			Церулоплазмин, мг%
	СОД, у.е.	каталаза, млкатал/л	пероксидаза, тыс. долей интернац. ед.	
Легкая (28–39)	1,47±0,4*	723±132	38,0±4,7	75,85±10,8**
Средняя (40–51)	1,53±0,4*	733±22	56,7±13,2	65,9±8,3
Тяжелая (52–63)	0,41±0,01	643±159	21,9±4,6	51,9±6,9**
Контроль	0,6±0,2	659±93	33,0±16,3	51,5±15,5**

* $p < 0,05$ – различия активности СОД у пациентов со средней и легкой степенями тяжести заболевания с показателями детей с тяжелой степенью и группой контроля; ** $p < 0,05$ – различия в уровне церулоплазмина у больных с легкой и тяжелой степенями и с легкой степенью и контролем.

Содержание церулоплазмина в плазме больных ДЦП уменьшается с нарастанием тяжести заболевания и при тяжелой степени клинических проявлений достигает уровня группы контроля. Максимальные показатели церулоплазмина обнаружены при легкой степени заболевания и достоверно превышали значения в группе больных с тяжелым течением (75,85 и 51,9 мг% соответственно; $p < 0,05$).

Исследование показало, что активность ферментов антиоксидантной защиты у больных с тяжелой степенью ДЦП ниже, чем в группе контроля, а содержание церулоплазмина не отличается от значений здоровых детей. На наш взгляд, подобная картина возможна при следующих вариантах течения биохимических процессов: во-первых, можно предположить, что при тяжелом течении болезни окислительного стресса не происходит совсем, во-вторых, что более вероятно, процессы антиоксидантной защиты ослаблены, а активность антирадикальных ферментов недостаточна (ниже контроля). Для проверки этих предположений далее была исследована активность продуктов ПОЛ – следующего этапа окислительного процесса (табл. 4). Содержание МДА у пациентов со средней и тяжелой степенями ДЦП, оказалось достоверно выше, чем в группе

Таблица 4

Показатели процессов ПОЛ у детей с различной степенью тяжести ДЦП

Степень тяжести ДЦП, баллы	Продукты ПОЛ	
	гидроперекись липидов, отн. ед.	МДА, мкМ/л
Легкая (28-39)	5,8±1,2	0,76±0,3
Средняя (40-51)	11,9±1,3	1,41±0,4*
Тяжелая (52-63)	9,7±2,7	1,43±0,5*
Контроль	8,3±2,9	0,57±0,2*

* $p < 0,05$ – различия в содержании МДА при средней и тяжелой степенях тяжести ДЦП с контролем.

анион-радикала и перекиси водорода, поэтому активность их в крови снижается с утяжелением клинической картины ДЦП. Ферменты антиоксидантной защиты не инактивируют в полной мере свободные радикалы и АФК, поэтому дальнейшие события оксидантного стресса протекают по пути ПОЛ, и содержание МДА существенно возрастает. Не исключено, что тяжесть клинического течения спастических форм ДЦП поддерживается выраженным окислительным стрессом, а именно высокой активностью МДА, который, являясь крайне устойчивым продуктом, обладает цитотоксическим действием на нейроны головного мозга,

разрушая их и тем самым утяжеляя состояние больных ДЦП.

Корреляционный анализ тяжести клинической картины заболевания и процессов свободнорадикального окисления выявил прямую зависимость активности антирадикальных ферментов, продуктов ПОЛ от выраженности клинических проявлений спастических форм ДЦП: СОД ($r=0,4$), каталаза ($r=0,3$), пероксидаза ($r=0,5$), МДА ($r=0,3$), т.е. чем тяжелее клинические проявления, тем выраженнее окислительный стресс у больного ДЦП.

Таким образом, у больных со спастическими формами ДЦП выявлено существование активных окислительных процессов. Согласно результатам исследования, не исключается роль патологии перивентрикулярной области в активации окислительного стресса и далее в формировании спастической диплегии и двойной гемиплегии. Вопреки сложившемуся представлению о резидуальном характере неврологического дефицита при ДЦП, результаты наших исследований показали высокую активность окислительных процессов у детей с перивентрикулярной лейкомаляцией и, возможно, их роль в поддержании стойкости двигательного дефицита. С этих позиций неизвестные патогенетические механизмы, поддерживающие и, возможно, провоцирующие свободнорадикальное окисление, диктуют необходимость дальнейшего поиска факторов риска формирования тяжелых двигательных нарушений при ДЦП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гайнетдинова Д.Д., Айзатулина Д.В., Валеева И.Х., Юсупова Э.Ф. Патогенетические механизмы формирования нестабильности генома у детей с перивентрикулярной лейкомаляцией с исходом в детский церебральный паралич // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2011. Т.111, №1. С. 74–77.
2. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб: Медицинская пресса, 2006. 400 с.
3. Методические рекомендации Минздрава СССР "Организация центров воспитания детей". М., 1990. 24 с.

4. Петрухин А.С., Созаева Н.С. Факторы риска и ранние проявления отдельных форм детского церебрального паралича в различном гестационном возрасте // Казанский медицинский журнал. 2010. Том 91, № 2. С. 180–186.
5. Семенов А.С., Скальный А.В. Иммунопатологические и патохимические аспекты патогенеза перинатального поражения мозга. СПб: Наука, 2009. 368 с.
6. Скворцов И.А. Неврология развития: руководство для врачей. М.: Литтерра, 2008. 544 с.
7. El-Dib M. Massaro AN., Bulas D., Aly H. Neuroimaging and neurodevelopmental outcome of premature infants // Am. J. Perinatol. 2010. Vol. 27, №. 10. P. 803–818.
8. Fatemi A. Wilson M.A., Johnston M.V. Hypoxic-ischemic encephalopathy in the term infant // Clin. Perinatol. 2009. Vol. 36, № 4. P. 835–858.
9. Morrison J. Preterm Birth - Mother and Child. USA: InTech, 2012. 368p.
10. Msall M.E. Limperopoulos C., Park J.J. Neuroimaging and cerebral palsy in children. // Minerva Pediatr. 2009. Vol.61, № 4. P. 415–424.

REFERENCES

1. Gainetdinova D.D. Aizatulina D.V., Valeeva I.Kh., Yusupova E.F. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2011. Vol. 111, №1. pp. 74–77. (in Russian)
2. Dubinina E.E. *Produkty metabolizma kisloroda v funktsional'noi aktivnosti kletok (zhizn' i smert', sozidanie i razrushenie). Fiziologicheskie i kliniko-biokhimicheskie aspekty*. St.Petersburg: Meditsinskaya pressa, 2006. 400 p. (in Russian)
3. *Metodicheskie rekomendatsii Minzdrava SSSR "Organizatsiya tsentrov vospitaniya detei"*. Moscow, 1990. 24 p. (in Russian)
4. Petrukhin A.S. Sozaeva N.S. *Kazanskii meditsinskii zhurnal*. 2010. Vol. 91, № 2. pp. 180–186. (in Russian)
5. Semenov A.S., Skal'nyi A.V. *Immunopatologicheskie i patokhimicheskie aspekty patogeneza perinatal'nogo porazheniya mozga*. St.Petersburg: Nauka, 2009. 368 p. (in Russian)
6. Skvortsov I.A. *Nevrologiya razvitiya: rukovodstvo dlya vrachei*. Moscow: Litterra, 2008. 544 p. (in Russian)
7. El-Dib M. Massaro AN., Bulas D., Aly H. Neuroimaging and neurodevelopmental outcome of premature infants. *Am. J. Perinatol*. 2010. Vol. 27, №. 10. pp. 803–818.
8. Fatemi A. Wilson M.A., Johnston M.V. Hypoxic-ischemic encephalopathy in the term infant. *Clin. Perinatol*. 2009. Vol. 36, № 4. pp. 835–858.
9. Morrison J. *Preterm Birth – Mother and Child*. USA: InTech, 2012. 368 p.
10. Msall M.E. Limperopoulos C., Park J.J. Neuroimaging and cerebral palsy in children. *Minerva Pediatr*. 2009. Vol.61, № 4. pp. 415–424.

Поступила 05.12.13.