

УСИЛЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И КОМПЕНСАТОРНАЯ РЕАКЦИЯ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА У БОЛЬНЫХ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

*М. Г. Узбеков¹, В.В.Алферова², Э. Ю. Мисионжник¹,
Е.В. Лукьянюк¹, А.Б. Гехт², В.М Шкловский¹*

¹Московский НИИ психиатрии Минздрава России

²Кафедра неврологии и нейрохирургии лечебного факультета
ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, Москва

Исследована концентрация малонового диальдегида (МДА), эффективная (ЭКА) и общая (ОКА) концентрации СА у 30 больных (ср. возраст 69±8 лет, 18 женщин, 12 мужчин) и 17 здоровых испытуемых, сопоставимых по полу и возрасту. У 88 % больных ИИ было выявлено увеличение МДА по сравнению с нормой ($P < 0,01$). Цель исследования - определение патогенетических аспектов, связанных с процессами перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме крови и функциональной активности сывороточного альбумина (СА) у больных в восстановительном периоде (4-5 месяцев) ишемического полушарного инсульта (ИИ). У больных ИИ активация ПОЛ патогенетически связана со снижением акцепторной способности СА. Снижение ЭКА отмечалось у 80% больных ИИ по сравнению с нормой ($P < 0,01$). Таким образом, в восстановительном периоде ИИ усиление процессов липопероксидации вызывает нарушение функциональной активности СА, что сопровождается снижением компенсаторной реакции СА.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, малоновый диальдегид, альбумин сыворотки крови, восстановительный период ишемического инсульта, реабилитация,

Реабилитация больных с когнитивными и моторными нарушениями вследствие очагового поражения мозга является длительным и дорогостоящим лечением, требующим междисциплинарного подхода и специализированной помощи [1, 2]. Считается, что к универсальным процессам, которые патогенетически связаны со снижением репаративной нейропластичности и, соответственно, с нарушением восстановления неврологических и психических функций, относится окислительный стресс (ОС), сопровождающийся снижением активности систем антиоксидантной защиты [1,2, 9,12,15]. Известно, что ОС приводит к окислительной деструкции всех основных классов биологических макромолекул - нуклеиновых кислот, белков и липидов [1, 12,15]. Образование вторичных продуктов ОС, токсичных, обладающих высокой биологической активностью «реактивных молекул», таких как перекись водорода, гидроперекиси липидов, пероксинитрит, гипохлорит, приводит к прямому цитотоксическому действию, инициирует процессы патологического апоптоза, усиливает глутаматный эксайтотоксический молекулярный каскад, что вызывает деструктивные изменения нейрональной ткани мозга [1,6,9,12,15]. В остром периоде ИИ патохимические процессы связанные с ОС являются одним из ведущих патогенетических звеньев нейронального повреждения [1,9]. Вопрос о формировании хронического ОС и снижения активности систем биотрансформации эндотоксина в восстановительном периоде ИИ остается открытым для дискуссии. Известно, что ряд вторичных продуктов ОС нарушает свойства основного транспортного белка крови- сывороточного альбумина, снижая его антиоксидантные и детоксикационные функции [6-8]. Изменение функциональных свойств СА в восстановительном периоде инсульта мало исследовано [8]. В отдельных работах показана прогностическая значимость ОКА для функционального восстановления больных ИИ [11,13]. В литературе имеются противоречивые данные об интенсивности процессов ОС и их связи со степенью восстановления неврологических и психических функций, факторами риска и патогенетическим вариантом инсульта [5,8,15]. Лекарственная терапия больных в восстановительном периоде ИИ, как правило, включает длительное применение

антиоксидантов, необходимость назначения которых не определена. Уточнение ряда патогенетических и патохимических аспектов, связанных с изменением уровня процессов ПОЛ в плазме крови и функциональной активности СА у больных в восстановительном периоде ИИ определило актуальность настоящего исследования.

Материал и методы

Клинико-биохимические исследования проведены на базе Центра патологии речи и нейрореабилитации, в лаборатории патологии мозга Московского НИИ психиатрии Росздрава и на кафедре неврологии и нейрохирургии лечебного факультета ГОУ ВПО РГМУ Росздрава. Обследовано 30 больных (средний возраст 69 ± 8 лет, 18 женщин, 12 мужчин), на 4-5 месяце заболевания, перенесших первый в анамнезе ИИ в системе внутренней сонной артерии (ВСА). Диагноз ИИ был поставлен на основании анамнестических сведений, результатов клинического осмотра и данных нейровизуализации (МРТ, КТ головного мозга). Оценка неврологического дефицита больных основывалась на результатах клинического осмотра и тестирования по международной шкале National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS (T. Brott et al, 1989). Степень функционального восстановления больных оценивалась по шкале Bartel Index (Mahoney F., Bartel D. 1965). Степень тяжести афазии определяли по Бостонской диагностической шкале афазии, Scale from the Boston Diagnostic Aphasia Examination, BDAE (Goodglass H, Kaplan E., 1983). Клинический осмотр больных, балловая оценка неврологического дефицита и биохимическое исследование крови проводились в один и тот же день.

Критериями исключения из исследования послужили: наличие тяжелой соматической патологии, состояния гемодилуции или дегидратации, заболевание почек и печени в анамнезе, психические заболевания и очаговое поражение ЦНС в анамнезе, лакунарные инсульты, тотальная афазия, гемиплегия, выраженные когнитивные нарушения. Инфаркт в системе правой ВСА перенесли 6 больных, левой – 24 больных. Основные неврологические симптомы у больных, перенесших ИИ в системе ЛВСА были представлены диссоциированными гемипарезами различной степени тяжести, нарушением чувствительности, синдромом сенсомоторной афазии разной степени выраженности (счет BDAE 5-2 баллов). При поражении правого полушария у 6 больных, наряду с гемипарезом и гипестезией, отмечались нарушения зрительного гнозиса и спастико-паретическая дизартрия. Средние значения суммарного балла по шкале NIHSS ($10,1 \pm 4,3$ Std.Dev.), по шкале Bartel Index ($72,3 \pm 10,9$ Std.Dev.).

Контрольную группу составили 17 здоровых испытуемых (средний возраст 65 ± 8 лет, 10 женщин, 7 мужчин). Группа больных перенесших ИИ ($n=30$) и здоровые испытуемые ($n=17$) не отличались по демографическим характеристикам (Student's *t*-test, $P < 0,8$).

В соответствии с Хельсинской Декларацией для экспериментов, включающих людей, у больных и здоровых испытуемых было получено информированное согласие на проведение обследования.

Биохимические параметры у больных определяли однократно, при поступлении в клинику, до начала какого-либо лечения. Уровень процессов ПОЛ в плазме крови оценивался по концентрации МДА. Концентрация МДА в сыворотке крови определяли при помощи теста с тиобарбитуровой кислотой [3]. Исследование функционального состояния СА проводили с использованием флуоресцентного метода [4]. Определяли «эффективную концентрацию альбумина» (ЭКА) и «общую концентрацию альбумина» (ОКА). Величины ЭКА отражают функциональное состояние альбуминовой молекулы. Отклонение величин ЭКА от нормальных значений указывает на функциональные и структурные нарушения в альбуминовой молекуле и нарастание эндогенной интоксикации [4,6,7]. Функциональные альбуминовые параметры определяли с помощью специального набора (набор «Зон-Альбумин», Россия) и специального флуоресцентного анализатора АКЛ-01 (Медицинский центр «Зонд», Россия).

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 варибельности 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 статистически значимыми при достигнутом уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Увеличение концентрации МДА отмечалось у 88% больных ИИ по сравнению с нормой ($P < 0,001$) (Рис.1).

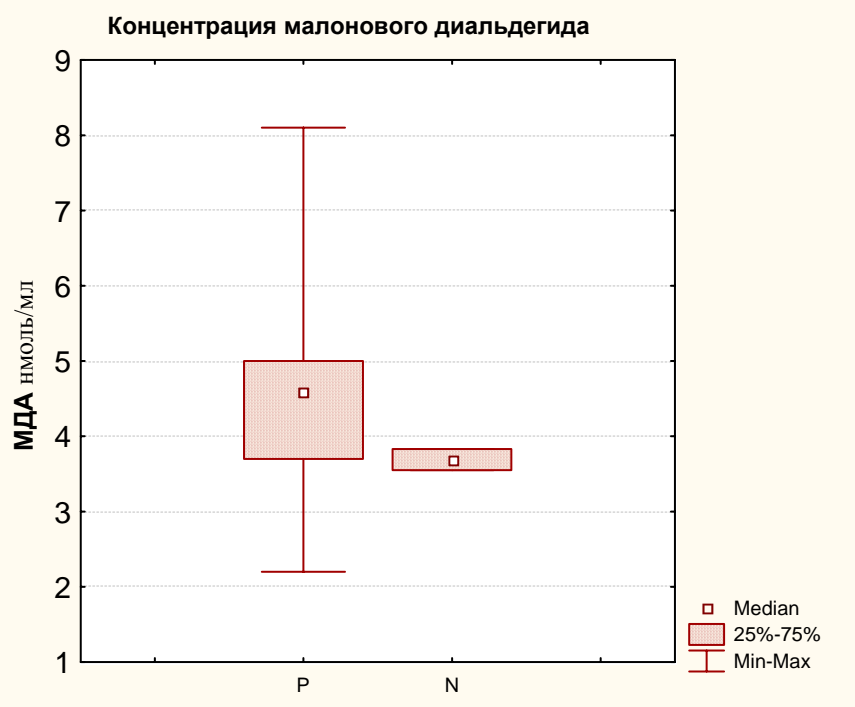


Рис 1. Диаграмма распределения концентрации МДА в сыворотке крови больных перенесших И.И. («P» N=30) и здоровых испытуемых («N» N=17). Увеличение МДА в группе больных ИИ по сравнению с нормой (Mann-Whitney U Test, $P < 0,001$).

Вероятно, повышение конечного продукта ПОЛ –малонового диальдегида в сыворотке крови больных в восстановительном периоде ИИ отражает наличие хронического ОС. Дизрегуляция системы «перекисное окисление липидов-антиоксиданты» и увеличение концентрации МДА в восстановительном и резидуальном периоде ИИ показано в ряде исследований [5,12,15]. Известно, что МДА является чрезвычайно токсичным соединением, обладающим самостоятельной высокой биологической активностью, которая приводит к мутагенному и генотоксическому эффекту, нарушению процессов ионного транспорта, рецепторного взаимодействия и активности мембрано-связанных ферментов [6]. Однако, в проведенном нами исследовании не было получено достоверных результатов подтверждающих взаимосвязь избыточной липопероксидации и степенью восстановления невро-логических функций. Вероятно, отсутствие взаимосвязи концентрации эндотоксина МДА и клинической симптоматики больных ИИ может быть обусловлено реализацией компенсаторных механизмов, связанных с биотрансформацией эндотоксина. Известно, что одним из ведущих физиологических механизмов выведения афизиологических метаболитов является акцепторная способность альбумина [6-8]. Для нормы была характерна высоко достоверная, положительная корреляция МДА/ЭКА: $r_s = +0.60$, $P < 0.005$. У здоровых испытуемых однонаправленное увеличение МДА и ЭКА, вероятно, отражало повышение акцепторной способности альбуминовой молекулы при нарастании токсического метаболита в сыворотке крови. Сопряженность изменения МДА/ЭКА в норме ограничивалось только положительной корреляционной связью, при этом не отмечалось формирования достоверной причинно-следственной взаимосвязи признаков (по данным логит-регрессии), обусловленной влиянием фактора МДА на показатели функциональной активности альбумина. Высоко достоверное влияние фактора МДА на изменение ЭКА было выявлено в группе больных ИИ: критерий сопряженности признаков МДА/ЭКА, $\chi^2(1) = 9.14$, $p = 0.002$, при отношении шансов (OR)

3,19. Таким образом, детоксикационная и антиоксидантная функция основного транспортного белка сыворотки крови- альбумина, связанная с акцепторной способностью его молекул, находилась у больных ИИ в состоянии функционального напряжения и была непосредственно связана с избыточной липопероксидацией. В связи с тем, что переменная ЭКА имела нормальное распределение, сравнение несвязанных групп по этому параметру и характеристика самой переменной ЭКА проводилось по t -тесту Стьюдента (Student's t -test). В группе больных изменение ЭКА по отношению к норме было неоднородным (Табл.). Увеличение ЭКА по сравнению с нормой отмечалось у 20% больных. В этих случаях было выявлено сопряженное увеличение эффективной и общей концентрации СА, что подтверждалось значимой положительной корреляционной связью ЭКА/ОКА: $r_s = + 0.64$; $P < 0.001$. Достоверных связей ОКА и МДА получено не было, вероятно, это было связано с наиболее оптимальной компенсацией системы СА. Одновременное повышение ЭКА/ОКА ассоциировалось с высокой толерантностью больных ИИ к психической и физической нагрузке (ЛФК и логопедические занятия). В остальных 80% случаев было выявлено снижение ЭКА по сравнению с нормой, $P < 0,01$ (Табл.1).

Таблица 1

Изменение эффективной концентрации сывороточного альбумина (ЭКА) у больных перенесших ИИ (N=30) при различной степени компенсации СА по сравнению с группой нормы (N=17)

Изменение ЭКА	Среднее. Значение (Mean)	Ст. Отклонение (Std.Dev).	Тест Шапиро-Уилки (W test)
Сохранная компенсация N=6	49.0 г/л.	± 6.8	W= 0.93 p= 0,18
Снижение компенсации N =20	33.2* г/л.	± 7.6	W= 0.97 p= 0,75
Декомпенсация СА N=4	29.5* г/л.	± 4.9	W= 0.95 p= 0,24
Норма N=17	44.0 г/л.	± 3.1	W= 0.91 p= 0,14

* $p < 0,01$, Student's t -test

Снижение ЭКА, сопровождалось исчезновением корреляционной связи эффективной и общей концентрации СА. Вероятно, рассогласование связи ЭКА/ОКА (в норме эти показатели, практически, равны) было связано с истощением основного компенсаторного механизма детоксикации, связанным с повышением ЭКА, и формированием другого, «запасного», менее совершенного механизма компенсации СА, вследствие принципиально иного, патохимического состояния молекул альбумина. У 67% больных снижение ЭКА сопровождалось повышением ОКА по сравнению с нормой ($P < 0,05$). По данным литературы, в остром периоде ИИ ОКА имеет прогностическое значение для исхода заболевания и последующего восстановления неврологических функций больных [11,13]. В настоящем исследовании, в восстановительном периоде ИИ, для всей группы больных была характерна значимая положительная корреляция ОКА и степени восстановления неврологических функций к 4-5 месяцу ИИ (ОКА/ суммарный балл Bartel Index: $r_s = +0.40$, $P < 0.02$). Одновременное снижение ЭКА/ОКА по сравнению с нормой было выявлено у 4 больных. Во всех случаях наблюдалось минимальное восстановление неврологических функций и нестабильное течение заболевания: у 3 больных развились сердечно-сосудистые осложнения и у одного больного- преходящее нарушение мозгового кровообращения. Во всех случаях реабилитационное лечение в стационаре было прекращено.

Выводы

В восстановительном периоде ИИ выявлено усиление процессов липопероксидации, которые связаны с нарушением функциональной активности СА. Базовая основа сохранной компенсаторной реакции СА представлена повышением эффективной и общей концентрации альбумина. Восстановление нарушенных функций ЦНС на 4-5 месяце заболевания

ассоциировалось с компенсаторной реакцией СА, связанной с повышением ОКА и объяснялось, вероятно, адаптацией гомеостаза к патологическому усилению катаболических процессов. Однако, в большинстве случаев (67% больных) было выявлено уменьшение резерва связывания альбумина. Исходя из положения, что ЭКА является показателем функциональной активности СА и характеристикой его акцепторной способности [6-8], можно сделать вывод о снижении реакции компенсации СА вследствие нарушения конформационной целостности молекулы альбумина. Синтез «дефектных» белковых молекул с измененной структурной динамикой вызывает уменьшение акцепторной способности альбумина и снижение его биологических функций, что подтверждается рассогласованием связи (корреляционной) показателей ЭКА/ОКА. Декомпенсация СА представленная одновременным уменьшением общей и эффективной концентрации приводит к нарушению транспортной, детоксикационной и антиокислительной функции СА и развитию патологических метаболических путей. Снижение компенсаторной реакции или формировании реакции декомпенсации СА, вероятно, требует дополнительной медикаментозной коррекции у больных, перенесших ИИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Е.И. Ишемия головного мозга / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова. - М.: Медицина, 2001.- 327 с.
2. Кадыков А.С. Реабилитация неврологических больных / А.С. Кадыков, Л.А. Черникова, Н.В. Шахпаронова. – М.: МЕД пресс-информ, 2008.- 350 с.
3. Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э.Н. Коробейникова // Лаб.дело. – 1989. - № 7. – С. 8-10.
4. Некоторые характеристики метода и реактивов для флуоресцентного определения эффективной и общей концентрации сывороточного альбумина / В.М. Моин [и др.] // Клинич. лаб. диагностика.- 1994.- № 5. –С. 33-35.
5. Трофимова С.А. Динамика клинических симптомов и показателей окислительного стресса у больных с последствиями ишемических инсультов в процессе восстановительной терапии: автореф. дис. канд. мед. наук / С.А. Трофимова. – СПб., 2007.– 27 с.
6. Узбеков М.Г. Неспецифический синдром эндогенной интоксикации как интегральный компонент патогенеза психических расстройств / М.Г. Узбеков, Э.Ю. Мисионжник // Рос. психиатр. журн.- 2000.- № 4.-С.56-65.
7. Нарушение конформации связывающих центров сывороточного альбумина при шизофрении / М.Г. Узбеков [и др.] // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2008b.- № 108.-С. 67-70.
8. Некоторые аспекты нарушения метаболизма у больных перенесших ишемический инсульт / В.М. Шкловский [и др.] // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.- 2008.- № 23.-С. 23-27.
9. Яворская В.А. Исследование уровня молекул средней массы и процессов перекисного окисления липидов в крови больных с разными формами инсульта / В.А. Яворская, А.М. Белоус, А.Н. Мохамед // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.- 2000.- № 1.- С. 48-51.
10. Urgent therapy for stroke, I: Pilot study of tissue plasminogen activator administered within 90 minutes / T.G. Brott [et al.] // *Stroke*.-1992.- № 23.-P. 632-640.
11. Serum albumin at admission for prediction of functional outcome in ischaemic stroke patients / Y.M.Cho [et al.] // *Neurol Sci*.-2008.- № 29(6).-P.445-449.
12. Corrêa M. de C. Oxidative stress and erythrocyte acetylcholinesterase (AChE) in hypertensive and ischemic patients of both acute and chronic stages / Corrêa M. de C., P. Maldonado P., C.S. da Rosa // *Biomed Pharmacother*.- 2008. - № 62(5).-P. 317-324.
13. Idicula T.T. Serum albumin in ischemic stroke patients: the higher the better / T.T. Idicula, U. Waje-Andreassen, J. Brogger // *Cerebrovasc. Dis*.- 2009.- № 28(1).- P.13-17.
14. Mahoney F. Functional evaluation: the Barthel Index / F. Mahoney, D. arthel // *D State Med. J*.- 1965. - №14. – P.61-65.
15. Sinan Bir Increased Serum Malondialdehyde Levels in Chronic Stage of Ischemic Stroke / Bir Sinan, L.Demir, S. Rota // *The Tohoku Journal of Exp. Med*.- 2006.-№ 208.-P.8-33.

STRENGTHENING THE LIPID PEROXIDATION AND SERUM ALBUMIN COMPENSATORY REACTIONS IN PATIENTS IN THE RECOVERY PERIOD STROKE

M.G. Uzbekov, V.V. Alferova, E. Yu. Misionzhnik, E.V. Lukyanyuk, A.B. Hecht, V.A. Shklovskii

Studied the concentration of malondialdehyde (MDA), an effective (ECA) and total (OCA), the concentration of CA in 30 patients (cf. the age of 69 ± 8 years, 18 women, 12 men) and 17 healthy subjects of comparable age and sex. In 88% of patients with AI showed an increase in MDA compared with the norm ($P < 0.01$). The aim - to define the pathogenetic aspects of the processes of lipid peroxidation (LPO) in blood plasma and functional activity of human serum albumin (SA) patients in the recovery period (4-5 months) ischemic hemispheric stroke (AI). In patients with ischemic activation of LPO pathogenetically associated with a decrease in acceptor ability of the CA. Reduction ECA noted in 80% of patients with ischemic compared with normal ($P < 0,01$). Thus, the recovery period, the AI increased lipid peroxidation is a violation of the functional activity of the CA, which is accompanied by a decrease in compensatory reaction SA.

Key Words: lipoperoxidation, malonedialdehyde, serum albumin, chronic stage of ischemic stroke, rehabilitation

Узбеков М.Г. – д.м.н., руководитель лаборатории биохимии мозга ФГУ Московский научно-исследовательский институт психиатрии. krasnov@mtu-net.ru