

М.А. Луцкий, К. А. Разинкин, Ю.П. Лушникова, М.А. Смелянец
**АНАЛИЗ ПАРАМЕТРОВ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО
ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И БЕЛКОВ, ВЕРИФИЦИРУЮЩИЙ
ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМАХ
РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА**

*Кафедра неврологии ВГМА им. Н.Н. Бурденко, Воронежский Государственный
Технический Университет*

Резюме. В статье дается подробный анализ параметров и показателей свободнорадикального окисления липидов и белков, верифицирующих окислительный стресс при первично-прогрессирующей (ППРС) и вторично-прогрессирующей (ВПРС) клинических формах рассеянного склероза (РС). При этом необходимо отметить подтверждение согласно полученных данных динамики параметров и показателей наличие двух блоков в самом развитии окислительного стресса, а именно: интенсификацию процесса свободнорадикального окисления (СРО) и формирование функционального дисбаланса в ферментативном и неферментативном звеньях эндогенной системы антиоксидантной защиты (АОЗ) при ППРС и ВПРС. Понимание сложнейших патогенетических механизмов развития рассеянного склероза является залогом успешной и перспективной терапии этого тяжелейшего заболевания нервной системы.

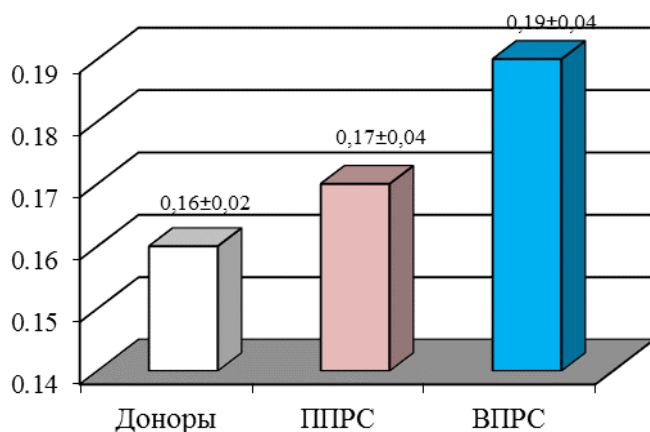
Ключевые слова: рассеянный склероз, окислительный стресс, патогенез.

Актуальность. Иммунопатологический процесс при РС сопровождается активацией фагоцитоза. Способность же фагоцитирующих клеток образовывать активные формы кислорода обусловлена наличием на их поверхности ферментов, генерирующих перекись водорода, в частности НАДФ-И2-оксидазы, которая активируется при контакте клеточной мембраны с иммунными комплексами, компонентами комплемента, лимфокинами, что имеет значение в развитии патологического процесса при РС. Активные формы кислорода в свою очередь являются инициаторами и активаторами процессов СРО. Таким образом, в патогенезе РС активно проявляет себя объединение двух взаимосвязанных процессов, а именно иммунопатологического и окислительного стресса - так называемый иммуно-метаболический тандем. Свободно-радикальное окисление липидов и белков является одним из важнейших регуляторов метаболизма липидов, белков, углеводов, процесса, который лежит в основе пластического и энергетического обеспечения функций клетки и организма в целом. Процессы СРО - лимитирующее звено регуляции морфофункционального статуса биологических мембран и внутриклеточного гомеостаза. В любой клетке организма постоянно имеются условия для осуществления процессов СРО, обусловленные наличием субстратов: полиеновых липидов, а также инициаторов и катализаторов: активных форм кислорода и ионов металлов переменной валентности. В то же самое время в норме содержание продуктов СРО в организме невысоко. Это объясняется существованием постоянно функционирующего в организме комплекса механизмов эндогенной системы антиоксидантной защиты. Строгая регламентация реакций СРО обеспечивается согласованным функционированием неферментативного и ферментативного звеньев этой системы, контролирующей в организме уровень активных

форм кислорода, свободных радикалов и молекулярных продуктов. Последнее является типичным цепным процессом с выраженным разветвлением, протекающим по свободно-радикальному механизму в несколько стадий. В ходе ступенчатой деградации полиненасыщенных липидов в реакциях СРО образуется ряд первичных, вторичных и конечных молекулярных продуктов, играющих важную роль в процессах структурной модификации биологических мембран и изменений их физико-химических свойств. Избыток продуктов СРО в организме приводит к нарушению процессов окислительного фосфорилирования, митохондриального окисления и детерминации процесса трансляции белковых молекул в клетке. Нарушение структурного и функционального состояния клеточных мембран в результате воздействия избыточных концентраций активных форм кислорода и продуктов СРО как проявление окислительного стресса лежит в основе развития патологии. Окислительный стресс рассматривается как один из механизмов патогенеза при целом ряде заболеваний нервной системы, в том числе рассеянном склерозе.

Материалы и методы исследования. С целью подтверждения интенсификации СРО и дисбаланса в системе АОЗ, основных блоков проявления окислительного стресса, нами проведено исследование параметров первичных, вторичных и конечных продуктов СРО и состояние активности неферментативного и ферментативного звеньев системы АОЗ у больных с разными клиническими формами течения РС. Группу исследования составили 60 больных РС: 30 с первично-прогрессирующим течением, 30 со вторично-прогрессирующим течением. В качестве контрольной группы исследовалась кровь по тем же параметрам и показателям у 30 доноров.

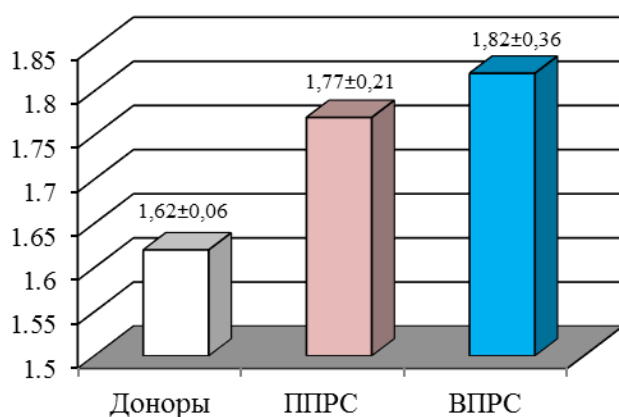
Полученные результаты и их обсуждение. Представленные данные свидетельствуют об увеличении содержания первичных (кетодиены), вторичных (малоновый диальдегид) и конечных (флюоресцирующие основания Шиффа) продуктов СРО у больных с разными клиническими формами РС в сравнении с контрольной группой (см. рис.1,2,3).



При $p < 0.05$

Рис 1. Кетодиены. Единицы измерения: единицы оптической плотности/мл крови

Кетодиены – первичные продукты СРО липидов, инициирующие интенсификацию процессов свободнорадикального окисления, они не стойкие и быстро распадаются.

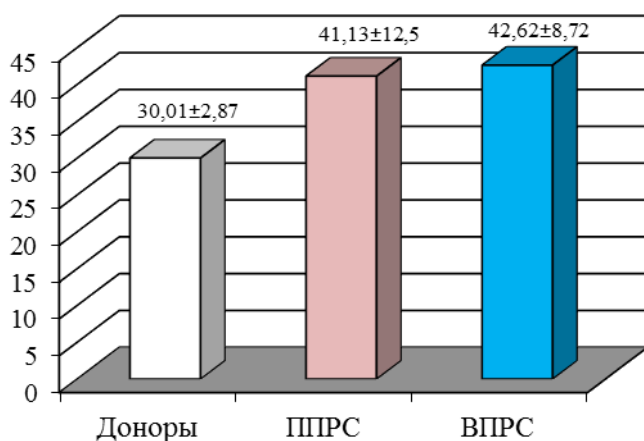


При

$p < 0.05$

Рис. 2. Малоновый диальдегид. Единицы измерения: микромоль/л крови

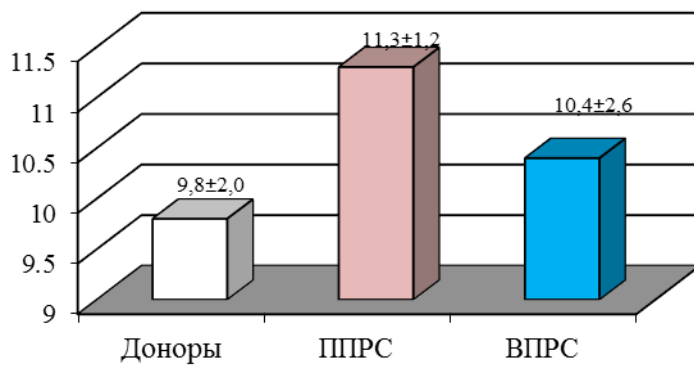
Малоновый диальдегид - вторичный продукт, повышение которого свидетельствует об активации СРО липидов, что подтверждает интенсификацию процессов свободнорадикального окисления липидов при вышеперечисленных клинических формах заболеваний РС. Вторичный продукт СРО – малоновый диальдегид, взаимодействуя с N - концевыми остатками аминокислот и аминогруппами фосфалипидами, образуют конъюгированные флуоресцирующие соединения, типа основания Шиффа.



При $p < 0.05$

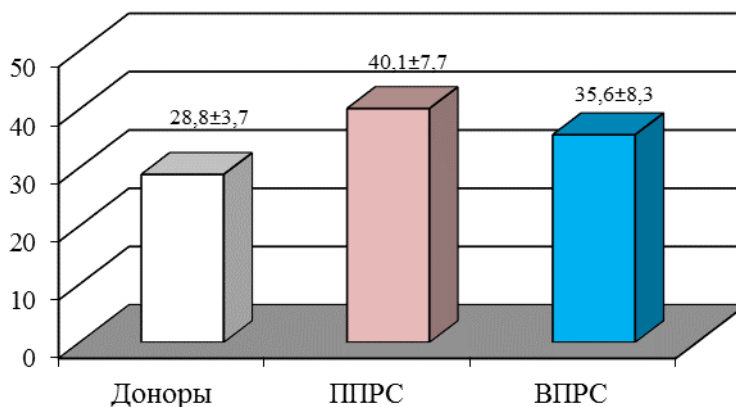
Рис.3. Основания Шиффа. Единицы измерения: единицы оптической плотности/мл крови

Образуются в результате взаимодействия диальдегидов и малонового диальдегида с белками. Увеличение параметров оснований Шиффа подтверждает тенденцию к хронизации процесса активации СРО липидов и белков. Увеличение параметров продуктов СРО характеризует интен-сификацию этих процессов, что сопровождается изменениями в эндогенной системе антиоксидантной защиты, являющейся лимитирующим звеном свободнорадикального окисления. Повышение антиокислительной активности плазмы сопровождается достоверным повышением активности вита-мина Е. Этой компенсаторной реакции неферментативного звена АОЗ организма сопутствует снижение уровня показателей общих и небелковых тиолов (см. рис.4,5,6,7)



При $p < 0.05$

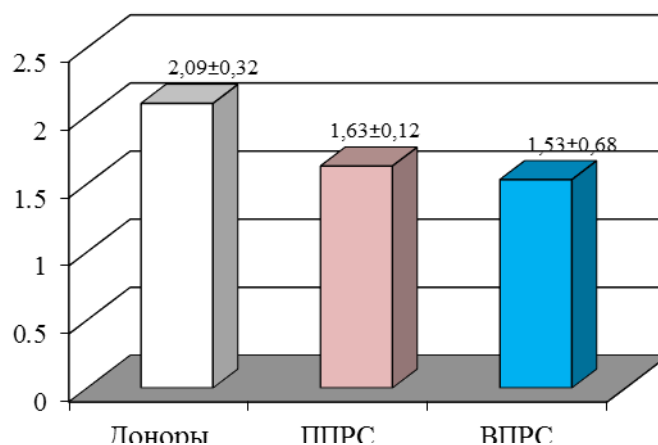
Рис. 4. Антиокислительная активность плазмы. Единицы измерения: квант/с *мл*4



При $p < 0.05$

Рис. 5. Витамин Е. Единицы измерения: микромоль/л

Витамин Е - эндогенный биоантиоксидант, который взаимодействует с радикалами липидов и перекисей с образованием балластных продуктов, сам при этом окисляется. Снижение в крови показателя активности витамина Е свидетельствует о значительной активации процесса СРО и дисбалансе в неферментативном звене эндогенной системы антиоксидантной защиты.

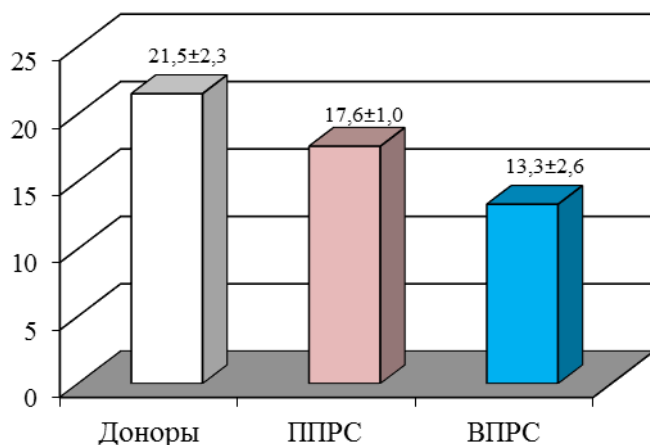


При $p < 0.05$

Рис.6. Небелковые тиолы. Единицы измерения: ммоль/л

Общие и небелковые тиолы - это SH-группы белков и аминокислот, они взаимодействуя, с активными формами кислорода, сами при этом окисляются. Снижение их показателей в крови свидетельствует о выраженной активации СРО, а также этот

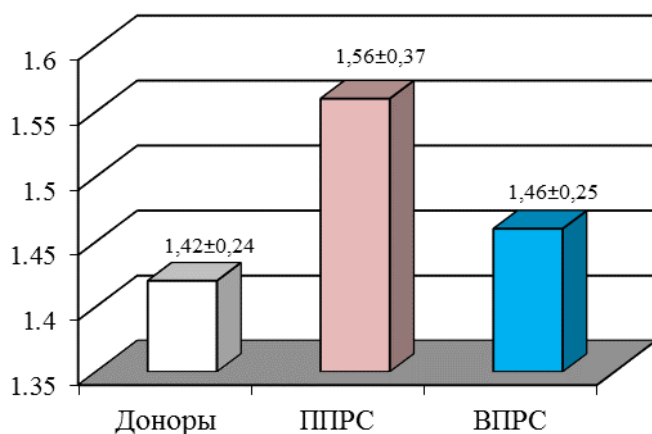
показатель является косвенным признаком верифицирующим снижение активности восстановленного глутатиона, как проявление функционального дисбаланса в неферментативном звене АОЗ



При $p < 0.05$

Рис. 7. Общие тиолы. Единицы измерения: ммоль/л

Интенсификация свободнорадикальных процессов у больных РС сопровождается изменениями в ферментативном звене АОЗ. Активность супероксиддисмутазы повышается ввиду избыточных концентраций ее специфических субстратов: активных форм кислорода и перекиси водорода, что также подтверждает интенсификацию процессов СРО при разных клинических формах течения РС. Все это отражается на динамике глутатионзависимых ферментов. Так, активность глутатионпероксидазы повысилась, а глутатионредуктазы снизилась. Снижение активности глутатионредуктазы ведет к снижению показателя восстановленного глутатиона в крови. Это обусловлено повышенной окислительной деструкцией глутатиона, так как поддержание достаточного уровня восстановленного глутатиона, окисляющегося при функционировании глутатионзависимой антиперекисной системой, осуществляется специфическим для него ферментом глутатионредуктазой, о снижении уровня восстановленного глутатиона в крови косвенно свидетельствует и уменьшение содержания общих и небелковых тиолов, что подтверждает выраженный дисбаланс в антиперекисном комплексе глутатионредуктаза - восстановленный глутатион. На этом фоне отмечена активация церулоплазмينا (смотри рис. 11) являющегося одним из основных антиоксидантов плазмы крови (см. рис.8,9,10).

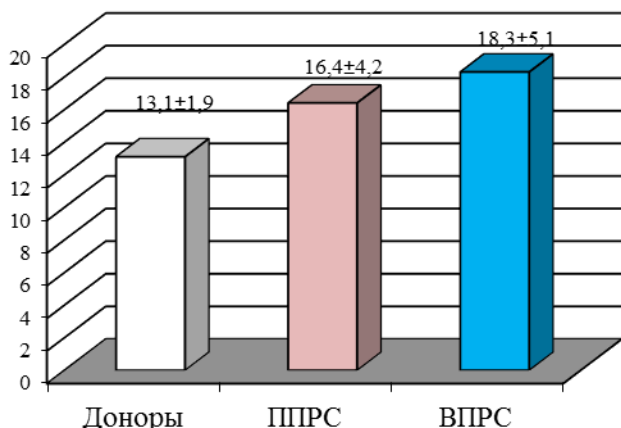


$p < 0.05$

При

Рис.8. Супероксиддисмутаза. Единицы измерения: условные единицы активности/мг гемоглобина

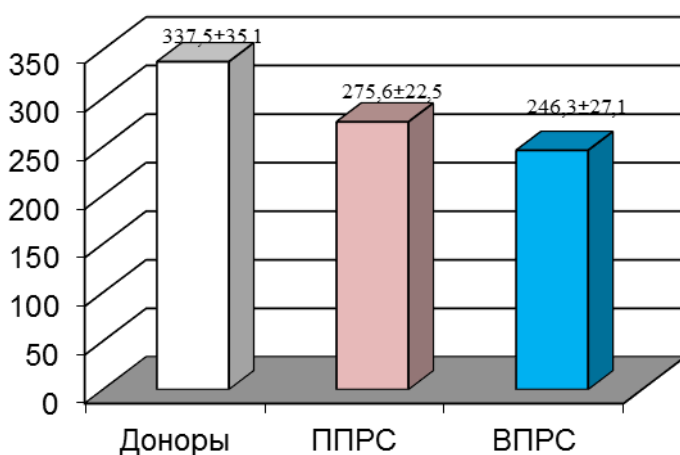
Супероксиддисмутаза переводит АФК в перекись водорода, что является основным антиоксидантным эффектом фермента. Повышение показателя активности этого фермента свидетельствует об интенсификации процессов СРО.



При $p < 0.05$

Рис.9. Глутатионпероксидаза. Единицы измерения: мкмоль/G-SH/л*мин*103

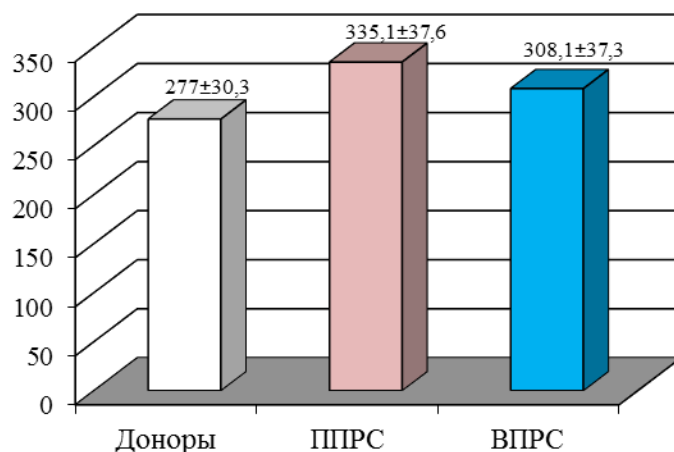
Глутатионпероксидаза- нейтрализует в организме гидроперекиси, перенося электрон от глутатиона на перекись, при этом глутатион окисляется. ГПО активируется при интенсификации СРО. Снижается активность при снижении концентрации восстановленного глутатиона, как проявление дисбаланса в ферментативном звене эндогенной системы антиоксидантной защиты.



При $p < 0.05$

Рис.10. Глутатионредуктаза. Единицы измерения: мкмоль/G-SS-G/л*мин

Глутатионредуктаза, её активность увеличивается при нарастании показателей активности окисленного глутатиона, который она переводит в восстановленный. На рисунке №10 мы видим явное снижение показателя активности глутатионредуктазы при ишемическом и геморрагическом инсульте, что подтверждают предшествующие рисунки 6 и 7, указывающие на снижение показателя активности восстановленного глутатиона. Это еще раз подтверждает дисбаланс в ферментативном и неферментативном звеньях эндогенной системы антиоксидантной защиты.



При $p < 0.05$

Рис.11. Церулоплазмин. Единицы измерения: мкмоль бензохинона/л*мин

Заключение. Анализ клинических форм РС показал повышение при ППРС интенсивности процессов СРО, в частности увеличение параметров кетодиенов, малонового диальдегида и оснований Шиффа. При ВПРС также имеется тенденция к активации этих процессов, что подтверждается высокими параметрами молекулярных продуктов СРО. Что касается динамики неферментативного звена АОЗ у больных с ППРС и ВПРС, то отмечено повышение уровня витамина Е и антиокислительной активности плазмы при сравнительно одинаковых показателях перекисной резистентности эритроцитов крови. Другими являются данные анализа параметров активности АОЗ при ВПРС - повышение этих показателей незначительно. Таким образом, на фоне большей интенсификации процессов, о чем можно судить по параметрам первичных, вторичных и конечных продуктов СРО, при ВПРС регистрируются более низкие показатели компенсаторной активности неферментативного звена АОЗ. Это подтверждает наличие дисбаланса неферментативном звене АОЗ при ВПРС. Результаты анализов показателей ферментативного звена АОЗ при ППРС и ВПРС представлены вариабельно. При ППРС отмечено повышение содержания церулоплазмينا, супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы со значительным снижением активности глутатионредуктазы, а при ВПРС наблюдается снижение активности каталазы, связанное со снижением каталазной активности крови. При относительно одинаковых показателях церулоплазмينا, супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы имеет место более значимое снижение уровня глутатионредуктазы. Таким образом, при ВПРС на фоне повышенной интенсивности процессов СРО отмечены снижение каталазной активности крови и более выраженный функциональный дисбаланс в звене глутатионредуктаза –восстановленный глутатон.

Литература:

1. Рассеянный склероз: избранные вопросы теории и практики. Под ред. И.А. Завалишина, В.И. Головкина. М 2000.-639 с.
2. Луцкий М.А. Системный анализ и многофазное моделирование составляющих лабораторного статуса при рассеянном склерозе. Воронеж: Новый взгляд 2002.- 231 с.
3. Завалишин И.А., Захарова М.Н Рассеянный склероз: современ-ные аспекты этиологии и патогенеза. Журнал неврологии и психиатрии (спец. выпуск) 2003;2:10-17.

4. Шмидт Т.Е. Рассеянный склероз/Т.Е. Шмидт, Н.Н. Яхно. – М.: Медицина, 2003. – 156 с.
5. Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания/ под ред. Е.И. Гусева, И.А. Завалишина, А.Н. Бойко. – М., 2004. – 520 с.
6. Рассеянный склероз. Клиническое руководство под редакцией Гусева Е.И., Завалишина И.А., Бойко А.Н., М.: Реал тайм, 2011. – 528 с.

Abstract

M.A. Lutsky, K. A. Razinkin, Y. P. Lushnikova, M.A. Smelyanets

**ANALYSIS OF PROTEIN AND LIPID FREE-RADICAL
OXIDATION PROCESSES IDENTIFYING OXIDATIVE STRESS
IN DIFFERENT CLINICAL FORMS OF MULTIPLE SCLEROSIS**

*Neurology Department, Voronezh State Medical Academies of a name of N.N. Burdenko,
The Voronezh State technical university*

Resume. The article gives a detailed analysis of protein and lipid free-radical oxidation processes identifying oxidative stress in Primary Progressive Multiple Sclerosis (PPMS) and Secondary Progressive Multiple Sclerosis (SPMS). The findings obtained in the course of the study make it possible to verify the presence of two factors in the oxidative stress development, namely: the intensification of free-radical oxidation (FRO) processes and the functional imbalance in the enzymatic and nonenzymatic segments of the antioxidant defense system (ADS) in PPMS and SPMS. The understanding of the complex pathogenesis of Multiple Sclerosis guarantees an effective and potentially productive therapy for such a severe disease of the nervous system.

Key words: Multiple Sclerosis, oxidative stress, pathogenesis.

References:

1. Multiple Sclerosis: Selected Issues of Theory and Practice. Edited by I.A. Zavalishin, V.I. Golovkin. Moscow, 2000. – page 639.
2. Lutsky M.A. System Analysis and Multiphase Modelling of Laboratory Findings in Multiple Sclerosis. Voronezh: Novy Vzglyad, 2002. – page 231.
3. Zavalishin I.A., Zakharova M.N. Multiple Sclerosis: Modern Aspects of the Etiology and Pathogenesis. S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry (special edition) 2003;2:10-17.
4. Schmidt T.E. Multiple Sclerosis / T.E. Schmidt, N.N. Yakhno. T – Moscow: Medicine, 2003. – page 156.
5. Multiple Sclerosis and Other Demyelinating Diseases / Edited by E.I. Gusev, I.A. Zavalishin, A.N. Boiko. – Moscow, 2004. – page 520.
6. Multiple Sclerosis. Clinical Guidance under the editorship of Gusev E.I., Zavalishin I.A., Boiko A.N. Moscow: Real Time, 2011. – page 528.

Сведения об авторах:

Луцкий Михаил Александрович, зав. кафедрой неврологии ВГМА им. Н.Н. Бурденко, профессор, д.м.н., 257-96-84, 8-951-879-91-93, Lustky@vmail.ru

Смеянец Максим Анатольевич, клинический ординатор кафедры неврологии
ВГМА им. Н.Н. Бурденко, 8-915-582-85-70