

БІОХІМІЧНІ ВИЯВИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ Й ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ПРИ СПОНТАННОМУ СУБАРАХНОЇДАЛЬНОМУ КРОВОВИЛИВІ ТА ЇХНЯ РОЛЬ У ПАТОГЕНЕЗІ ВТОРИННОГО ІШЕМІЧНОГО ПОШКОДЖЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

В.М. ШЕВАГА ¹, А.М. НЕТЛЮХ ^{1,2}, О.І. ГРИЩУК ³, В.М. САЛО ²,
О.Я. КОБИЛЕЦЬКИЙ ^{1,2}, М.Р. БУБНЯК ², О.Я. МИХАЙЛИШИН ²

¹ Львівський національний університет ім. Данила Галицького

² Комунальна міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги м. Львова

³ 8-ма міська клінічна лікарня м. Львова

Обстежено 28 хворих із субарахноїдальним крововиливом (САК) унаслідок розривів артеріальних аневризм. Визначали екскрецію метаболітів оксиду азоту (NO) в сечі та продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) у сироватці крові. При сприятливому перебігу САК спостерігали наближену до контрольного показника екскрецію метаболітів NO на тлі максимального рівня продуктів ПОЛ у сироватці крові на 4–13-ту добу захворювання. При несприятливому перебігу, зумовленому тяжким ішемічним ураженням головного мозку, у цей же період спостереження встановлено значне підвищення рівня NO як вияв посиленої його деградації, а також вмісту продуктів ПОЛ, починаючи з 14-ої доби від початку захворювання. Досліджені біохімічні показники можуть слугувати критеріями для оцінки тяжкості вторинного ішемічного ураження головного мозку та прогнозу перебігу гострого періоду САК.

Ключові слова: субарахноїдальний крововилив, ішемія головного мозку, ендотеліальна дисфункція, оксид азоту, перекисне окислення ліпідів.

Активация окисляющих процессов, пов'язаних з утворенням продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), накопиченням продуктів метаболізму оксиду азоту (NO), які роз-

виваються на тлі значного порушення функції антиоксидантної системи, може бути однією з причин розвитку ускладнень при ураженні головного мозку [2].

Ініціувальна дія NO на процес апоптозу спостерігається у разі високих концентрацій NO в клітинах і тканинах, наприклад, при функціонуванні індукцибельної NO-синтази. Можливо, це зумовлено тим, що при інтенсивній генерації NO різко підвищується ймовірність його перетворення на

Нетлюх Андрій Михайлович

к.мед.н., лікар-нейрохірург, доц. кафедри невропатології і нейрохірургії ФПДО ЛНМУ ім. Данила Галицького, лікар відділення інтервенційної радіології комунальної міської клінічної лікарні швидкої медичної допомоги м. Львова

тел.: +38 (067) 93-46-393, тел./факс: 224-91-44

Romaivanova-mail@rambler.ru

пероксинітрит, який запускає процес апоптозу [1].

F.A. Sehba і J.B. Bederson [14] висунули припущення про те, що гемодинамічні порушення, які розвиваються після субарахноїдального крововиливу (САК), на рівні мозкової циркуляції мають три основні фази, протягом кожної з них мають місце різні за характером ефекти NO, чим можна пояснити суперечливі дані щодо характеру дії NO на нервову тканину. Зазначені автори показали, що перекисне ушкодження внаслідок дії NO виникає через 6 год з моменту розвитку САК, водночас NO не спричиняє подальшого збільшення об'ємного кровотоку в судинах мозку [14].

Підвищена продукція вільних радикалів, яка ініціюється при ішемії мозку арахідоною кислотою, є однією з причин тривалого спазму судин, зриву церебральної авторегуляції, а також прогресування постішемичного набряку і набухання головного мозку внаслідок дезінтеграції діяльності нейронів і пошкодження мембранних pomp [11].

Концентрація NO починає збільшуватися з перших хвилин ішемії, досягаючи максимуму на 1-шу–3-тю добу. На цьому етапі NO бере участь у непрямих механізмах загибелі нейрона — активації фосфоліпаз, посиленні утворення гідроксилрадикала, модуляції активності NMDA-рецепторів. У відстрочений постішемичний період (з 7–14-ої доби при глобальній ішемії та з 1–3-ої доби при фокальній) реєструють гіперпродукцію NO з участю індукцйбельної NO-синтази активованої глії, макрофагів і нейтрофілів. Відтермінований характер експресії індукцйбельної NO-синтази пов'язаний з пізнішими термінами появи активованої астро- і макроглії та клітин запалення. На стадії енергетичних порушень відбувається збільшення проникності мембран і активація вільнорадикальних процесів, у тому числі посилення процесів ПОЛ та окисної модифікації білків, а також гіперпродукція NO [3, 9]. У фізіологічних концентраціях NO виступає як антиоксидант, який гальмує розвиток радикальних окисних реакцій, зв'язуючись з вільними іонами Fe^{2+} , які входять до складу гему, та інгібуючи розкладання перекису [10], тому в умовах ішемії гіперпродукція NO може активувати антиоксидантні системи і, як наслідок, призвести до зниження вмісту вільних ради-

калів, які посилюють синтез NO в організмі [5]. Підвищення продукції NO в клітинах мозку призводить до їх ушкодження і загибелі [4].

Таким чином, різноспрямована дія NO на судинне русло і тканину мозку, кореляція змін його метаболізму з процесами ПОЛ становлять актуальне питання при вивченні патогенезу ішемії головного мозку. У доступній нам літературі не знайдено детальних досліджень зазначених біохімічних показників, зокрема при вторинному ішемичному ушкодженні тканини головного мозку внаслідок вазоспазму як ускладнення спонтанного САК.

Мета дослідження — покращення результатів лікування спонтанного САК шляхом вироблення додаткових діагностичних та прогностичних біохімічних критеріїв вторинних ішемичних ускладнень.

Матеріали та методи

Обстежено 28 хворих зі спонтанними САК внаслідок розриву аневризми судин головного мозку. Середній вік пацієнтів становив $(49,3 \pm 3,2)$ року. Проведено клінічне обстеження хворих, комп'ютерно-томографічне або магнітнорезонансно-томографічне дослідження головного мозку, церебральну ангіографію, за даними якої підтверджено аневризматичний генез крововиливу, встановлено наявність вазоспазму. Неприятливим вважали перебіг захворювання, коли мала місце тяжка вторинна ішемія головного мозку як ускладнення вазоспазму і/або смерть пацієнта внаслідок геморагічного інсульту. Таких пацієнтів було 10. Проводили визначення вмісту метаболітів NO (нітритів) у ранковій сечі пацієнтів фотометричним методом, запропонованим П.П. Голяковим і співавторами. Показники ПОЛ визначали спектрометричним методом, запропонованим Р.А. Тімірбулатовим і Є.І. Селезньовим. Проведено групування результатів згідно із термінами появи, піку та розрешення вазоспазму [13], тобто на 1-шу–3-тю, 4–13-ту і 14–30-ту добу після САК.

Результати та обговорення

У хворих на 1-шу–3-тю добу після крововиливу спостерігали підвищення активності ПОЛ до $(0,1 \pm 0,03)$ ум.од., на 4–13-ту

добу — до $(0,12 \pm 0,015)$ ум.од., на 14–30-ту добу — до $(0,11 \pm 0,013)$ ум.од. (рис. 1). При цьому порівняно з контролем ($(0,07 \pm 0,01)$ ум.од.), на 1-шу–3-тю добу відмінності мали недостовірний характер ($p > 0,2$), а на 4–13-ту та 14–30-ту добу після САК виражена активація ПОЛ була достовірною ($p < 0,02$ та $p < 0,05$ відповідно).

стерігали односпрямовані зміни показників ПОЛ та рівня NO (рис. 3). Винятком є ранній термін після САК (1-ша–3-тя доба), коли на тлі підвищеної активності ПОЛ відбувалося зниження рівня метаболітів NO порівняно з контролем, що свідчить про дефіцит вазорелаккуючого фактора у цей період захворювання. Зниження продукування NO в ендотелії

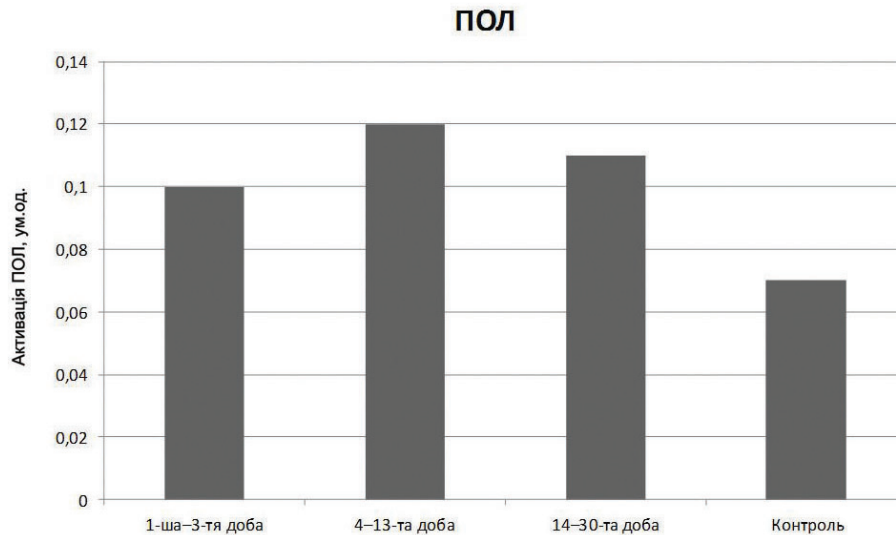


Рис. 1. Динаміка ПОЛ при САК

Екскреція метаболітів NO на 1-шу–3-тю добу була дещо зниженою ($(0,59 \pm 0,15)$ мкмоль/л, $p > 0,2$) порівняно з контролем ($(0,85 \pm 0,08)$ мкмоль/л). На 4–13-ту добу вміст метаболітів NO підвищувався до $(0,85 \pm 0,19)$ мкмоль/л і практично дорівнював контрольному показнику ($p > 0,5$). Підвищення рівня NO спостерігали і в пізніші терміни гострого періоду інсульту. Так, на 14–30-ту добу він становив $(0,92 \pm 0,29)$ мкмоль/л і незначно перевищував контрольний показник (рис. 2).

У загальній вибірці хворих після САК спо-

судин мозку спричиняє вазоконстрикцію, що посилює розвиток гіпоксії.

З метою полегшення візуального сприйняття динаміки співвідношень ПОЛ та NO, показники ПОЛ на рис. 3, 4, 5 подані в десятикратному збільшенні від реальних (тобто ум.од. $\times 10$).

При сприятливому перебігу захворювання вміст NO на 1-шу–3-тю добу становив $(0,60 \pm 0,20)$ мкмоль/л, суттєво не відрізняючись від показника при несприятливому перебігу ($(0,56 \pm 0,2)$ мкмоль/л). На 4–13-ту добу

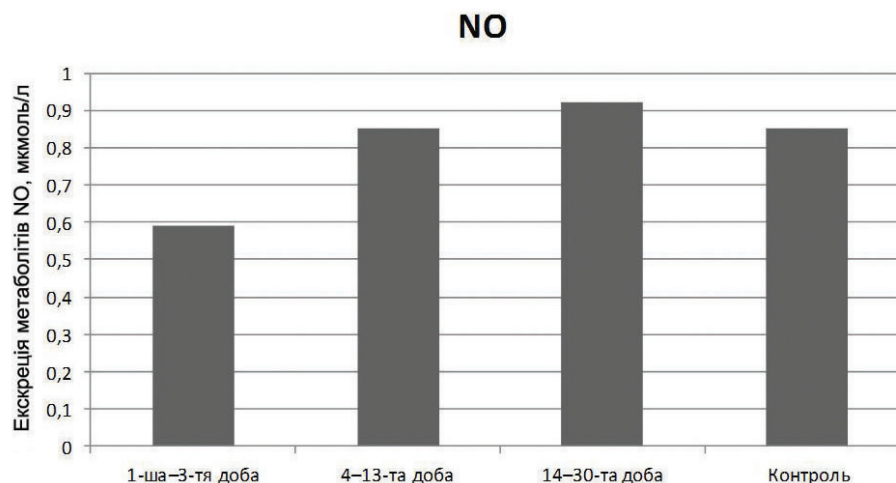


Рис. 2. Рівень екскреції метаболітів NO (мкмоль/л) в хворих у різні терміни після САК

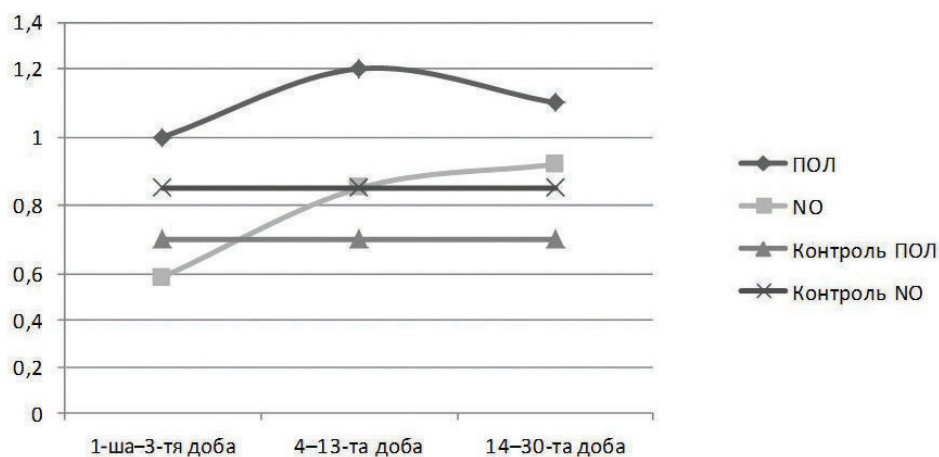


Рис. 3. Динаміка показників ПОЛ (ум.од. × 10) та рівня NO (мкмоль/л) у різні терміни після САК

при сприятливому перебігу рівень NO був близьким до контрольного і становив ($0,82 \pm 0,21$) мкмоль/л, а при несприятливому перебігу — підвищувався до ($1,12 \pm 0,12$) мкмоль/л і недостовірно перевищував контрольний показник. При аналізі активності ПОЛ при сприятливому і несприятливому перебігу (тяжка ішемія + смерть) захворювання відзначено такі закономірності (рис. 4, 5): на 1-шу–3-тю добу в першій групі активність ПОЛ становила ($0,09 \pm 0,04$) ум.од., у другій — ($0,11 \pm 0,003$) ум.од. ($p > 0,5$); на 4–13-ту добу — відповідно ($0,13 \pm 0,024$) та ($0,11 \pm 0,02$) ум.од. ($p > 0,5$); на 14–30-ту добу — ($0,11 \pm 0,017$) та ($0,12 \pm 0,017$) ум.од. ($p > 0,5$).

При САК спостерігається ендотеліальна дисфункція, яка є одним із чинників, що провокує та підтримує вазоспазм. Останній є важливим чинником несприятливого перебігу захворювання. Зниження екскреції метаболітів NO на 1-шу–3-тю добу після САК до

($0,59 \pm 0,15$) мкмоль/л свідчить про дефіцит вазорелаксуючого фактора в судинному руслі, що спричиняє розвиток вазоспазму. Пізніше в загальній вибірці зазначений показник підвищується до рівня контролю на 4–13-ту на 14–30-ту добу ($p > 0,5$) і становить ($0,85 \pm 0,19$) мкмоль/л, що свідчить про достатню компенсацію вазоспазму. Спостерігали незначне загальне підвищення рівня NO в пізні терміни гострого періоду інсульту ($0,92 \pm 0,29$) мкмоль/л, що може бути розцінене як компенсаторна реакція на вазоспазм. При аналізі екскреції метаболітів NO за різного перебігу захворювання (див. рис. 4, 5) виявлено певні відмінності: нормалізація показника на 4–13-ту добу при сприятливому перебігу захворювання і тенденція до підвищення в цей же період в 1,3 разу при розвитку тяжкої або фатальної ішемії головного мозку.

У хворих спостерігали значну активіза-

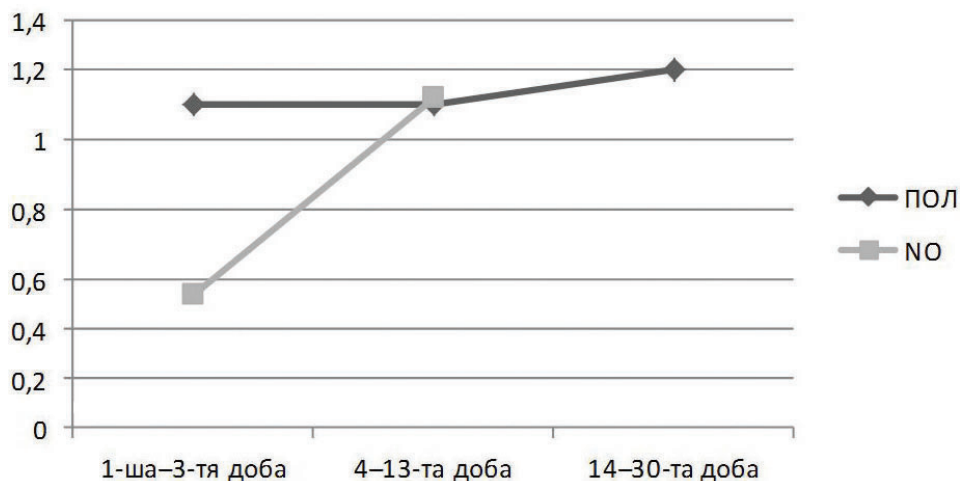


Рис. 4. Динаміка показників ПОЛ (ум.од. × 10) та рівня екскреції NO (мкмоль/л) при несприятливому перебігу САК

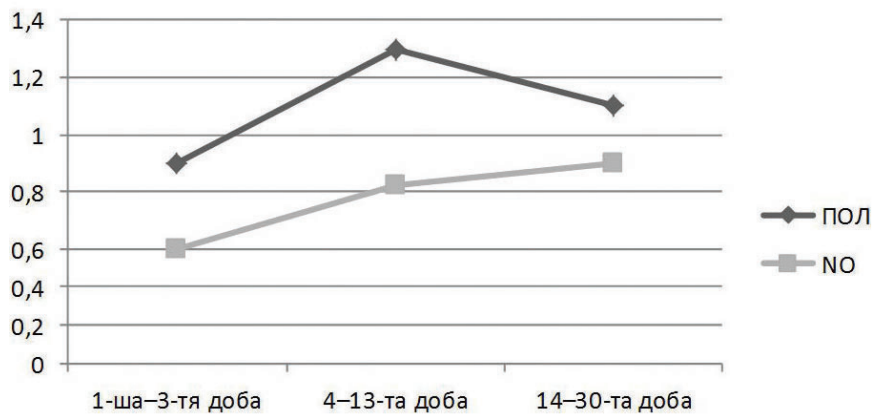


Рис. 5. Динаміка показників ПОЛ (ум.од. × 10) та рівня екскреції NO (мкмоль/л) при сприятливому перебігу САК

цію ПОЛ та підвищення екскреції метаболітів NO під час максимальної вираженості вазоспазму — на 4–13-ту добу з моменту розвитку САК. Ендотеліальна дисфункція — це складний процес, основними виявами якого є порушення біодоступності NO, пригнічення експресії, інактивація ендотеліальної NO-синтази, зниження синтезу NO, щільності на поверхні ендотеліальних клітин рецепторів (зокрема, мускаринових), подразнення яких у нормі спричиняє утворення NO, підвищення деградації NO [12]. У разі несприятливого перебігу захворювання руйнування NO відбувається раніше, ніж речовина досягне свого місця дії (так діє, наприклад, супероксидний аніон, один з продуктів окислювального стресу) [12]. В обстежених нами пацієнтів за несприятливого перебігу САК розвиток вторинної ішемії головного мозку на 4–13-ту добу супроводжувався значним підвищенням виведення продуктів метаболізму NO на тлі достовірно підвищеної порівняно з контролем активності ПОЛ, проте практично незмінної порівняно з 1–3-ю добою.

Порушення біодоступності NO і підвищення його деградації до здійснення ним біологічної дії можуть бути тими чинниками, які зумовлюють збільшення рівня екскреції метаболітів NO при зменшенні його ангіопротективного і протиспастичного ефектів [8], що спостерігається за несприятливого перебігу САК, та, очевидно, має місце в наших спостереженнях. Підвищення рівня NO спричиняє виникнення ускладнень, бо відомо, що він володіє також нейротоксичними властивостями [3].

У зв'язку з тим, що NO здатний до конкурентного зв'язування з NMDA-рецепторами нейронів кори, гіпоталамуса, стріатума і мозочка, його надлишок може інгібувати NMDA-рецептори сусідніх клітин, спричиняючи захисний протиішемичний ефект [9]. Вважають, що є дві фази генерації NO протягом ішемії і реперфузії. Посилене продукування NO в період ішемії розглядають як фізіологічну відповідь, вона може бути пов'язана зі збільшенням мозкового кровотоку шляхом прямої вазорелаксації мозкових судин і ретроградної блокади NMDA-рецепторів, яку спричиняє NO. З іншого боку, утворення NO в період реперфузії може супроводжуватися ушкодженням тканини головного мозку [7, 15].

На 14–30-ту добу (розрішення вазоспазму) несприятливий перебіг САК супроводжувався зростанням активності ПОЛ, імовірно, внаслідок потрапляння надлишку продуктів ПОЛ у кровитік при розвитку реперфузії ішемізованої тканини мозку. Максимальний рівень продуктів ПОЛ у крові ($(0,13 \pm 0,024)$ ум.од.) зафіксовано на 4–13-ту добу у пацієнтів із сприятливим перебігом, тоді як при несприятливому перебігу в цей період зазначений показник становив $(0,11 \pm 0,02)$ ум.од., маючи тенденцію до зростання в пізніші терміни. Тенденція до підвищення екскреції метаболітів NO на 14–30-ту добу при сприятливому перебігу спостерігалася на тлі зниження активності ПОЛ. На нашу думку, така динаміка показників свідчить про ранню нормалізацію перфузії тканини мозку при сприятливому перебігу захворювання, що спричиняє потрапляння в кров продуктів ПОЛ

на 4–13-ту добу та відповідно звільняє від продуктів окислювального стресу паренхіму мозку, починаючи з 14-ої доби.

Отримані нами дані в цілому збігаються з даними літератури. Відомо, що позитивні ефекти впливу NO спостерігаються на початкових стадіях ішемії, а також у пізні періоди ішемії-реперфузії [6]. Ішемічне ушкодження пов'язане з потужним окислювальним стресом. Відбувається пригнічення NO-синтазного шляху генерації NO. Гене-рований нітритредуктазним шляхом NO завдяки радикальній природі спричиняє додаткове ушкодження тканини головного мозку. Вказані процеси посилюються також в період реперфузії. Тільки тоді, коли зона пенумбри звільнена від продуктів ПОЛ унаслідок відновлення кровотока, можна прогнозувати позитивні ефекти NO [6].

Подальші дослідження показників нітрозуючого та окислювального стресу, аналіз їхніх взаємозв'язків необхідні для пошуку додаткових критеріїв оцінки тяжкості вторинного ішемічного ураження головного мозку і прогнозу перебігу захворювання в гострий період САК.

Висновки

1. При сприятливому перебігу САК спостерігається близька до контрольної екскреція метаболітів NO на тлі максимального рівня продуктів ПОЛ у сироватці крові на 4–12-ту добу захворювання, що свідчить про раннє очищення ішемізованої паренхіми мозку від переокиснених ліпідів та позитивний вплив NO на мозковий кровотік.

2. Значне підвищення рівня NO на 4–12-ту добу захворювання, як вияв посиленої його деградації та підвищення вмісту продуктів ПОЛ, у терміни після 14-ої доби асоціюються з тяжким ішемічним ураженням головного мозку та несприятливим перебігом захворювання.

3. Біохімічні показники нітрозуючого та окислювального стресу є критеріями для оцінки тяжкості вторинного ішемічного ураження головного мозку та прогнозу перебігу захворювання.

4. Розробка способів корекції вмісту NO та продуктів ПОЛ у крові хворих з САК може бути перспективним напрямком контролю вазоспазму в цій групі хворих.

Список літератури

1. Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 3–5.
2. Гетьман О.И., Гирин В.В. Динамика показателей содержания оксида азота и продуктов перекисного окисления липидов у больных с артериальной гипертензией // Укр. терапев. журн. – 2011. – № 3. – С. 89–92.
3. Гузева В.И., Чухловина М.Л., Мацукатова Е.М. Иммунологические аспекты патогенеза геморрагических инсультов // Материалы юбилейной X науч.-практ. конф. неврологов «Нейроиммунология» (г. Ст.-Петербург, 28–31 мая 2001 г.). – СПб, 2001. – Т. 2. – С. 223–297.
4. Зайниддинова Р., Степанов А. Роль нитроксидергической системы в патогенезе поражения головного мозга // Рос. педиатр. журн. – 2005. – № 5. – С. 21–25.
5. Зозуля Ю.П., Сенько Л.Н. Мультифункциональность и метаболизм оксида азота в центральной нервной системе // Журн. АМН України. – 2000. – № 1. – С. 3–26.
6. Куровська В.О., Пішак В.П., Ткачук С.С. Роль NO в ішемічних і ішемічно-реперфузійних ушкодженнях головного мозку // Буковин. мед. вісн. – 2008. – Т. 12, № 4. – С. 143–149.
7. Лапша В.И., Бочарова В.Н., Гурин В.Н. Изменение активности NO-синтазы, ферментов энергетического обмена и ультраструктуры в нейронах коры головного мозга при моделировании кратковременной ишемии // Морфология. – 2003. – № 3. – С. 32–36.
8. Насибуллин Б.А., Гоженко А.И. Цикл оксида азота и деятельность центральной нервной системы // Патология. – 2005. – Т. 2, № 3. – С. 15–19.
9. Нейко Є.М., Пітик М.І., Дельва Д.Ю. Ендотеліальна дисфункція та фактори нейроушкоджуючої дії в дітей та підлітків, хворих на епілепсію, у процесі лікування // Міжнар. неврол. журн. – 2009. – Т. 28, № 6. – С. 52–56.
10. Паршина С.С. Современные представления о биологических эффектах оксида азота и его роли в развитии кардиоваскулярной патологии // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2006. – № 1. – С. 88–94.
11. Федин А.И. Оксидантный стресс и применение антиоксидантов в неврологии // Нервные болезни. – 2002. – № 1. – С. 15–18.
12. Asano T., Matsui T. Antioxidant therapy against cerebral vasospasm following aneurysmal sub-

- arachnoid hemorrhage // *Cell Mol Neurobiol.* – 1999. – Vol. 1. – P. 31–44.
13. *Neurovascular surgery* / Ed. by L. Ph. Carter, R. Spetzler. – N.Y.: McCraw Hill, 1995. — 1446 p.
14. Sehba F.A., Bederson J.B. Mechanisms of acute brain injury after subarachnoid hemorrhage // *Neurol Res.* – 2006. – Vol. 28. – P. 381–398.
15. T. Kurt, A. Oguzhanoglu, R. Ortac et al. Effects of L-arginine on the brain ischaemia reperfusion damage in rats: An investigation by somatosensory evoked potentials and histopathology // *Neurosci. Res. Comm.* – 2002. – N 12. – P. 175–182.

BIOCHEMICAL DISPLAYS OF OXIDISING STRESS AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTIONS AT SPONTANEOUS SUBARACHNOID HEMORRHAGE, THEIR ROLE IN PATHOGENESIS OF SECONDARY ISCHEMIC DAMAGE OF A BRAIN

V.M. SHEVAGA, A.M. NETLYUKH, O.I. GRYSCHUK, V.M. SALO, O.JA. KOBYLETSKIY, M.R. BUBNYAK, O.JA. MYCHALISHYN

28 patients after subarachnoid hemorrhage (SAH) caused by ruptures of arterial aneurysms are surveyed. Nitrogen oxide (NO) metabolites' excretion into urine and products of lipid peroxidizations (LPO) in blood serum were studied. At favorable outcome of SAH it was observed close to control NO metabolites' excretion against a maximum level of products of the LPO in blood serum on 4–13 days of disease. At unfavourable outcome caused by severe ischemic damage of brain tissue, substantial increase of NO level on 4–13 days of disease as display of its extensive degradation, and increase of the content of products of the LPO in terms after 14 days from the disease onset is established. Thus, investigated biochemical indicators and the analysis of their mutual relations can serve in dynamics as criteria for precised assesment of severity of secondary ischemic brain damage and construction of the prognosis of course during acute period of SAH.

Key words: subarachnoid hemorrhage, ischemic damage of a brain, endothelial dysfunction, nitrogen oxyde, lipid peroxidization.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ СПОНТАННОМ СУБАРАХНОИДАЛЬНОМ КРОВОИЗЛИЯНИИ И ИХ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ВТОРИЧНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

В.Н. ШЕВАГА, А.М. НЕТЛЮХ, О.И. ГРИЩУК, В.М. САЛО, О.Я. КОБЫЛЕЦКИЙ, М.Р. БУБНЯК, О.Я. МИХАЙЛИШИН

Обследованы 28 больных после субарахноидального кровоизлияния (САК), обусловленного разрывами артериальных аневризм. Изучали экскрецию метаболитов окиси азота (NO) в моче и продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сыворотке крови. При благоприятном течении САК наблюдали приближенную к контрольной экскрецию метаболитов NO на фоне максимально-го уровня продуктов ПОЛ в сыворотке крови на 4–13-е сутки заболевания. При неблагоприятном течении, обусловленном тяжелым ишемическим поражением головного мозга, в этот же период установлено значительное повышение уровня NO как проявление усиленной его деградации, а также повышение содержания продуктов ПОЛ, начиная с 14-х суток от начала заболевания. Исследуемые биохимические показатели могут служить критериями для оценки тяжести вторичного ишемического поражения головного мозга и прогноза течения острого периода САК.

Ключевые слова: субарахноидальное кровоизлияние, ишемия головного мозга, эндотелиальная дисфункция, оксид азота, перекисное окисление липидов.