

УДК 612.015:348.616.831-005.1/4

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ КАК БИОХИМИЧЕСКИЙ МАРКЕР ПРОГНОЗА ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Е.Ю. Кравцова, Д.Ю. Соснин, Г.А. Мартынова,
ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия»

Кравцова Елена Юрьевна – e-mail: kravtsovaeu@mail.ru

Обследовано 80 пациентов трудоспособного возраста в остром периоде инсульта. Изучена динамика восстановления неврологического дефицита, тревожно-депрессивных расстройств, окислительной модификации белков. Показано, что динамическое исследование окислительной модификации белков может быть использовано в качестве маркера прогноза течения заболевания.

Ключевые слова: ишемический инсульт, тревожность, депрессия, восстановление неврологического дефицита, окислительная модификация белков.

80 patients of able-bodied age in the sharp period of a stroke are surveyed. Dynamics of restoration of neurologic deficiency, disturbing-depressive frustration, oxidizing updating of proteins are studied. It is shown that dynamic research of oxidizing updating of proteins can be used as a marker of the forecast of a current of disease.

Key words: an ischemic stroke, uneasiness, depression, restoration of neurologic deficiency, oxidizing updating of proteins.

Введение

Несмотря на широкое изучение перекисного окисления липидов в процессе окислительного стресса в патогенезе ишемического каскада [1, 2, 3], практически не изучена динамика окислительной модификации белков в остром периоде у пациентов трудоспособного возраста с разными патогенетическими подтипами ишемического инсульта (ИИ) в процессе комплексного лечения с включением официальных препаратов-антиоксидантов. Не изучено также влияние окислительного стресса на динамику неврологического дефицита и тревожно-депрессивных расстройств у этой группы больных.

Цель исследования: изучить динамику неврологических, нейропсихологических нарушений и окислительной модификации белков для оптимизации лечения острого периода разных подтипов ишемического инсульта у лиц трудоспособного возраста.

Материал и методы

Обследовано 80 больных трудоспособного возраста с разными подтипами ишемического инсульта (31 – с атеротромботическим инсультом (АТИ), 21 – с кардиоэмболическим инсультом (КЭИ), 14 – с гемодинамическим инсультом (ГДИ) и 14 – с лакунарным инсультом (ЛКИ) в динамике (на первые, третьи и пятнадцатые сутки острого периода заболевания). Выделено 2 группы пациентов, получавших в составе комплексной терапии ИИ антиоксидант этилметилгидроксипиридина сукцинат в дозе 4 мл 5% раствора (200 мг) внутривенно капельно один раз в сутки со 2-го по 14-й день (I группа – 39 наблюдений) и не получавших препарат (II группа – 41 наблюдение). Контрольную группу составили 20 здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту.

С помощью шкалы NIH–NINDS проводился анализ 14 признаков заболевания от степени расстройства сознания и интеллектуальной деятельности до очаговой симптоматики при максимальной оценке 33 балла. С помощью шкалы Бартела (ШБ) оценивались 10 функций с учетом степени их выполняемости больным от полностью независимо выполняемых до выполняемых с посторонней помощью. Максимальная оценка – 105 баллов.

Реактивная (РТ) и личностная (ЛТ) тревожность изучались с помощью теста Ч.Д. Спилберга, адаптированного Ю.Л. Ханиным (до 30 баллов расценивается как низкая; 31–45 баллов – умеренная; 46 и более баллов – высокая тревожность).

Для анализа депрессии использовался опросник самооценки уровня депрессии Бека (ДОБ) (11±8 баллов – отсутствие депрессии, 19±10 баллов – умеренная депрессия, 30±10 баллов – тяжелая депрессия).

Оценка качества жизни проводилась с помощью опросника качества жизни больного (КЖБ) [4] (нормальное качество жизни от –2 баллов и менее; низкое качество жизни от –3 до –7 баллов; очень низкое качество жизни –7 баллов).

Исследование окислительной модификации белков (ОМБ) в сыворотке крови проводилось по методу Е.Е. Дубининой (1995) [5]. Метод основан на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДФГ) с образованием производных 2,4-динитрофенилгидразонов. Определение карбонильных производных белков с помощью 2,4-ДФГ позволяет оценить интенсивность этого процесса в норме и при состояниях окислительного стресса. Для анализа степени окисления белков использовали 0,1 мл сыворотки крови.

Осаждение белков сыворотки крови осуществляли 20% раствором трихлоруксусной кислоты. Оптическую плотность образовавшихся комплексов динитрофенилгидразонов (ДФГ) регистрировали на спектрофотометре (СФ-46). При окислении белков могут образовываться альдегидные и кетонные группировки аминокислотных остатков, которые взаимодействуют с 2,4-ДФГ. Образовавшиеся комплексы с 2,4-ДФГ регистрировали при следующих длинах волн: 356, 370, 430 и 530 нм. Разница в показателях между группами зависела от степени окислительного состояния. Основное количество образовавшихся динитрофенилгидразонов относится к альдегидам и кетонпроизводным нейтрально-го характера (356, 370 нм – I и II длины волн). Уровень алифатических альдегидо- и кетонпроизводных динитрофенилгидразонов основного характера был значительно ниже (430, 530 нм – III и IV длины волн).

Статистическая обработка материала осуществлялась с помощью программ Microsoft Excel 2000, «Биостат». Изучаемые количественные признаки, имеющие нормальное распределение, представлены в виде $M \pm \delta$, где M – среднее, δ – стандартное отклонение. При сравнении параметров двух различных групп применялся критерий Стьюдента (t). Различие считалось достоверным при коэффициенте 5% ($p < 0,05$). Проводился корреляционный анализ с вычислением коэффициента парной корреляции, корреляция считалась положительной при коэффициенте корреляции $r > 0,7$.

Результаты и их обсуждение

Отмечено сходство в динамике нейропсихологических показателей острого периода у больных с КЭИ, АТИ, ГДИ. У больных обеих групп при всех вариантах ИИ в остром периоде (первые-третьи сутки заболевания) на фоне объективного неврологического дефицита и отклонения по шкале Бартела зарегистрированы высокая степень реактивной и личностной тревожности, умеренная депрессия и низкое качество жизни ($p < 0,01$) (таблица 1). Выраженность депрессии была выше ($p < 0,05$) при локализации ишемического инсульта в бассейне левой внутренней сонной артерии (ЛВСА) и в вертебробазилярном бассейне (ВББ), достоверно отличаясь от соответствующего показателя у пациентов с правополушарной локализацией инсульта, для которой возможным является игнорирование дефекта. У пациентов с ЛКИ сохранялась эта закономерность, но выраженность неврологического дефицита по шкале NIH-NINDS ($p < 0,05$) была меньше, чем у больных с КЭИ, АТИ, ГДИ (таблица 1).

У всех пациентов в первые сутки ишемического инсульта наблюдалась тенденция к доминированию ситуационной тревожности над личностной при легкой депрессии. Низкий показатель качества жизни больного в остром периоде ишемического инсульта при всех типах ИИ коррелировал с депрессией и высокой ситуационной тревожностью (таблица 1).

После двухнедельного комплексного лечения при всех подтипах ИИ у больных первой группы появился регресс ($p < 0,05$) (с высокой до низкой) реактивной и личностной тревожности и отсутствовала депрессия при уменьшении неврологического дефицита по шкале NIH-NINDS ($p < 0,05$). У больных второй группы с КЭИ, АТИ, ГДИ неврологический дефицит по шкале NIH-NINDS восстанавливался хуже ($p < 0,05$), отсутствовало улучшение по шкалам РТ, ЛТ и уровню депрессии (таблица 2).

ТАБЛИЦА 1.

Динамика клинко-нейропсихологических показателей и показателей ОМБ при различных патогенетических подтипах инсульта на третьи сутки ($M \pm \delta$)

Длина волны	КЭИ (n=21) Группы		АТИ (n=31) Группы		ГДИ (n=14) Группы		ЛКИ (n=14) Группы		Контр. группа n=20
	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±5,4 ♦	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
РТ	54,5±9,3 ♦♦	52,5±9,3 ♦♦	55,5±9,3 ♦♦	53,5±9,3 ♦♦	53,6±5,3 ♦♦	52,9±6,3 ♦♦	54,5±9,3 ♦♦	54,5±9,3 ♦♦	16,3±3,4
ЛТ	44,6±4,5 ♦♦	45,5±4,5 ♦♦	45,5±1,5 ♦♦	47,8±4,5 ♦♦	45,5±2,5 ♦♦	45,8±3,5 ♦♦	45,3±4,5 ♦♦	44,6±5,5 ♦♦	12,6±1,7
ДОБ	17,5±4,0 ♦	17,9±3,0 ♦	18,5±4,0 ♦	17,6±3,0 ♦	17,5±3,5 ♦	18,1±3,0 ♦	17,5±4,0 ♦	17,5±4,0 ♦	6,7±4,2
КЖБ	-4,9±1,9 ♦♦	-4,7±1,3 ♦♦	-4,7±1,7 ♦♦	-4,8±1,2 ♦♦	-3,9±0,7 ♦♦	-4,0±0,8 ♦♦	-3,0±1,9 ♦	-3,9±1,9 ♦	-1,2±0,1
ШБ	64,5±3,7 ♦	63,5±3,7 ♦	62,5±3,8 ♦	62,7±3,8 ♦	61,5±2,8 ♦	62,8±3,7 ♦	74,5±3,7 ♦	74,5±3,7 ♦	105
NIH-NINDS	8,9±0,7 ♦♦	9,0±0,3 ♦♦	8,9±0,7 ♦♦	9,0±0,2 ♦♦	8,9±0,5 ♦♦	9,0±0,3 ♦♦	4,9±0,9 ♦♦♦	5,9±0,3 ♦♦♦	0,7±0,1

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

ТАБЛИЦА 2.

Динамика клинко-нейропсихологических показателей и показателей ОМБ при различных патогенетических подтипах инсульта на пятнадцатые сутки ($M \pm \delta$)

Длина волны	КЭИ (n=21) Группы		АТИ (n=31) Группы		ГДИ (n=14) Группы		ЛКИ (n=14) Группы		Контр. группа n=20
	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
РТ	26,5±4,6 ♦♦	46,7±6,6 ♦	26,7±4,7 ♦♦♦	42,8±5,6 ♦	26,7±4,7 ♦♦♦	42,8±5,6 ♦♦♦	26,5±4,6 ♦♦♦	36,7±6,6 ♦♦	16,3±3,4
ЛТ	30,1±2,1 ♦♦	35,2±4,4 ♦	31,1±2,1 ♦♦	36,2±4,4 ♦	30,1±2,1 ♦♦	36,2±4,4 ♦	29,2±4,4 ♦♦	29,4±2,1 ♦♦	12,6±1,7
ДОБ	11,8±4,5 ♦♦	16,2±4,2 ♦	11,0±5,5 ♦♦	15,9±3,2 ♦	11,0±5,5 ♦♦	15,9±3,2 ♦	11,2±4,2 ♦♦	11,8±4,4 ♦♦	6,7±4,2
КЖБ	-1,9±0,7 ♦♦	-2,3±0,1 ♦♦	-1,8±0,7 ♦♦	-2,1±0,3 ♦♦	-1,8±0,9 ♦♦	-2,0±0,9 ♦♦	-1,8±0,1 ♦♦	-1,9±0,7 ♦♦	-1,2±0,1
ШБ	92,7±2,7 ♦	87,2±6,6 ♦	91,7±1,7 ♦	88,2±5,6 ♦	91,7±1,9 ♦	85,2±6,6 ♦	89,2±6,6 ♦	93,7±2,7 ♦	105
NIH-NINDS	3,5±0,4 ♦♦♦	5,7±0,6 ♦♦	3,1±0,3 ♦♦♦	5,7±0,8 ♦♦	3,1±0,9 ♦♦♦	5,1±1,1 ♦♦	2,7±0,6 ♦♦♦	2,5±0,4 ♦♦♦	0,7±0,1

Примечания: ♦ – $p < 0,05$; ♦♦ – достоверность различия показателей по сравнению с контрольной группой; ○ – $p < 0,05$ – достоверность различия показателей по отношению к аналогичным показателям при ЛКИ; ○ – $p < 0,05$ – достоверность различия показателей по отношению к аналогичным показателям АТИ; ◀ – $p < 0,05$; ◀♦ – $p < 0,01$ – достоверность различия показателей в динамике по сравнению с показателями таблицы 1.

Проведенное в динамике исследование ОМБ установило достоверное повышение ($p < 0,05$) показателей ОМБ сыворотки крови у больных обеих групп в диапазоне I, III, IV волн в острейший период (1–4-е сутки) КЭИ, АТИ, ГДИ с достоверным преобладанием показателей при АТИ ($p < 0,05$) и регистрацией их отклонения в режиме всех волн (таблица 1). У пациентов с ЛКИ сдвиг показателей отмечен только в режиме III, IV волн. Учитывая достаточно длительный период циркуляции белков в плазме крови можно предположить, что развитие ишемического инсульта не только сопровождается интенсификацией свободно-радикального окисления, а происходит на фоне уже существующего дисбаланса антиоксидантной и прооксидантной систем организма, что наиболее отчетливо проявляется при АТИ.

В I группе наблюдений к 15-му дню произошла нормализация содержания альдо- и кетонпроизводных динитрофенилгидрозонов белков плазмы крови нейтрального характера (диапазон I и II волн) при всех подтипах ИИ с полной нормализацией показателей в режиме всех волн у пациентов с ЛКИ (таблица 2). В этой же группе установлено отсутствие полной нормализации показателей к 15-му дню заболевания в диапазоне III и IV волн при КЭИ и АТИ ($p < 0,05$), в диапазоне IV волны при ГДИ ($p < 0,05$) с преобладанием изменений и замедленностью регресса при АТИ ($p < 0,05$), что подтверждает стойкое нарушение про- и антиоксидантных систем при АТИ, сформировавшееся в прединсультный период. 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, что подтверждает антиоксидантный эффект препарата. Нормализация показателей ОМБ у больных II группы с КЭИ, АТИ, ГДИ в диапазонах всех волн, а при ЛКИ – III, IV волн не выявлена. Отмеченный факт, по-видимому, объясняется значительным нарушением оксидантной системы при КЭИ, АТИ, ГДИ в диапазоне альдегидо- и кетонпроизводных динитрофенилгидрозонов основного характера и обосновывает продолжение и интенсификацию антиоксидантной терапии целенаправленного действия. Большая вариабельность и сохранение изменений в диапазоне III и IV волн при всех подтипах ИИ свидетельствует о высокой ценности данных показателей.

Установлена четкая корреляционная зависимость ($p < 0,05$) между степенью нарушения ОМБ и выраженностью клинических проявлений. Положительная корреляционная зависимость между показателями ОМБ и неврологическим дефицитом (шкалам NIH-NINDS и Бартела) свидетельствует об уменьшении неврологического дефицита на фоне уменьшения окислительного стресса у пациентов I группы с разными подтипами ИИ. Выявленная взаимосвязь восстановления неврологического дефицита с регрессом степени выраженности оксидантного стресса позволяет использовать динамические показатели ОМБ в качестве маркера прогноза забо-

левания и эффективности лечения. Это актуально, поскольку окислительная модификация белков при окислительном стрессе, приводящая к изменению их физико-химических свойств (конформации, фрагментации, агрегации, образованию межмолекулярных сшивок), патогенетически тесно сопряжена с процессами перекисного окисления липидов и эндотелиальной дисфункцией. Кроме того, в состоянии окислительного стресса атаке за счет активных кислородных метаболитов подвергаются в первую очередь не липиды, а белки плазматических мембран, что приводит к их деполимеризации и лизису клетки [6]. Патологические механизмы окисления фибриногена при окислительном стрессе приводят к нарушению агрегации тромбоцитов и эритроцитов, к повышенной секреции цитокинов и, в целом, к еще более выраженным потенциально атерогенным протромботическим нарушениям гемостаза [7].

Достоверной корреляции между степенью нарушения ОМБ и тревожно-депрессивными расстройствами не выявлено.

Выводы

1. Установленная взаимосвязь восстановления неврологического дефицита с регрессом степени выраженности оксидантного стресса при разных подтипах ИИ позволяет использовать динамические показатели ОМБ, отмечая наибольшую их чувствительность в диапазоне альдегидо- и кетонпроизводных динитрофенилгидрозонов основного характера (III и IV волны) в качестве маркера прогноза течения заболевания.

2. Отсутствие полной нормализации показателей ОМБ к 15-му дню заболевания на фоне приема этилметилгидроксипиридина сукцината, обусловленное значительным нарушением оксидантной системы при инсульте, обосновывает необходимость длительной антиоксидантной терапии и разработки лекарственных средств с целенаправленным устранением процессов окислительной модификации белков в диапазоне альдегидо- и кетонпроизводных динитрофенилгидрозонов основного характера.



ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М. 2001. 280 с.
2. Скворцова В.И., Евзельман М.А. Ишемический инсульт. Орел. 2006. С. 401.
3. Домингес К., Делгадо П., Вилчес А. и др. Оксидантный стресс после тромболизис-индуцированной реперфузии при инсульте у людей. Журнал «Stroke (Инсульт)». 2010. № 5-6.
4. Белова А.Н., Щепетова О.Н. Руководство по реабилитации больных с двигательными нарушениями. М. 1999. 872 с.
5. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов Г.Е. Вопр. мед. химии. 1995. Т. 41. № 1. С. 24–26.
6. Садовский Е.В., Рагино Ю.И., Полонская Я.В. Способ определения окислительной модификации апопротеинов в липопротеинах низкой плотности. Клини. лаб. диагн. 2007. № 6. С. 14–16.