

УДК: 616.831:577.1.25:616-001.28

Л. М. Овсяннікова¹, А. В. Кубашко^{1*}, С. М. Альохіна¹,
О. В. Носач¹, О. О. Колосинська¹, С. А. Чумак¹, К. М. Логановський¹,
А. А. Чумак¹, Л. М. Озеракіна²

¹Державна установа “Національний науковий центр радіаційної медицини
Національної академії медичних наук України”,
53, вул. Мельникова, м. Київ, 04050, Україна

²Київський міський психоневрологічний диспансер № 4, м. Київ

БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ В ПАТОГЕНЕЗІ ДЕМІЄЛІНІЗУЮЧИХ ТА СУДИННИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ЦНС У ПОСТТРАЖДАЛИХ ВНАСЛІДОК ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ КАТАСТРОФИ

Представлені дані активності антиоксидантних ферментів і стану енергетичного обміну у опромінених внаслідок Чорнобильської катастрофи осіб з демієлінізуючою і судинною патологією ЦНС. Виявлені метаболічні порушення в залежності від нозологічної форми у опромінених пацієнтів були більш виражені за рахунок посилення ознак запальної реакції, енергодефіциту, а у хворих з судинною патологією — зниження активності каталази крові, що, ймовірно, є фактором віддалених метаболічних ефектів, які можуть сприяти обтяженню перебігу захворювання.

Ключові слова: окисний стрес, судинна та демієлінізуюча патологія ЦНС, Чорнобильська катастрофа.

Тривалий моніторинг стану здоров'я постраждалих внаслідок Чорнобильської катастрофи свідчить про зростання рівня захворюваності за рахунок збільшення числа непухлинних захворювань, зокрема центральної нервової системи (ЦНС) [1]. Причому в останні роки фахівці пов'язують погіршення їх перебігу з радіаційним впливом [2].

Численними дослідженнями показано, що окисний стрес (ОС) відіграє певну роль у патогенезі цереброваскулярних, нейродегенеративних і демієлінізуючих захворювань ЦНС, що обумовлено її морфофункціональними особливостями. Так, захворювання ЦНС, що пов'язані

* Кубашко Алла Володимирівна, e-mail: skygull11@yahoo.com

© Овсяннікова Л. М., Кубашко А. В., Альохіна С. М., Носач О. В., Колосинська О. О., Чумак С. А., Логановський К. М., Чумак А. А., Озеракіна Л. М., 2012

з гіпоксією, характеризуються накопиченням коферментів у відновленому стані та недоокислених продуктів метаболізму. В результаті відбувається посилення генерації реактивних форм кисню (РФК), розбалансування окисного фосфорилування, порушення іонного транспорту, зокрема кальцію, та ацидозу, що свідчить про внесок ОС в розвиток симптоматики при ішемічному пошкодженні тканин мозку [3]. В патогенезі аутоімунних захворювань ЦНС, таких як хвороба Альцгеймера, Паркінсона, розсіяний склероз (РС), а також пов'язаних з процесами вікової інволюції та демієлінізації ОС на сьогодні приділяється також значна увага завдяки активації проапоптотичних, некротичних та прозапальних механізмів внаслідок окисної деструкції білкових сайтів клітин та пригнічення ферментативної роботи [4].

При дії іонізуючого випромінювання (ІВ) пошкодження ЦНС має багатофакторний патогенез на ґрунті тривалих радіогенних гомеостатичних змін. В цьому сенсі зміни окисного гомеостазу у бік напруження та поступового вичерпання антиоксидантних (АО)-резервів є одним з провідних факторів погіршення перебігу хвороб, зокрема ЦНС у опромінених осіб [5].

Мета дослідження — оцінити активність антиоксидантних ферментів та виявити зміни в енергетичному обміні в опромінених внаслідок Чорнобильської катастрофи осіб з судинною та демієлінізуючою патологією ЦНС у віддалений період.

Матеріали та методи. В ході дослідження було проаналізовано активність антиоксидантних ферментів та рівні показників енергетичного обміну у 112 хворих з демієлінізуючою та судинною патологією, які лікувалися у відділі радіаційної психоневрології (завідувач — проф. К. М. Логановський) Інституту клінічної радіології ДУ “ННЦРМ НАМН України”. Всі обстежені були розподілені на чотири групи в залежності від типу захворювань ЦНС та наявності в анамнезі впливу радіаційного випромінювання. В I групі 28 пацієнтів (8 чоловіків та 20 жінок), середній вік — $(40,25 \pm 2,12)$ року, були хворі на РС, II групу склали 28 хворих з судинними захворюваннями (22 чоловіки та 6 жінок), віком $(52,89 \pm 2,15)$ року. Пацієнти обох груп не мали в анамнезі контакту з ІВ. Хворі на РС, що мешкали на контамінованих територіях, склали III групу: 7 пацієнтів (2 чоловіки та 5 жінок), віком $(43,43 \pm 5,53)$ року. Мала кількість опромінених пацієнтів з цією нозологією обумовлена високим рівнем інвалідизації, що стає на заваді госпіталізації та суттєво знижує тривалість життя у цієї категорії постраждалих. IV групу склали 49 пацієнтів — (36 чоловіків та 13 жінок), віком $(56,65 \pm 1,03)$ року, опромінених у дозах $(0,53 \pm 0,10)$ Гр.

В контрольну групу увійшли 26 практично здорових осіб — 18 чоловіків та 8 жінок, віком ($30,12 \pm 1,74$) року, які не були в контакті з ІВ. Вікові розбіжності між контрольною та дослідною групами не враховувались, оскільки показники окисного гомеостазу (ОГ) в цьому віковому діапазоні відповідають середньостатистичним серед здорових осіб до 60 років [6].

Для оцінки стану ферментної ланки АОС в еритроцитах крові визначали активність супероксиддисмутази (Zn/CuСОД) (КФ 1.15.1.1) за методом Н. Р. Misra [7] та каталази (КАТ-Е) (КФ 1.11.1.6) — за методом М. А. Королюк і співавт. [8]. Фактор антиоксидантного стану (ФАОС) розраховувався за С. Чевари і співавт. [9] Вміст церулоплазміну (ЦП) у сироватці крові визначали за методом Т. J. Zimmerman у модифікації С. В. Бестужевої [10].

Інтенсивність енергетичного обміну оцінювали за рівнем лактату методом J. Strom, у модифікації І. С. Балаховського, пірувату — за методом Умбрайт [11].

Статистичну обробку даних проводили за допомогою статистичного пакету Statistica 7.0. Для порівняльного аналізу двох незалежних виборок використовували U-тест Манна – Уїтні (U-test Mann–Whitney) [12].

Результати та їх обговорення.

Ефективність ферментів системи антиоксидантного захисту

Ферменти АОС є одними з найважливіших у здійсненні антиоксидантного контролю в клітині. В тканинах ЦНС активність АО-ферментів — КАТ-Е, СОД і глутатіонпероксидази відносно низька, за рахунок чого рівень вільних радикалів (ВР) балансує на межі допустимого. Порушення ж про-/антиоксидантного балансу сприяє накопиченню ВР та окислених форм, які в подальшому ініціюють запальні, нейродегенеративні та інші зміни. В результаті відбувається викид плеiotропних цитокинів (IL-1 β , TNF- α , HIF-1), факторів транскрипції (NF- κ B, JNK, AP-1) та білків гострої фази, зокрема ЦП [13].

Згідно з даними, наведеними у табл. 1, у всіх групах обстежених спостерігалися ті чи інші зміни в роботі АО-ферментів. Так, у І групі відзначено підвищення активності Zn/CuСОД у 1,20 раза ($p=0,015$) відносно контролю. В цій групі також спостерігалась тенденція до незначного підвищення рівня ФАОС, що є ознакою напруження АО-системи, оскільки в ній було виявлено підвищений рівень ЦП у 1,29 раза ($p=0,001$). У групі неопромінених з судинною патологією вміст цього білка був також збільшений у 1,57 раза ($p=0,000$).

Таблиця 1. Стан антиоксидантної системи в крові хворих з демієлінізуючою та судинною патологією ЦНС без та з впливом ІВ в анамнезі

Групи обстежених	Zn/CuСОД, ум. од./мг Нб		КАТ-Е, мкмоль/хв·мг Нб		ФАОС, ум. од.		ЦП, мг/л	
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m
Контрольна	26	4,47±0,27	26	1718,39±65,71	26	2779,87±442,79	26	235,01±23,08
<i>Без опромінення</i>								
I (з демієлінізуючою патологією)	26	5,35±0,23*	26	1613,92±81,99	26	2970,78±359,86	28	302,59±16,19**
II (з судинною патологією)	28	5,07±0,32	28	1870,36±87,40 ³	28	2341,83±240,67	28	370,78±22,42***,3
<i>Опромінені</i>								
III (з демієлінізуючою патологією)	7	5,57±0,32*	7	1556,86±168,72	7	2635,93±741,06	7	358,00±15,81**,1
IV (з судинною патологією)	49	4,50±0,24 ⁴	49	1452,41±64,71**,222	49	2364,16±297,06	49	281,39±10,94**,2,4

Примітки: 1. *, **, *** — достовірні відмінності від контрольної групи (p<0,05; p<0,01; p<0,001 відповідно) за U-test Mann-Whitney; 2. ¹ — різниця між групами неопромінених та опромінених хворих з демієлінізуючою патологією достовірна (p<0,05) за U-test Mann-Whitney; 3. ^{2, 222} — різниця між групами неопромінених та опромінених хворих з судинною патологією достовірна (p<0,05; p<0,001 відповідно) за U-test Mann-Whitney; 4. ^{3, 4} — різниця між групами неопромінених хворих з демієлінізуючою та судинною патологією достовірна (p<0,05) за U-test Mann-Whitney; 5. ⁴ — різниця між групами опромінених хворих з демієлінізуючою та судинною патологією достовірна (p<0,05) за U-test Mann-Whitney.

При порівняльному аналізі активності АО-ферментів у неопромінених хворих з різними нозологічними формами між собою виявлено підвищення активності Е-КАТ у 1,16 раза ($p=0,029$) у II групі, але це не є показовою ознакою, оскільки в обох групах її активність не виходила за межі контролю. Проте рівень ЦП у хворих з судинною патологією був вищим у 1,23 раза ($p=0,026$), ніж у хворих з демієлінізуючою патологією. Це можна пояснити тим, що гіпооксигенація ішемізованих тканин зазнає деструктивних перетворень, за яких активація процесів вільнорадикального окислення (ВРО) є невід'ємною ланкою, на що імунна система реагує викидом білків гострої фази, зокрема ЦП, який може стимулювати і прооксидантні механізми. При цьому відбувається вивільнення NO за рахунок збільшення рівня індукцйбельної NO-синтази та підвищення рівня мРНК, що кодує фактор некрозу пухлин ФНП- α , інтерлейкін-1 β , циклооксигеназу-2 та НАДФН-оксидазу. Окрім того, ЦП ініціює фосфорилування p38 і MAP кінази, активує ядерний фактор- κ B та сприяє гіперекспресії ФНП- α та простагландину E2 [14].

Рівень ЦП був збільшений і в опромінених пацієнтів обох нозологічних форм. Проте виявлено, що у опромінених на РС (III група) підвищення рівня ЦП у 1,25 раза ($p=0,044$) супроводжувалось значно вищою активністю СОД — у 1,52 раза ($p=0,004$) у крові відносно контролю. А у групі хворих з судинною патологією (IV група) рівень ЦП був збільшений щодо контролю лише у 1,20 раза ($p=0,003$). Проте відносно групи неопромінених з такою ж патологією та групи опромінених з демієлінізацією, його рівень був меншим у 1,32 раза ($p=0,046$) та у 1,27 раза ($p=0,021$), відповідно. В цій групі також було виявлено пригнічення активності Е-КАТ у 1,18 раза ($p=0,005$) як відносно контролю, так і у 1,30 раза ($p=0,000$) відносно рівня у групі неопромінених з такою ж патологією. Відносна недостатність ЦП і Е-КАТ може пов'язуватись з порушеннями у структурній організації цих білків внаслідок тривалого функціонування нерепарованої компоненти в результаті значного радіоіндукованого ОС. Це підтверджується експериментальними дослідженнями, в результаті яких показано, що при тривалому перебуванні тварин у зоні з підвищеним радіаційним фоном (понад 24 місяці) активність цього ферменту суттєво знижується, ймовірно, за рахунок накопичення ендогенного H_2O_2 , який має виражені мутагенні властивості [15].

Стан енергетичного обміну

За нормальних умов енергетичні потреби мозку забезпечуються переважно за рахунок утилізації глюкози (більш як 90%) за гліколітич-

ним шляхом та в циклі трикарбонових кислот. Патогенетичні процеси при демієлінізуючих та судинних захворюваннях ЦНС асоціюються з порушенням клітинного дихання у супроводі електрохімічних та осмотичних змін градієнтів одновалентних іонів, гліколітичного обміну з переважним накопиченням лактату. Всі ці події супроводжують процеси ВРО, одним з вагомим наслідків яких є пошкодження ДНК та активація апоптотичних білків, зокрема PARP та Ku80 [16].

Як показано в табл. 2, показники енергетичного обміну були на рівні контрольних значень лише у I групі. У II групі хворих відбувалось підвищення рівня лактату в 2,14 раза ($p=0,004$) на тлі зниження рівня пірувату у 1,24 раза ($p=0,027$) відносно контролю. Такі ж зміни спостерігались у рівнях лактату й пірувату та у групі опромінених хворих з демієлінізуючою патологією з тією різницею, що рівень лактату у цій групі був більшим у 2,52 раза ($p=0,0001$) відносно контрольних значень.

Зміни рівноваги між рівнями лактату й пірувату в цій групі обстежених можна пояснити тим, що при порушенні оксигенації, що має місце в ішемізованих клітинах, в результаті пригнічення активності піруватдегідрогеназного мультиферментного комплексу з пірувату

Таблиця 2. Показники енергетичного обміну в крові хворих з демієлінізуючою та судинною патологією ЦНС без та з впливом ІВ в анамнезі

Групи обстежених	Лактат, ммоль/л		Піруват, ммоль/л	
	n	M±m	n	M±m
Контрольна	18	1,26±0,11	20	50,82±2,86
<i>Без опромінення</i>				
I (з демієлінізуючою патологією)	11	2,14±0,47	11	48,72±4,14
II (з судинною патологією)	18	2,82±0,30**	18	41,75±3,59*
<i>Опромінені</i>				
III (з демієлінізуючою патологією)	7	3,18±0,51***	7	41,56±2,15*
IV (з судинною патологією)	32	2,06±0,21*, ⁴	30	57,70±3,04 ^{22, 44}

Примітки: 1. *, **, *** — достовірна відмінність від контрольної групи ($p<0,05$; $p<0,01$; $p<0,001$ відповідно) за U-test Mann–Whitney; 2. ²² — різниця між різниця між групами неопромінених та опромінених хворих з судинною патологією достовірна ($p<0,01$) за U-test Mann–Whitney; 3. ^{4, 44} — різниця між групами опромінених хворих з демієлінізуючою та судинною патологією достовірна ($p<0,05$; $p<0,01$ відповідно) за U-test Mann–Whitney.

замість ацетил-КоА утворюється лактат, підвищений рівень якого є неспецифічним маркером клітинного енергодефіциту. Проте у групі опромінених хворих з судинною патологією спостерігалась тенденція щодо іншого диспропорційного порушення рівня лактату й пірувату в бік незначного збільшення останнього відносно контролю та значного збільшення відносно групи неопромінених з цією ж патологією — в 1,38 раза ($p=0,001$). Водночас рівень лактату у цій групі залишався підвищеним відносно контролю в 1,63 раза ($p=0,033$), але дещо нижчим, ніж у групі опромінених з демієлінізуючою патологією.

Таким чином, зміни в енергетичному обміні переважно у хворих з судинною патологією ЦНС, які мали контакт з ІВ, можуть бути наслідком патобіохімічних процесів в ішемізованих тканинах, посилені додатково дією радіаційного чинника. Останній, можливо, є фактором погіршення перебігу захворювання, оскільки відомо, що зміни в енергетичному обміні на тлі виснаження АО-ферментів, асоціюються з порушеннями мітохондріального матриксу, деполяризацією мембран, витоком кальцію та вивільненням глутамату. При цьому відбувається експресія ішемічнозалежних білків, а також цитокінів, нейротропних факторів, стресових протеїнів та апоптоїчнозалежних генів (PAR-4, родина bcl-2, iaps каспази) та молекул клітинної адгезії, що призводить до посилення дегенеративних процесів та хронізації патологічних станів цих типів [17].

Висновки.

1. Хронічні захворювання ЦНС демієлінізуючого та судинного генезу без впливу іонізуючого випромінення в анамнезі характеризуються ознаками запальної реакції, а у хворих із судинною патологією додатково простежуються ознаки енергодефіциту.

2. Загальними для обох нозологічних форм у опромінених хворих були виявлені більш виражені ознаки запальної реакції та порушення енергетичного обміну, а при судинній патології — пригнічення активності каталази, що свідчить про поглиблення метаболічних розладів, які, можливо, пов'язані з безпосередньою дією ІВ.

3. Наявність в анамнезі дії ІВ у хворих з демієлінізуючою та судинною патологією ЦНС, що супроводжуються порушеннями функціональної активності каталази та енергозалежних процесів, є можливим додатковим фактором погіршення перебігу цих захворювань.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бузунов В. О. Непухлинна захворюваність та смертність учасників ліквідації аварії на ЧАЕС / В. О. Бузунов, В. М. Терещенко, Н. І. Стрій // Медичні наслідки

- аварії на Чорнобильській атомній станції / за ред. О. Ф. Возіанова, В. Г. Бебешка, Д. А. Базики. — К. : ДІА, 2007. — С. 422–436.
2. Логановський К. М. Цереброваскулярні та нейропсихіатричні захворювання / К. М. Логановський, М. О. Бомко // Медичні наслідки аварії на Чорнобильській атомній електростанції / за ред. О. Ф. Возіанова, В. Г. Бебешка, Д. А. Базики. — К. : ДІА, 2007. — С. 250–271.
 3. Siesjo Bo K. Glutamate, calcium, and free radicals as mediators of ischemic brain damage / Bo K. Siesjo [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* — 1995. — Vol. 59, N 1. — P. 1316–1320.
 4. Leitinger N. The role of phospholipid oxidation products in inflammatory and autoimmune diseases: evidence from animal models and in humans / N. Leitinger // *Subcell Biochem.* — 2008. — Vol. 48. — P. 325–350.
 5. Сутковой Д. А. Стан окисно-антиоксидантної системи головного мозку під дією іонізуючої радіації та його корекція : автореф. дис... д-ра біол. наук: 03.00.01 / Дем'ян Аврамович Сутковой ; Наук. центр радіаційної медицини АМН України. — К., 2005. — 45 с.
 6. Альохіна С. М. Визначення антиоксидантних параметрів крові у обстежених різного віку / С. М. Альохіна, О. В. Дробінська // *Укр. мед. часопис.* — 2003. — № 4 (36), вип. VII–VIII. — С. 93–99.
 7. Misra H. P. The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin / H. P. Misra, I. Fridovich // *J. Biol. Chem.* — 1972. — Vol. 247, N 21. — P. 6960–6962.
 8. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк [та ін.] // *Лаб. дело.* — 1988. — № 1. — С. 16–19.
 9. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрентер // *Лаб. дело.* — 1991. — № 10. — С. 9–13.
 10. Бестужева С. В. Определение активности церулоплазмينا в сыворотке крови модифицированным методом Ревина / С. В. Бестужева, В. Г. Колб // *Справочник по клинической химии.* — Минск : Беларусь, 1982. — С. 290–292.
 11. Горячковський О. М. Клінічна біохімія : довідковий посібник / О. М. Горячковський. — Вид. 2-е, вип. і доп. — Одеса : Астропринт, 1998. — 608 с.
 12. Бююль А. SPSS: искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей : [пер. с нем.] / А. Бююль, П. Цёфель. — М. [и др.] : DiaSoft(DS), 2002 — 602 с.
 13. Дзюба А. Н. Про- и антиоксидантные механизмы при рассеянном склерозе / А. Н. Дзюба, Ю. Н. Сорокин // *Укр. мед. часопис.* — 2004. — № 5 (43), вип. IX–X. — С. 30–35.
 14. Activation of microglial cells by ceruloplasmin / K. H. Lee [et al.] // *Brain Res.* — 2007. — Vol. 1171. — P. 1–8.
 15. Сидорик Е. П. Молекулярные механизмы нарушений в клетках при хроническом действии ионизирующего излучения низкой мощности дозы в связи с аварией на ЧАЭС / Е. П. Сидорик // *Experim. Oncology.* — 2000. — № 4. — С. 179–185.
 16. Role of oxidative stress in neurodegeneration: recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants / K. Cui [et al.] // *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.* — 2004. — Vol. 28, N 5. — P. 771–799.
 17. Mattson M. P. Neuronal life-and-death signaling, apoptosis, and neurodegenerative disorders / M. P. Mattson // *Apoptosis.* — 2006. — Vol. 11–12, N 8. — P. 1997–2006.

Стаття надійшла до редакції 22.06.2012.

*Л. М. Овсянникова¹, А. В. Кубашко¹, С. М. Алёхина¹, Е. В. Носач¹,
Е. А. Колосинская¹, С. А. Чумак¹, К. Н. Логановский¹,
А. А. Чумак¹, Л. М. Озеракина²*

*¹Государственное учреждение “Национальный научный центр радиационной
медицины Национальной академии медицинских наук Украины”,
ул. Мельникова, 53, г. Киев, 04050, Украина*

²Киевский городской психоневрологический диспансер № 4, г. Киев

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ДЕМИЕЛИНИЗИРУЮЩИХ И СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЦНС У ПОСТРАДАВШИХ ВСЛЕДСТВИЕ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ КАТАСТРОФЫ

Представлены данные активности антиоксидантных ферментов и состояния энергетического обмена у лиц, облученных вследствие Чернобыльской катастрофы, с демиелинизирующей и сосудистой патологией ЦНС. Выявленные метаболические нарушения в зависимости от нозологической формы у облученных пациентов были более выраженными за счет усиления признаков воспалительной реакции, энергодефицита, а у больных с сосудистой патологией — снижения активности каталазы крови, что, вероятно, является фактором отдаленных метаболических эффектов, которые могут способствовать усугублению течения заболевания.

Ключевые слова: *окислительный стресс, демиелинизирующая и сосудистая патология ЦНС, Чернобыльская катастрофа.*

*L. M. Ovsjannikova¹, A. V. Kubashko¹, S. M. Aljokhina¹, E. V. Nosach¹,
O. O. Kolosynska¹, S. A. Chumak¹, K. M. Loganovsky¹,
A. A. Chumak¹, L. M. Ozerakina²*

*¹State Institution “National Research Center for Radiation Medicine
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”,
Melnykov str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine*

²Municipal psychoneurologic dispensary N 4, Kyiv

BIOCHEMICAL PECULIARITIES IN THE PATHOGENESIS OF DEMYELINATION AND VASCULAR DISEASES OF NERVOUS SYSTEM IN THE CHORNOBYL CATASTROPHE VICTIMS

The activity of antioxidant enzymes and energetic exchange date in irradiated persons as a result of the Chornobyl catastrophe with demyelinating and vascular diseases of nervous system are represented. The metabolic disturbances in depends on nosology in all irradiated patients are revealed which were more expressive due to exaggeration of inflammation reaction and energy deficiency signs and in irradiated persons with vascular diseases the depletion of blood catalase activity is detected that possible is a factor of remote metabolic effects, which could contribute to clinical course deterioration.

Key words: *oxidative stress, demyelination and vascular pathology of nervous system, Chornobyl catastrophe.*