

Д. А. Сутковой, О. О. Лапоногов, А. П. Гук, Т. М. Федосенко,  
Т. А. Макарова, А. Б. Дмитренко, Н. В. Мілковська, А. Д. Сутковой

## Стан прооксидантно-антиоксидантного статусу при підвищеній судомній активності

*Клинико-биохимическими исследованиями установлено, что степень проявления и характер течения эпилептической болезни в значительной мере определяются состоянием окислительно-антиоксидантного равновесия в организме больного. Исследования, проведенные на крысах, у которых моделировали бемегридовый киндлинг, подтвердили предположение, что одним из основополагающих факторов в развитии повышенной судорожной активности является нарушение прооксидантно-антиоксидантного равновесия в мозгу, что, вероятно, занимает основное место в генезе и в клиническом проявлении эпилепсии.*

### ВСТУП

Аналіз експериментальних даних дозволяє характеризувати епілепсію як вільнорадикальну патологію [3, 11], яка не тільки генетично передумовлює виникнення підвищеної судомної активності та супроводжує її, але і постійно ініціює прояв останньої [7]. Такий висновок зумовлений результатами експериментів, в яких відмічають активацію вільнорадикальних процесів (ВРП) у крові і мозку тварин з бемегридовим кіндлінгом [5]. Результати дослідів свідчать, що рівень організації прооксидантно-антиоксидантного статусу є одним із коригуючих факторів відносно ступеня пошкодження та загибелі нервових клітин головного мозку [8]. Цьому передують порушення біохімічних і фізіологічних функцій нейрональних мембран, деструкція котрих зумовлює зміну конформаційних, трансмембранних і рецепторно-лігандних взаємовідношень [1] (див. схему). Генералізованим наслідком виявлених змін є гальмування або гіперактивація генерації і трансформації нервового імпульсу у пошкоджених ланках нервової системи, що, в остаточному підсумку, і підвищує активність судомної готовності

тварин, які піддавалися дії факторів, що ініціюють епілептичну активність [13].

Разом з тим аналіз та узагальнення експериментальних робіт про участь вільнорадикальних процесів (ВРП) у генезі кіндлінгової патології ще не дає повного уявлення про механізм розвитку та перебіг судомної активності у хворих на епілепсію. Зумовлено це відносно невеликою кількістю дослідницьких робіт, присвячених цьому питанню і, зокрема, дефіцитом даних, які характеризують активність перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) у хворих з різним ступенем прояву хвороби. Тому метою наших досліджень було вивчення активності вільнорадикальних процесів та антиоксидантного захисту у хворих з різними формами епілепсії. При цьому керувалися також і тим, що отримані результати допоможуть у подальшому намітити шляхи корекції ВРП, а відтак блокувати появу судом у хворих з різним ступенем вираженості епілептичної активності. Метою роботи було також дослідити стан активності ВРП у крові та мозку щурів за умов бемегрид-кіндлінгової моделі. Це дозволить встановити можливість взаємозумовленості змін перекисно-окисних процесів у різних тканинних системах

© Д. А. Сутковой, О. О. Лапоногов, А. П. Гук, Т. М. Федосенко, Т. А. Макарова, А. Б. Дмитренко, Н. В. Мілковська, А. Д. Сутковой

при підвищеній судомній активності, а відтак більш об'єктивно та виважено проаналізувати результати клінічних досліджень відносно стану про-антиоксидантного статусу в мозку хворих на епілепсію.

## МЕТОДИКА

Досліджували венозну кров хворих на епілепсію з різноманітними клінічними форма-

ми перебігу захворювання. Критеріями оцінки ступеня захворювання слугували частота, поліморфізм епілептичних нападів, а також наявність виражених психічних розладів. З урахуванням цих особливостей було сформовано три групи хворих. 1-шу групу склали хворі з рідкими епілептичними нападами без ознак поліморфізму та психічних розладів. До 2-ї групи увійшли пацієнти з частими поліморфними нападами без вираже-



Причини, розвиток і корекція вільнорадикального переокищення в нервовій системі.

них розладів психіки. 3-тя група — хворі з проградієнтним типом перебігу захворювання, частими поліморфними нападами, вираженими психічними розладами на рівні імбіцильності або ідіотії. До груп обстежуваних не включали пацієнтів із соматичними захворюваннями, які перенесли черепно-мозкові травми, інвазивні втручання, операції. Для оцінки ступеня відхилення значень досліджуваних показників від норми використовували кров умовно здорових людей-донорів. Обстеження хворих проводили до початку консервативного лікування чи операції.

Експериментальні дослідження проводили на безпородних білих щурах-самцях масою 180—200 г. З метою ініціації підвищеної судомної готовності тваринам внутрішньоочеревинно щоденно вводили бемегрид в дозі 10 мг/кг протягом 23—25 діб. Тваринам контрольної групи вводили рівні об'єми фізіологічного розчину. Експериментальні дослідження проводили через 1, 14 і 30 діб від початку введення препаратів.

Для оцінки стану про-антиоксидантної системи використовували: показники активності супероксиддисмутази (СОД) [6] і каталази [4], рівня малонового діальдегіду (за ТБК-активними продуктами) [10], шиффових основ [12], індукованої хемілюмінесценції (ІХЛ) [2], перекисної резистентності еритроцитів (ПРЕ) [9] і рівня ендogenous перекисів. Ендogenous перекиси, визначені в тканині мозку, дозволяють провести інтегральну оцінку сумарної кількості продуктів вільнорадикального переокислення. При визначенні ендogenous перекисів використовували модифікований (у лабораторії біохімії енергетичного обміну НДІ нейрохірургії АМН України) метод визначення перекисної резистентності еритроцитів [9]. Модифікація методу та відпрацювання відповідних умов його проведення полягала в тому, що на інтактну еритроцитарну масу здорової тварини діють не стандартним розчином перекису водню, а ендogenous перекисами, які накопичуються у тканині мозку пропорційно активності ПОЛ. Для отримання аліквоти, яка містить ендogenous

перекиси, готували 10%-й гомогенат тканини мозку на фізіологічному розчині, що містив 0,1 моль/л ЕДТА, який центрифугували при 1500 хв<sup>-1</sup> протягом 15 хв при 4° С. Принцип методу, кількісні співвідношення реагуючих компонентів і весь хід визначення проводили в подальшому, як описано в літературі [9]. Оскільки рівень гемолізу залежить від пулу ендogenous перекисів, їх кількісну характеристику виражали у відсотках гемолізованих еритроцитів.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили, застосовуючи критерій Стюдента-Фішера.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз результатів (таблиця) свідчить про те, що в крові хворих з частими епілептичними нападами спостерігається значне (у 1,4 раза) збільшення малонового діальдегіду, який становив 143% від контрольного значення. Це супроводжується різким, більш ніж у 3 рази, зниженням перекисної резистентності еритроцитів, двократним пригніченням СОД і підвищенням інтенсивності індукованого хемілюмінесцентного світіння плазми крові. Дослідження крові хворих 2-ї групи, у яких спостерігаються часті епілептичні напади, виявило (див. таблицю), що за цієї форми епілепсії спостерігаються більш виражені порушення про-антиоксидантного статусу крові. Рівень ТБК-активних продуктів перевищує контрольні значення в 1,7 раза. При цьому стійкість еритроцитів до перекису водню знижується в 4 рази, а активність СОД — удвічі. Індуковане перекисом водню хемілюмінесцентне світіння плазми крові на 87% перевищує значення показників, виявлених при дослідженні донорської крові. Близькі за ступенем вираженості зміни активності ПОЛ і антиоксидантної системи встановлено в 3-й групі хворих, у яких часті поліморфні епілептичні прояви поєднуються з вираженими психічними розладами. У цих дослідженнях, як і в попередніх, в 1,7 раза збільшується пул ТБК-активних продуктів, більш ніж в 4

рази зменшується резистентність еритроцитарних мембран до перекису водню. При цьому активність СОД та ІХЛ змінюється більш суттєво, ніж у 2-й групі, відрізняючись від контрольних значень на 75 і 131% відповідно.

Таким чином, результати досліджень доводять, що перебіг епілептичної хвороби обов'язково супроводжує виражена зміна про-антиоксидантного статусу в крові хворих. Враховуючи, що при більшій вираженості захворювання активація ВРП і пригнічення антиоксидантної активності суттєво посилюються, можна дійти висновку, що порушення перекисно-окисних процесів тісно взаємопов'язані з частотою епілептичних нападів і проявами психічних порушень. Більш обґрунтовано до такого висновку прийшли, завершивши експериментальні спостереження, де використовували кров і мозок тварин, у яких моделювали бемегридовий кіндлінг. Результати досліджень показують, що навантаження бемегридом не змінює вміст малонового

діальдегіду в крові через 24 год (рис. 2). Його активне підвищення (на 37%) простежується через 14 діб, а через 30 діб кількість ТБК-активних продуктів перевищує контрольні значення на 60%. Разом з тим загальна антиоксидантна активність в організмі щурів, яка визначається ступенем перекисного гемолізу еритроцитів, пригнічується вже через добу після введення бемегриду; відсоток гемолізованих еритроцитів становить 156,7% відносно контролю. У подальшому через 14 і 30 діб антиокисна активність організму досліджуваних тварин пригнічується ще більш виражено (в 2,1 і в 2,5 раза відповідно).

У мозку введення бемегриду зумовило активацію ВРП в перші 24 год (рис.3). Спостерігається збільшення у 2 рази вмісту основного продукту ПОЛ – малонового діальдегіду і в 1,7 раза сумарних продуктів перекисно-окисних реакцій – ендогенних перекисів. У подальшому на 14-ту і, особливо, на 30-ту добу накопичення метаболітів набу-

#### Показники активності ПОЛ і антиоксидантної системи в крові хворих на епілепсію

	Донори		Хворі 1-ї групи		Хворі 2-ї групи		Хворі 3-ї групи	
	М±m	n	М±m	n	М±m	n	М±m	n
ТБК-активні продукти, мкмоль/мл плазми	1,05±0,06	6	1,50±0,13 (143)	31	1,78±0,14* (170)	51	1,85±0,16* (176)	12
Перекисна резистентність еритроцитів, % гемолізов. еритроцитів	1,74±0,22	7	6,75±0,84* (387)	31	7,04±1,10* (403)	12	7,61±0,87* (436)	51
Супероксиддисмутаза, ум. од. екстинції /мг білка /10 хв	11,69±2,79	7	5,70±0,74* (49)	28	5,44±1,52* (47)	8	4,04±0,51* (35)	36
Каталаза, мкат/л	11,53±0,43	7	11,31±0,45 (98)	28	12,02±0,69 104	11	12,35±0,34 (107)	36
Індукована хемілюмінесценція, імр./с	428±43	6	634±45 (148)	20	800±117* (187)	8	990±103* (231)	30

Примітка: \* результати достовірно відрізняються від контролю; P<0,05. У дужках значення у відсотках.

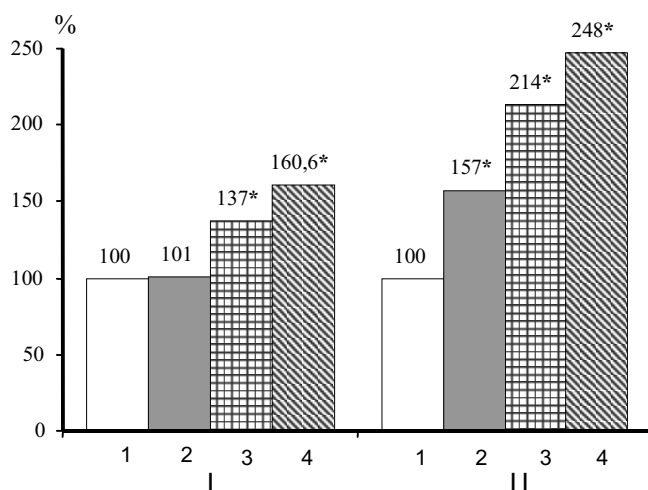


Рис. 2. Вплив бемегриду на вміст ТБК-активних продуктів у крові та перекичний гемоліз еритроцитів щурів, % відносно контролю; \*  $P < 0,05$ . I – ТБК-активні продукти; II – перекичний гемоліз еритроцитів. 1 – контроль; 2 – 24 год; 3 – 14 діб; 4 – 30 діб.

ває ще більш вираженого характеру. Визначення рівня кінцевих продуктів ПОЛ – шиффових основ у досліджуваному часовому інтервалі після бемегридового впливу виявило збільшення їх кількості лише через 14 і 30 діб, що зумовлено, можливо, тим, що на введення бемегриду насамперед реагують початкові ланки вільнорадикальних реакцій.

Таким чином, на основі клініко-біохімічних та експериментальних досліджень можна відзначити, що наявність вираженої епілептичної хвороби багато в чому визначається станом перекисно-окисних процесів – їх підвищеною активністю. У свою чергу, активація ПОЛ, що спостерігається, з самого початку є результатом різкого пригнічення функц-

іонування антиоксидантної системи та її основної ланки – супероксиддисмутази. На основі досліджень клінічного матеріалу не виключаємо, що поряд з гальмуванням СОД у генезі розвитку епілепсії може знаходитися факт появи превалюючих кількостей мутантних форм цього ферменту, як це, наприклад, показано у випадку розвитку аміотрофічного бокового склерозу, який характеризується важкими нейродегенеративними проявами [13]. Чи насправді це так, покажуть подальші дослідження, а от сьогоднішні дослідження необхідно скерувати на пошук швидкодіючих високоефективних засобів антиоксидантного захисту ураженої ЦНС – засобів, які мають високу спорідненість до тканини мозку та високу терапевтичну специфічність пригнічення епілептичної активності.

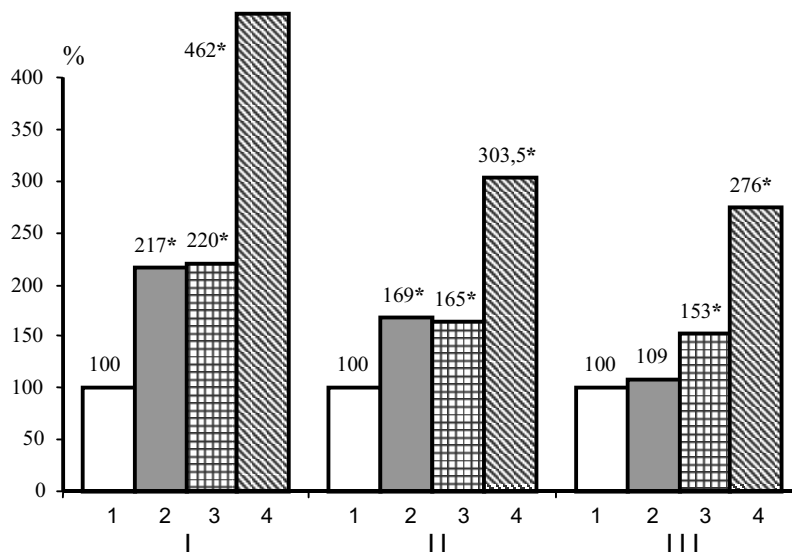


Рис. 3. Вплив бемегриду на вміст ТБК-активних продуктів, ендогенних перекисів та шиффових основ у мозку щурів, % відносно контролю; \*  $P < 0,05$ . I – ТБК-активні продукти; II – ендогенні перекиси; III – шиффові основи. 1 – контроль; 2 – 24 год; 3 – 14 діб; 4 – 30 діб.

**D. A. Sutkovoy, O. O. Laponogov, A. P. Huk, T. M. Fedosenko, T. A. Makarova, A. B. Dmytrenko, N. V. Milkovska, A. D. Sutkovoy**

### **TO THE PROBLEM OF PRO-ANTIOXIDANT CONDITION UNDER INCREASED CONVULSIVE ACTIVITY**

During the clinical-biochemical research it was found that the trend's manner of epileptic disease in general is determined by the oxidative-antioxidant balance condition in the sick organism. The experimental research, made on rats, which were under bemegrid kindling confirmed the supposition that the pro-antioxidant brain balance disruption is one of the major factors in the increased convulsive activity development and probably plays the key role in the genesis and clinical revelation of epilepsy.

*Romodanov Institute of Neurosurgery, Kiev*

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Болдырев А. А., Куклей М. Л. Свободные радикалы в нормальном и ишемическом мозге. // Нейрохимия. — 1996. — **13**. — С. 25–29.
2. Закарян А. К., Бабок Ю. В. Сверхслабые свечения в медицине и сельском хозяйстве. М., 1974. — С. 83–88.
3. Зозуля Ю. А., Барабой В. А., Сутковой Д. А. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. М.: Знание-М. — 2000. — 344 с.
4. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы. // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–19.
5. Крыжановский Г. Н., Е. В. Никушкин, В. А. Воронко и др. Сравнительный анализ содержания продуктов перекисного окисления липидов в коре головного мозга, спинномозговой жидкости и периферической крови при эпилептической активности. // Бюл. эксперим. биологии. — 1983. — Вып. 11. — С. 36–38.
6. Матюшина Б. Н., Логинов А. С., Ткачев В. Д. Определение супероксиддисмутазной активности в материале пункционной биопсии печени при её хроническом поражении. Лабораторное дело. — 1991. — № 7. — С. 16–19.
7. Никушкин Е. В. Перекисное окисление липидов в ЦНС в норме и при патологии. Нейрохимия. — 1989. — **8**, № 1. — С. 124–145.
8. Окислительный стресс, апоптоз и повреждение мозга. Материалы международного симпозиума г. Питсбург, Пенсильвания США, 21–25 сент. 1995 г. // Нейрохимия. — 1996. — **13**, вып. 1 — С. 61–64.
9. Покровский А. А., Абраров А. А. К вопросу о перекисной резистентности эритроцитов. // Вопросы питания. — 1964. — № 6. — С. 44–49.
10. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты — В кн.: Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 66–68.
11. Шакаришвили Р. Р. Свободнорадикальная патология у больных эпилепсией — В кн.: Клиника и лечение эпилепсии — Тбилиси. — 1986. — С. 131–145.
12. Chio C.S., Tappel A.H. Synthesis and characterization of the fluorescent products derived from malonaldehyde and amino acid. — Biochemistry (Wash). — 1969. — **8**, № 7. — P. 2821–2826.
13. Satya-Murty S., Howard L., Krohel G., Wolf B. The spectrum of neurologic disorder from vitamin E deficiency. — Neurology. — 1986. — **36**, № 7. — P. 917–921.

*Ін-т нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова  
АМН України, Київ*

*Матеріал надійшов  
до редакції 11.08.2000*