

УДК 616.831-005.4-008.939

Д.Ш. Альтман<sup>1,2</sup>, Е.В. Давыдова<sup>1,2</sup>, Н.Г. Кочеткова<sup>1</sup>, В.А. Светлакова<sup>2</sup>**ЛИПИДНЫЙ ПРОФИЛЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ, ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И СОСТОЯНИЕ НИТРОКСИДЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ВЕТЕРАНОВ АФГАНИСТАНА С РАННИМИ ФОРМАМИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ МОЗГА**<sup>1</sup> Челябинский областной клинический терапевтический госпиталь ветеранов войн (Челябинск)<sup>2</sup> Челябинская государственная медицинская академия (Челябинск)

Проведено определение липидного профиля, показателей перекисного окисления липидов и нитроксидергической системы у ветеранов Афганистана с ранними формами хронической ишемии мозга. Получены данные, подтверждающие наличие оксидативного стресса на уровне клеточных мембран, показана высокая активность антиоксидантной и нитроксидергической систем, более выраженная у ветеранов с ДЭП-I стадией, что может отражать нарастание гипоксических процессов в нервной ткани в условиях прогрессирующей хронической цереброваскулярной недостаточности и постстрессовых расстройств.

**Ключевые слова:** ветераны Афганистана, хроническая ишемия мозга, липиды, оксидативный стресс

**LIPID PROFILE OF BLOOD SERUM, LIPID PEROXIDATION AND NITROXIDERGIC SYSTEM OF VETERANS OF THE AFGHAN CONFLICT WITH EARLY FORMS OF CHRONIC BRAIN ISCHEMIA**D.Sh. Altman<sup>1,2</sup>, E.V. Davydova<sup>1,2</sup>, N.G. Kochetkova<sup>1</sup>, V.A. Svetlakova<sup>2</sup><sup>1</sup> Regional Clinical Therapeutic Hospital for War Veterans, Chelyabinsk<sup>2</sup> Chelyabinsk State Medical Academy, Chelyabinsk

A determination of lipid profile, indices of lipid peroxidation and ergic system in veterans and civilians with early forms of chronic brain ischemia. The data confirming the presence of oxidative stress at cellular membranes showed high antioxidant activity and ergic systems are more pronounced in veterans with DEP-I, which may reflect the growth of nerve tissue hypoxia in the progression of chronic cerebrovascular insufficiency in the background of post-stress disorder.

**Key words:** Afghanistan veterans, chronic cerebral ischemia, lipids, oxidative stress

Актуальность проблемы ранней клинической манифестации и прогрессивного течения хронической цереброваскулярной патологии у ветеранов современных боевых действий определяется важной ролью постстрессовых расстройств в особенностях развития и течения соматических, в т.ч. хронических сосудистых заболеваний мозга [5, 7]. Отмечена четкая тенденция параллельного роста церебральной сосудистой патологии в современных условиях и частоты возникновения расстройств адаптации после пролонгированных травматических событий (к которым относится война). Негативные постстрессовые симптомы, типичные для лиц, перенесших «стресс войны», могут сопровождаться нарушением оптимальной регуляции обмена организма, кровоснабжения жизненно важных органов, более ранним развитием и клинической манифестацией хронической цереброваскулярной патологии. Острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), являются одной из ведущих причин смертности населения в современных условиях и занимают второе ранговое место после сердечно-сосудистых катастроф, чаще развиваются у мужчин трудоспособного возраста [3, 9]. Известно, что ОНМК нередко формируются в условиях уже существующей хронической церебральной болезни. Поэтому идентификация и

ранняя диагностика инициальных стадий хронической ишемии мозга являются актуальной задачей современной ангионеврологии.

Согласно клинической классификации сосудистых поражений головного мозга [10], хронические формы цереброваскулярных заболеваний (ХЦВЗ) включают (1) начальные проявления нарушений кровоснабжения мозга (НПНКМ), (2) дисциркуляторную энцефалопатию (ДЭП) 1-й, 2-й и 3-й стадии. К ранним формам ХЦВЗ относятся НПНКМ и ДЭП-1 стадии.

**Целью** настоящего исследования явилось изучение показателей сыворотки крови, характеризующих состояние липидного обмена, процессов липопероксидации и показателей нитроксидергической системы у ветеранов афганского конфликта и гражданских лиц с диагнозами НПНКМ и ДЭП-I.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследование проведено на базе Челябинского областного клинического терапевтического госпиталя для ветеранов войн. Для решения поставленных задач было обследовано 122 ветерана афганского конфликта, из них, с начальными проявлениями недостаточности кровоснабжения мозга (НПНКМ) 1-я группа — 78 ветеранов (средний возраст — 38,99 ± 0,48 года), 56 чело-

век (2-я группа) с диагнозом дисциркуляторная энцефалопатия – 1-й стадии (ДЭП-I) средний возраст –  $39,3 \pm 0,67$  года, в группы сравнения вошли гражданские лица, не участвовавшие в военных действиях – 40 чел. (3-я группа) с НПНКМ (средний возраст –  $37,8 \pm 0,67$  года) и 35 чел. (4-я группа) имеющие ДЭП-I (средний возраст –  $38,8 \pm 0,29$  года), группу контроля (5-ю группу) составили 44 здоровых мужчин без субъективных и объективных проявлений цереброваскулярной патологии (средний возраст  $38,96 \pm 1,14$  года). Диагнозы НПНКМ и ДЭП-I были установлены в соответствии с клинической классификацией сосудистых поражений головного мозга [10], на основании клинических симптомов заболевания и данных инструментального обследования методами ультразвуковой доплерографии магистральных сосудов, транскраниальной доплерографии и электроэнцефалографии.

Венозную кровь забирали после 12–14 часового голодания. В сыворотке крови определяли: содержание общего холестерина (оХС), триглицеридов (ТГ), Хс липопротеидов высокой плотности (ХсЛПВП) ферментативными методами с набором «Olvex» (Санкт-Петербург) на биохимическом анализаторе «Roski». Для оценки процессов перекисидации липидов определяли содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) экстракционно-спектрофотометрическим методом [2, 8]. Экстракцию перекисленых ацилов из фосфолипидов осуществляли изопропанолом, в экстракте определяли: содержание диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов с сопряженными триеновыми (КД и СТ) и общих полиеновых (ОП). Результаты выражали в единицах индекса окисления.  $E_{232}/E_{220}$  – содержание ДК и  $E_{278}/E_{220}$  – содержание КД с СТ. Для определения общего содержания продуктов ПОЛ в сыворотке крови определяли содержание ТБК-активных продуктов. Выделение мононуклеаров периферической крови проводили стандартным способом. Культивирование моноцитов проводили в течение 48 часов в газопотожном термостате. О содержании оксида азота в сыворотке и супернатанте судили по уровню конечных стабильных метаболитов оксида азота (нитратов и нитритов) [4]. Антиоксидантную систему оценивали на основе определения активности каталазы, общей антиоксидантной активности крови и содержания церулоплазмينا. Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программ «Statistica for Windows 6.0» и пакета анализа для программы MS Excel 2007. При сравнении показателей сыворотки крови больных использовали непараметрические критерии Манна – Уитни.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение липидного профиля сыворотки крови показало, что у ветеранов боевых действий с НПНКМ и ДЭП-I содержание атерогенных фракций липопротеидов (ХсЛПОНП) и триглицеридов (ТГ) в сыворотке крови достоверно выше, чем у лиц 5-й группы (контрольной). При этом в

группе ветеранов различия показателей больных с ДЭП-I и контрольной группы более значимы, а уровень атерогенных фракций крови выше, чем у ветеранов с НПНКМ. Следует также отметить высокий уровень ХсЛПОНП ( $0,91 \pm 0,11$  ммоль/л) у лиц с ДЭП-I по сравнению с пациентами с НПНКМ ( $0,65 \pm 0,05$  ммоль/л) и контролем ( $0,67 \pm 0,12$  ммоль/л). Известно, что рецептор-зависимый путь регуляции содержания холестерина (Хс) в тканях печени реализуется при низком уровне Хс в гепатоцитах и малом количестве ЛПОНП в крови и лимфе. При увеличении последних усиливается синтез апопротеина В, а следовательно, нарушается энергетический гомеостаз, гепатоциты в атерогенных условиях переходят на новый механизм вывода Хс из клеток путем синтеза и секреции ЛПОНП [6]. Накопление в кровотоке ТГ-содержащих липопротеидов свидетельствует о нарушении транспорта ТГ, которые являются носителями насыщенных жирных кислот – основного энергетического субстрата большинства клеток организма. Уровень поглощения клетками свободных жирных кислот (СЖК) регулирует гидролиз ТГ в кровотоке. Можно предполагать, что у больных 2-й группы (ветеранов с ДЭП-I) нарушено поглощение СЖК клетками в большей степени, чем у ветеранов 1 группы с НПНКМ. Действительно, у ветеранов с ДЭП-I содержание ТГ в сыворотке крови достоверно выше, чем у больных 1-й группы и лиц контрольной группы ( $1,7 \pm 0,16$  против  $1,54 \pm 0,11$  и  $1,2 \pm 0,1$  ммоль/л, соответственно).

Вместе с тем, одной из возможных причин таких изменений может быть накопление в клетках окисленных производных Хс. Последние ингибируют активность  $Na^+K^+$ -АТФ-азы клеточных мембран, затрудняют трансмембранный перенос глюкозы и увеличивают проницаемость мембран для ионов  $Ca^{2+}$ . Возможно, именно вовлечением Хс в окислительные процессы объясняется относительно низкий уровень Хс в сыворотке крови больных.

Сравнительный анализ результатов, полученных при обследовании гражданских лиц с НПНКМ и ДЭП-I (3-й и 4-й группы), показал, что содержание всех атерогенных липидных фракций у больных выше, чем в контрольной группе. Однако общий Хс и ХсЛПНП оказались выше у больных 4-й группы, чем в 1-й и 2-й, а уровень ТГ, Хс ЛПОНП, Ка был выше у пациентов 3-й группы. У последних уровень ХсЛПВП оказался достоверно ниже, чем в 4-й группе ( $1,08 \pm 0,04$  и  $1,27 \pm 0,06$  ммоль/л соответственно).

Таким образом, если у ветеранов с ДЭП-I (2-й группа) отмечался более высокий уровень ТГ и Хс ЛПОНП, то у больных ДЭП-I, не участвовавших в военных действиях (4-я группа), выявлен более высокий уровень общий Хс и фракция ХсЛПНП, хотя содержание ТГ и Хс ЛПОНП также выше, чем в контрольной группе.

Известно, что в ЛПНП апо-В100 выполняет функцию лиганда, опосредуя рецептор-зависимый захват этих липопротеидов клетками. Нарушение катаболизма ЛПНП приводит к их избыточному

накоплению в плазме, что фенотипически регистрируется как дислипидотеинемия, а в случае активации свободно-радикального окисления способствует их модификации. Высокий уровень Хс ЛПНП у больных 4-й группы является свидетельством нарушения катаболизма ЛПНП.

Нарушения мозгового кровообращения сопровождаются гипоксией. При гипоксии снижается диффузия кислорода в кровь, его парциальное давление в крови и утилизация в тканях, что приводит к усилению процессов свободно-радикального окисления. Клетки нервной ткани более чувствительны к дефициту кислорода, так как практически не имеют его запасов. Нервные клетки отличаются повышенным содержанием липидов, при этом каждая 3-я жирная кислота, входящая в состав фосфолипидов нервной ткани, относится к группе полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), активно участвующих в процессах ПОЛ.

У больных, участвовавших в боевых действиях, содержание первичных продуктов ПОЛ (ДК  $E_{232}$ ) оказалось достоверно выше, чем в контрольной группе ( $2,55 \pm 0,17$  против  $1,78 \pm 0,11$  соответственно). У гражданских лиц также отмечен рост уровня первичных продуктов ПОЛ ( $E_{232}/E_{220}$ ) с  $0,56 \pm 0,02$  в контроле до  $0,62 \pm 0,02$  при НПНКМ. Увеличение первичных продуктов ПОЛ может свидетельствовать об активации НАДФ Н-зависимой системы перекисного окисления фосфолипидов, которая ингибирует активность микросомальной гидроксиглирующей системы и подавляет катаболизм Хс. Вероятно, поэтому у данной группы больных уровень Хс крови достоверно выше контроля. Липоперекиси, как известно, играют важную роль в механизмах первичных повреждений сосудистой стенки. Полученные результаты свидетельствуют о том, что сосудистые изменения при НПНКМ сопровождаются усилением свободнорадикального окисления (СРО) и накоплением продуктов ПОЛ в сосудистой стенке.

По содержанию вторичных продуктов ПОЛ (КД, СТ) и ТБК различия во всех группах ветеранов и гражданских лиц с контролем не достоверны. Не было обнаружено также достоверных различий по активности клеточных ферментов (каталазы и пероксидазы). Вместе с тем, у ветеранов с НПНКМ (1-я группа) отмечалась тенденция к более высокому уровню каталазной активности, а у ветеранов с ДЭП-I — к повышению пероксидазной активности. Содержание ЦП у ветеранов с ДЭП-I (2-я группа) и гражданских лиц с такой же патологией (4-я группа) было достоверно выше, чем у больных 1-й и 3-й групп (ветеранов и гражданских лиц с НПНКМ ( $266,6 \pm 7,42$  и  $273,0 \pm 9,58$  против  $239,4 \pm 7,35$  и  $233,8 \pm 10,22$  соответственно), но незначительно превышало уровень контроля ( $254,8 \pm 11,51$ ). Повышение уровня ЦП и пероксидазной активности сыворотки ветеранов и гражданских лиц при ДЭП-I можно расценивать, как усиление антиоксидантной защиты клеток мозга в условиях нарастания гипоксии нейронов при прогрессии хронических форм ишемии.

Можно полагать, что низкий уровень вторичных продуктов ПОЛ поддерживается относительно высоким содержанием ЦП и Хс — естественного антиоксиданта. С другой стороны, повышение в крови первичных продуктов ПОЛ при отсутствии роста вторичных продуктов ПОЛ у больных с ДЭП-I (2-я и 4-я группа) свидетельствует, что процесс СРО у них все же активирован и при вторичной атаке кислорода гидроперекиси полиеновых ЖК (ДК) претерпевают окислительную деструкцию с образованием вторичных продуктов ПОЛ (КД с СТ и МДА), способных легко взаимодействовать с аминогруппами аминифосфолипидов и белков.

Определенный вклад в баланс появляющихся в крови свободных радикалов вносят эндотелиальные клетки, постоянно продуцирующие оксид азота. С появлением в крови продуктов ПОЛ происходит активация индуцибельной формы синтазы, выбрасывающей в кровотоки избыточное количество NO. Последний, превращаясь в пероксинитрит, способен окислять липиды даже в присутствии высоких концентраций антиоксидантов и тем самым нарушать неустойчивое равновесие между про- и антиоксидантами крови [1].

По нашим данным, у всех обследованных групп (1, 2, 3, 4) больных уровень конечных стабильных метаболитов оксида азота (нитратов и нитритов) в сыворотке крови был достоверно выше ( $17,55 \pm 1,24$ ;  $17,54 \pm 1,79$ ;  $17,05 \pm 1,83$  и  $16,70 \pm 0,89$  Мкмоль/л), чем в контрольной группе ( $14,32 \pm 1,37$ ), практически не отличаясь в пределах групп больных. Количество нитроксид-ионов в супернатанте ветеранов с ДЭП-I было максимальным и достоверно отличалось (суммарное NOx  $55,9 \pm 4,96$  Мкмоль/л, нитраты —  $34,58 \pm 5,67$  Мкмоль/л, нитриты  $13,6 \pm 2,9$  Мкмоль/л) в сравнении с 1-я группой (ветераны с НПНКМ) — (суммарное  $43,96 \pm 5,58$  Мкмоль/л, нитраты —  $26,01 \pm 4,7$  Мкмоль/л, нитриты —  $7,24 \pm 1,05$  Мкмоль/л) и 3-й группой (гражданские с НПНКМ) — суммарное  $42,2 \pm 4,5$  Мкмоль/л, нитраты —  $13,6 \pm 2,9$  Мкмоль/л, нитриты —  $7,25 \pm 1,2$  Мкмоль/л и мало отличалось от показателя 4-й группы (гражданские с ДЭП-I) — суммарное  $48,9 \pm 3,56$  Мкмоль/л, нитратов —  $32,32 \pm 3,37$  Мкмоль/л, нитритов —  $15,7 \pm 3,5$  Мкмоль/л.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты подтверждают данные литературы о важной роли процессов свободнорадикального окисления и перекисного окисления липидов в механизмах повреждения кровеносных сосудов мозга и свидетельствуют о неоднозначности нарушений изучаемых показателей периферической крови у лиц с ранними стадиями ХЦВЗ.

У ветеранов с НПНКМ и ДЭП-I выявляются отчетливые признаки оксидативного стресса, с усиленным образованием продуктов СРО и ПОЛ, а также ростом уровня индуцибельной продукции

оксида азота. Более высокая активность клеточных ферментов — антиоксидантов, как показателей нарушения клеточных структур, отмеченная нами у ветеранов боевых действий с ДЭП-I отражает нарастание гипоксических процессов нейронов головного мозга в условиях прогрессирующей цереброваскулярной недостаточности и постстрессовых расстройств.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Волин М.С., Дэвидсон К.А., Калинин П.М. Механизм передачи сигнала оксида азота в сосудистой ткани // Биохимия. — 1998. — Т. 63, Вып. 7. — С. 958 — 965.
2. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гаптен-изопропанольных экстрактах крови // Вопр. мед. химии. — 1989. — № 1. — С. 127 — 131.
3. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Стаховская Л.В., Киликовский В.В. и др. Эпидемиология инсульта в России // Consilium medicum. — 2003. — Т. 5, № 5. — С. 1 — 6.
4. Емченко Н.А., Цыганенко О.И., Ковалевская Т.В. Универсальный метод определения нитратов в биосредах организма // Клин. лаб. диагностика. — 1994. — № 6. — С. 19 — 20.
5. Жулев Н.М., Пустозеров В.Г., Жулев С.Н. Цереброваскулярные заболевания. Профилактика и лечение инсультов. — М.: Vinom — СПб.: Невский диалект, 2002. — 384 с.
6. Медведев Ю.В., Толстой А.Д. Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма. — М., 2000. — С. 86 — 95.
7. Одинак М.М., Михайленко А.А., Иванов Ю.С., Семин Г.Ф. Сосудистые заболевания головного мозга. — СПб.: Гиппократ, 2003. — 157 с.
8. Плацер З., Видлакова М., Кужела Л. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов // Чехословацкое мед. обозрение. — 1970. — Т. 16, № 1. — С. 30 — 41.
9. Харченко В.И., Какорина Е.П., Корякин М.В. Смертность от основных болезней системы кровообращения в России (Аналитический обзор официальных данных Госкомстата Минздрава России, ВОЗ и экспертных оценок по проблеме) // Рос. кардиол. журн. — 2005. — № 1. — С. 5 — 15.
10. Шмид Е.В. Классификация сосудистых поражений головного и спинного мозга // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 1985. — № 9. — С. 1281 — 1288.

#### Сведения об авторах

**Альтман Давид Шурович** — начальник ГБУЗ Челябинский областной клинический терапевтический госпиталь ветеранов войн, заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии ГБОУ ВПО ЧелГМА Минздравсоцразвития

**Давыдова Евгения Валерьевна** — ассистент кафедры патологической физиологии ГБОУ ВПО ЧелГМА Минздравсоцразвития, кандидат медицинских наук (454128, г. Челябинск, просп. Победы, д. 315, кв. 76; сот.: 8-908-0609-206; e-mail: dav-zhenya@yandex.ru)

**Кочеткова Наталья Геннадиевна** — заведующая лабораторией преждевременного старения, врач терапевт-иммунолог ЧОКТГ ВВ, кандидат медицинских наук

**Светлакова Валентина Андреевна** — очный аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО ЧелГМА Минздравсоцразвития