

ДИСБАЛАНС МЕЖДУ АНТИ- И ПРООКСИДАНТНЫМ СТАТУСАМИ ПРИ ЭПИЛЕПСИИ У ПОДРОСТКОВ

Л.А. СИМОНЯН

Институт биохимии им. Г.Х. Буятяна НАН РА, 375014, Ереван

Уровень антиоксидантного статуса в эритроцитах и сыворотке крови при эпилепсии у подростков увеличивается почти одинаково. Однако, по сравнению с показателями донорской крови, прооксидантный статус (ПС) в эритроцитах снижается, а в сыворотке крови, наоборот, увеличивается. Снижение ПС в эритроцитах приводит к снижению необходимого для нормального жизнеобеспечения организма уровня активных форм кислорода (АФК), создавая тем самым определенный дисбаланс между продуцирующими и утилизирующими АФК системами в эритроцитах и сыворотке. Это является сравнительно новым патогенетическим механизмом оксидативного стресса в крови при эпилепсии у подростков.

Էպիլեպսիայով հիվանդ դեռահասների էրիթրոցիտներում և արյան շիճուկում հակաօքսիդանտային ստատուսն աճում է գրեթե միանման: Սակայն դոնորային արյան ցուցանիշների համեմատությամբ էրիթրոցիտներում պրոօքսիդանտային ստատուսը (ՊՍ) իջնում է, իսկ շիճուկում, ընդհակառակը, մեծանում: ՊՍ-ի ճնշումը էրիթրոցիտներում հանգեցնում է օրգանիզմի նորմալ կենսագործունեության համար անհրաժեշտ թթվածնի ակտիվ ձևերի մակարդակի առաջացմանը, ստեղծելով որոշակի դիսբալանս թթվածնի ակտիվ ձևեր առաջացնող և յուրացնող համակարգերի միջև էրիթրոցիտներում և արյան շիճուկում: Դա հանդիսանում է օքսիդատիվ ստրեսի նոր փոխաբանագենետիկական մեխանիզմ էպիլեպսիայով հիվանդ դեռահասների արյան մեջ:

The level of antioxidant status in erythrocytes and blood serum at epilepsy of teenagers is being elevated almost the same way. Nevertheless, in comparison with donor blood a prooxidant status (PS) in the erythrocytes decreased, and in the blood serum in contrary is being increased. The depression of PS in the erythrocytes brought to the decrease of necessary for the normal vital activity of the organism the level of active forms oxygen (AFO), creating a definite disbalance between producing and utilizing AFO systems in erythrocytes and serum. This appears to be a new mechanism of oxidative stress in the children blood during epilepsy.

Эпилепсия – металлопротеины – кровь – оксидативный стресс

В патогенезе эпилепсии определенная роль отводится отклонению от нормы баланса между анти- и прооксидантными системами организма. Причем, оксидативный стресс при эпилепсии обусловлен увеличением уровня церулоплазмينا (ЦП), гемолиза и перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эритроцитарных мембранах, снижением содержания витаминов С и А в плазме и глутамин-редуктазы в эритроцитах. Антиоксидантный статус крови у эпилептиков снижен по сравнению с нормой. Это свидетельствует о ключевой роли свободнорадикальных метаболических процессов, которые

усиливаются при эпилепсии не только у детей, но и у взрослых [9, 10, 12]. Противозепилептические препараты (валпроиновая кислота, карбамазепин) по-разному влияют на системы регуляции активных форм кислорода. Так, эти препараты не изменяют супероксиддисмутазную (СОД) активность в эритроцитах и ПОЛ в плазме (они остаются повышенными) при монотерапии и политерапии у детей [11, 13]. Причем наблюдаются недостоверные изменения уровня ПОЛ и СОД при терапии [6], что характерно, в основном, не только для детей, но и для взрослых, больных эпилепсией [7].

Целью настоящей работы явилось комплексное изучение эндогенного уровня анти- и прооксидантного действия металлопротеинов крови у больных эпилепсией вне эпилептического припадка.

Материал и методика. Была использована кровь, взятая по 5 мл у 7-и больных-подростков 12-15 лет с давностью заболевания 4-6 лет. Металлопротеины крови антиоксидантного действия – МАД (Cu, Zn - СОД и каталаза из растворимой фракции эритроцитов, церулоплазмин и трансферрин (ТФ) из сыворотки крови) и металлопротеины прооксидантного действия (МПД) (цитохром b_5 из растворимой фракции эритроцитов; цитохромы b_{558} III, b_{558} IV и цитохром b_{558} нейтрального характера – все из эритроцитарных мембран (ЭМ); супероксидпродуцирующий липопротеин сыворотки (супрол) получали биотехнологическим способом [2] путем ионообменной хроматографии белковых фракций эритроцитов на целлюлозах КМ – 52 и DE – 52 («Whatman», Англия) и гель-фильтрации на сефадексе G-100 («Pharmacia», Швеция). Причем, цитохром b_{558} из ЭМ солиubilizировали без использования детергента [3]. Количество полученных металлопротеинов (МП) определяли путем измерения величин плотностей максимальных оптических поглощений: при 430 нм для супрола, 525 нм для цитохрома b_5 , 530 нм (β -полоса поглощения) для цитохрома b_{558} из ЭМ, 610 нм для ЦП и 470 нм для ТФ.

СОД-активность фракций и супероксид-продуцирующую активность супрола и цитохрома b_{558} III определяли нитротетразолиевым синим (НТС) путем измерения процентного снижения (для СОД) и увеличения (для O_2^- -продуцирующих систем) плотности максимального оптического поглощения формазана (при 560 нм), образовавшегося при восстановлении НТС супероксидными радикалами. За единицу СОД-активности принимали то количество фракции, которое подавляет образование формазана на 50%. За единицу O_2^- -продуцирующей активности принимали то количество супрола или цитохрома b_{558} III, которое вызывает 50%-ное увеличение плотности поглощения формазана.

Каталазную активность фракций определяли перманганатометрическим титрованием раствора перекиси водорода (H_2O_2) путем расчета концентрации расщепляющей H_2O_2 за одну минуту при 20° в присутствии этой фракции.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли общеизвестным методом вариационной статистики Стьюдента-Фишера с определением критерия «Р».

Результаты и обсуждение. Динамика изменений показывает, что у больных эпилепсией снижается только уровень цитохрома b_5 и цитохрома b_{558} нейтрального характера, что отражено в табл. 1. Уровень остальных МПД повышается. При этом цитохром b_{558} III и супрол претерпевают, видимо, не только количественные, но и качественные изменения. Это выражается в потере O_2^- -продуцирующей активности цитохрома b_{558} III и супрола. Потеря активности супрола обусловлена снижением уровня перекисного окисления фосфолипидных остатков супрола, как НАДФН-содержащего липопротеина высокой плотности. Об этом свидетельствует и заметное увеличение его эндогенного уровня. Фактически, как и при других патологических состояниях, в частности при интоксикации крыс тяжелыми металлами [1],

наблюдается обратно пропорциональная зависимость между липидной перекиссацией супрола и его O_2^- -продуцирующей активностью.

Таблица 1. Относительные изменения (%) МАД и МПД крови у подростков-эпилептиков по сравнению с 100%-ными показателями донорской крови ($p < 0,05$, $n = 8$)

Металлопротеины	%
Цитохром b_5	$-34,6 \pm 3,0$
Σ Цитохром b_{558}	$+12,1 \pm 1,1$
Цитохром b_{558} III	$+10,2 \pm 0,3$
Цитохром b_{558} IV	$+19,1 \pm 1,8$
Нейтральный цитохром b_{558}	$-34,3 \pm 2,1$
Супрол	$+67,1 \pm 6,4$
O_2^- -продуцирующая активность супрола	$-19,3 \pm 1,8$
O_2^- -продуцирующая активность цитохрома b_{558} III	$-63,4 \pm 5,1$
Cu, Zn-SOD	$+20,5 \pm 2,2$
Каталаза	$+33,4 \pm 2,6$
ЦП	$+20,0 \pm 2,1$
ТФ	$+28,1 \pm 2,2$

Механизм снижения O_2^- -продуцирующей активности цитохрома b_{558} III пока не выяснен. Возможно, это связано с изменением состояния находящегося в лигандном окружении Fe нитроксильного радикала, который может играть роль переносчика электрона от НАДФН к молекулярному кислороду [4].

Уровень МАД в крови у подростков, страдающих эпилепсией, одинаково повышается не только в сыворотке, но и в эритроцитах. Это свидетельствует о том, что на фоне нарастающего уровня АФК при эпилепсии [8] образуется соответствующий фон антирадикальной защиты, что хорошо отражено в литературе [5, 8].

Однако несколько иная картина наблюдается при определении антиоксидантного статуса – АС (расчетный суммарный уровень МАД) сыворотки и эритроцитов. Если АС в эритроцитах и сыворотке больных эпилепсией повышается почти одинаково ($+53,6 \pm 4,0$ и $+48,3 \pm 3,7$ соответственно), то ПС в эритроцитах снижается на $26,6 \pm 2,3\%$, а в сыворотке, наоборот, повышается на $67,1 \pm 4,4\%$ по сравнению с показателями донорской крови. Снижение ПС в эритроцитах приводит к снижению необходимого для нормального жизнеобеспечения организма уровня активных форм кислорода, создавая тем самым определенный дисбаланс между продуцирующими и утилизирующими АФК системами в эритроцитах и сыворотке. Это является новым механизмом оксидативного стресса в крови при эпилепсии у детей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оксужян Г.Р., Симосян М.А., Алексанян С.С., Симосян Р.М. Мед. наука Армении, 2, 21-26, 2001.
2. Симосян М.А., Симосян Г.М. Лицензия изобрет. Армпатента № 341, Ереван, 1997.
3. Симосян М.А., Симосян Г.М., Симосян Р.М. Лицензия изобрет. Армпатента № 908, Ереван, 2001.
4. Симосян Г.М., Симосян Р.М. и др. Мед. наука Армении, 2, 31-36, 2003.
5. Bellissimo M.Y., Arkado D. et al. *Epilepsia*, 46, 2, 121-128, 2001.
6. Cengiz M., Yuksel A., Seven M. *Pharmacol. Res.*, 41, 4, 423-425, 2000.
7. Martinez-Ballesteros C., Pita-Calandre E. et al. *Rev. Neurol.*, 38, 2, 101-106, 2004.
8. Singh R., Pathak D.N. *Epilepsia*, 31, 1, 15-26, 1990.
9. Solowiej E., Sobaniec W. *J. Neurol. Neurochir. Pol.*, 37, 5, 991-1003, 2003.
10. Sudha k., Rao A.V., Rao A. *Clin. Chem. Acta*, 303, 1-2, 19-24, 2001.
11. Turkdogan D., Toplan S., Karakoc Y. *J. Child. Neurol.*, 17, 9, 673-676, 2002.
12. Verrotti A., Basciani F., Trotta D. et al. *Epilepsy Res.*, 48, 1-2, 71-75, 2002.
13. Yuksel A., Cengiz M., Seven M., Ulutin T. *J. Basic. Clin. Pharmacol.*, 11, 1, 73-81, 2000.

Поступила 25.VIII.2004