

На правах рукописи



Слюсарева Ирина Владимировна

**ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ
ПРОЦЕССОВ В ЭРИТРОЦИТАХ И СЛЮНЕ ПРИ
ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ ДО И ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ**

03.00.04 – биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Ростов-на-Дону
2007

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Ростовский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Микашинович Зоя Ивановна

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор
Терентьев Владимир Петрович

доктор биологических наук, профессор
Горошинская Ирина Александровна
Ведущая организация: **Кубанский государственный
медицинский университет**

Защита состоится «29» мая 2007г. в 13 час на заседании диссертационного совета Д 208. 082. 01 ГОУ ВПО при Ростовском государственном медицинском университете (344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО Ростовского государственного медицинского университета.

Автореферат разослан «26» апреля 2007 г.

Ученый секретарь диссертационного
совета профессор

Н.Я.Корганов

Общая характеристика работы

Актуальность темы. Сосудистые заболевания головного мозга - актуальная медицинская и социальная проблема. На сегодняшний день в мире около 9 млн. человек страдают цереброваскулярными болезнями, среди которых основное место занимают инсульты, каждый год поражающие от 5,6 до 6,6 млн. человек и уносящие 4,6 млн. жизней (Е.И.Гусев, Скворцова В.И., 2003, М.А.Евзельман, 2006). По смертности цереброваскулярные заболевания уступают лишь заболеваниям сердца и опухолям всех локализаций, в экономически развитых странах этот показатель достигает 11 - 12 % (Bonita R., Asplund K., 1994). Миллионы людей, перенесших инсульт, становятся инвалидами. По прогнозам специалистов, в ближайшие годы существенного снижения заболеваемости инсультом ожидать не приходится. К 2020 году общая распространенность сердечно-сосудистых заболеваний увеличится почти на три четверти и более половины составят нарушения мозгового кровообращения (Скворцова В.И., Чазова И.Е., Стаховская Л.В., 2002).

В этой связи представляется актуальным поиск новых методов в лечении и профилактике мозговых катастроф. Несомненна важность знания этиопатогенеза и патофизиологических механизмов, возникающих при острых нарушениях мозгового кровообращения (ОНМК). Наибольшее клиническое значение с точки зрения этиологии в отношении ОНМК имеют артериальная гипертензия, атеросклероз, заболевания сердца с нарушением ритма, внутрисердечной гемодинамики и работы клапанного аппарата (Чанг Д.Б., Стейк ТА, 2001; Бокарев И.Н., 2000; Суслина З.А., Гераскина Л.А., Фоякин А.В., 2002).

Анализ структуры сосудистых заболеваний головного мозга демонстрирует увеличение частоты ишемических инсультов вследствие атеросклероза или его сочетания с артериальной гипертензией. Считается, что около 80% ишемических поражений возникает вследствие тромбоза и тромбоэмболии, 90% из них на фоне атеросклероза (Верещагин Н.В., 1997; Гусев С.И., Скворцова В.И., 2000).

Для раскрытия патогенетических механизмов формирования повреждения на тканевом и клеточном уровне существенный интерес представляет изучение роли системы крови в формировании компенсаторно-приспособительных реакций. Эритроциты, тесно контактируя со всеми тканями и вступая с ними в морфо-функциональные взаимоотношения, собственной качественной и количественной перестройкой отражают происходящие в организме физиологические и патологические изменения (Микашинович З.И., 1989; Гаркави Л.Х. и соавт., 1990; Гаркави Л.Х. и соавт., 1998; Камышников В.С., 2000; Крыжановский Г.Н., 2001, 2002; Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., 2004; Павлюченко И.И., 2005). Полифункциональная роль эритроцитов в механизмах адаптации и компенсации в условиях гипоксии, газотранспортных процессах и осуществлении других жизненно важных функций объясняет высокую информативность результатов

изучения функциональных изменений в этих клетках (Kilfer C.R., Snyder L.M., 2000).

Экспериментальные исследования последних лет убедительно доказывают существование реципрокных взаимоотношений между компонентами крови, слюны и сосудистых показателей гомеостаза. Возникающие при нарушениях мозгового кровообращения нейрогуморальные сдвиги нашли отражение в изменениях антиоксидантных процессов, молекулярных механизмов регуляции оксигенации в этих биологических жидкостях (Переслегина И.А., 1989; Коваленко А.В., Соколов М.А., 1999; Хозин А.А., 2002).

Формирование ишемического инсульта сопровождается сложным каскадом биохимических реакций в тканях головного мозга и системе крови, что обуславливает сложность выбора единственно правильного метода терапевтического или физического воздействия (Даудова Л.М., 2006). В связи с этим актуальным является поиск новых эффективных схем ведения раннего постишемического периода, позволяющих мобилизовать собственные резервы организма для преодоления функциональных проявлений заболевания.

Целью исследования является выяснение особенностей перестройки обменных реакций в эритроцитах и слюне больных в острой фазе ишемического инсульта после воздействия саморегулирующегося нейростимулятора СКЭНАР.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности обеспечения газотранспортной функции эритроцитов больных ишемическим инсультом до и после лечения аппаратом СКЭНАР.
2. Определить активность некоторых ферментов углеводного обмена в эритроцитах больных ишемическим инсультом до и после лечения.
3. Выявить особенности обеспечения антиоксидантной защиты в эритроцитах больных до и после применения СКЭНАР-воздействия.
4. Определить активность ферментов и уровень метаболитов, характеризующих интенсивность гликолитических процессов в слюне больных до и после лечения.
5. Проанализировать состояние антиоксидантной защиты в слюне больных до и после СКЭНАР-терапии.
6. Отобрать информативные биохимические критерии, позволяющие оценить эффективность проводимой терапии.

Научная новизна:

В настоящей работе впервые осуществлено исследование, основанное на определении биохимических особенностей крови и слюны при развитии острого нарушения мозгового кровообращения и изменении этих показателей на фоне воздействия на кожные покровы пациента, параллельно с тра-

диционными схемами лечения аппаратом семейства СКЭНАР. Впервые доказано, что применение самоконтролируемого электронейроадаптивного регулятора СКЭНАР в острую фазу ишемического инсульта вызывает корригирующие сдвиги в антиоксидантной защите, кислородном и энергетическом обеспечении эритроцитов, что способствует повышению их функциональной активности, необходимой для адекватного транспорта кислорода. Данные изменения имеют свои особенности и являются важным звеном организации компенсаторных реакций на системном уровне.

Впервые показано, что характер биохимических изменений в слюне больных после СКЭНАР-терапии сочетается с улучшением процессов микроциркуляции и увеличением мощности наиболее эффективных механизмов антиоксидантной защиты.

Впервые на основании анализа направленности изменений молекулярных адаптивных механизмов доказано, что применение аппарата семейства СКЭНАР эффективно в первые дни заболевания.

Научно-практическая значимость работы

Полученные данные будут способствовать расширению представлений о формировании патобиохимических механизмов формирования ишемического повреждения головного мозга и их коррекции СКЭНАРом. Фактический материал о влиянии нейроадаптивного стимулятора СКЭНАР на биохимические адаптационные механизмы будет использован для разработки схем целенаправленного воздействия на отдельные звенья гомеостаза, что позволит на фоне терапевтического воздействия мобилизовать собственные адаптационные возможности организма для преодоления проявлений болезни. Материал исследования позволит разработать и внедрить в практику врачей-неврологов высокоинформативные критерии, позволяющие оценить эффективность проводимого лечения.

Результаты исследования будут использоваться в учебном процессе кафедры общей и клинической биохимии №1 и кафедрах нервных болезней №1, №2 РостГМУ, в практике врачей-неврологов МЛПУЗ «ГБ №1 им. Семашко» г. Ростова-на-Дону.

Публикации и апробация работы

Основные положения диссертационной работы доложены на V-ой международной конференции «Обмен веществ при адаптации и повреждении» (Ростов-на-Дону, 2006), на 61-й Итоговой конференции студентов, молодых учёных и специалистов (Ростов-на-Дону, 2007).

По материалам данного исследования опубликовано 5 печатных работ, из них 2 в центральной медицинской печати, 2 работы опубликованы в моноавторстве.

В завершённом виде диссертация апробирована на конференции сотрудников кафедры общей и клинической биохимии №1 РостГМУ.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В остром периоде ишемического инсульта в эритроцитах формируется аварийная перестройка метаболизма, направленная на повышение их функциональной активности для обеспечения кислородного гомеостаза мозга.
2. Характерными особенностями обменных процессов в ротовой жидкости больных в остром периоде заболевания является активация анаэробного гликолиза и депрессия ферментов антиоксидантной защиты.
3. После курса СКЭНАР-терапии в эритроцитах больных выявлено снижение уровня 2,3-ДФГ, указывающее на уменьшение тяжести гипоксии.
4. СКЭНАР-терапия способствует активации глутатион-зависимого звена, имеющего важное патогенетическое значение в формировании компенсаторных реакций при ишемическом инсульте.
5. Характер биохимических изменений в ротовой жидкости больных ишемическим инсультом после СКЭНАР-терапии отражает снижение окислительных деструктивных процессов в ЦНС.

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, выводов, библиографического указателя, содержащего 125 отечественных и 84 зарубежных источника. Объём диссертации - 104 печатные страницы ф. А4, включая 4 таблицы и 9 рисунков.

Содержание работы.

Материалы и методы исследования.

Основную группу составили 50 больных с острым ишемическим инсультом. Среди больных зарегистрировано 30 женщин и 20 мужчин в возрасте от 50 до 75 лет. Основным сосудистым заболеванием в подавляющем большинстве отмечено сочетание атеросклероза с артериальной гипертензией.

Оценивалась степень неврологического дефицита: речевой функции (возможность воспроизведения речи и ее понимания), степень двигательного дефицита, появления патологических знаков, симптомов орального автоматизма, а также наличие и степень выраженности общемозговой симптоматики.

Больным клинической группы проводилось воздействие на кожные покровы аппаратом СКЭНАР по схеме, предложенной особым конструкторским бюро «Ритм» (бюро-разработчик). Согласно схеме, в первые 5 суток после развития инсульта воздействие проводилось дважды в день, в последующие 5 суток - 1 процедура в день в утренние часы. Использовался комфортный режим воздействия (когда пациент ощущал легкое покалывание и вибрацию), воздействие на уровне болевого порога (когда ощущение больного на пределе терпимого) и воздействие интенсивное (ощущение между комфортным и болевым порогом). Усиление воздействия происходило от процедуры к процедуре.

Частота воздействия колебалась над мелкими мышцами от 40 до 90 Гц, над крупными мышцами свыше 320 Гц в сочетании с частотами 15- 90 Гц. Необходимо отметить, что в первые дни лечения частота изменялась и комбинировалась в течение процедуры.

Модуляция (отношение времени воздействия к паузе) изменялась от «3:1» к «1:1», причем режим «1:1» являлся завершающим и более длительным. Во второй половине курса лечения модуляция изменялась от «3:1» к «5:1» с возвратом к «3:1», с переходом на «качающуюся» частоту.

Воздействие проводилось на пораженные конечности, сочетая и чередуя их по принципу: правая рука - левая нога, внутренняя поверхность - наружная поверхность, дистальный отдел - проксимальный отдел в субъективно-дозированном режиме. При обнаружении зон «малой ассиметрии» проводилась их обработка до исчезновения. Такая методика была применена в первые пять дней от момента лечения.

Во вторые пять дней от момента лечения применялась методика в индивидуально-дозированном режиме по принципу «три дорожки» и «шесть точек» (места выхода тройничного нерва из костей черепа). Частота колебалась от 60 до 90 Гц, воздействие комфортное или на уровне болевого порога.

Забор крови и слюны у больных осуществлялся в первые и последние сутки в течение лечебного курса.

Контрольную группу составили 35 человек без выраженной неврологической симптоматики, сопоставимые по возрасту с клинической группой.

Метаболические изменения в эритроцитах и слюне оценивали по комплексу биохимических показателей, характеризующих субстратно-ферментные процессы гликолиза и гликогенолиза. Для углубленного анализа функционального состояния эритроцитов оценивали их газотранспортную функцию по уровню 2,3-дифосфоглицерата. Наряду с этим изучались показатели, характеризующие процессы перекисного окисления липидов и состояние антирадикальной защиты. Для определения активности ферментов в эритроцитах использовали 20% гемолизат. Ротовую жидкость подвергали центрифугированию, для биохимических исследований использовали надосадочную жидкость.

Активность фосфогексоизомеразы определяли по методу Р.Ф. Езерского (1960) в описании З.И. Микашинович и соавторов (2004). Активность фосфорилазы определяли по принципу метода Д.Л. Фердмана и Е.Ф.Сониной, описанному З.И. Микашинович и соавторами (2004). Активность глутатионпероксидазы определяли по методу, описанному А.И.Карпищенко и др. (1999). Активность глутатионредуктазы определяли по скорости окисления НАДФН+Н методом Юсуповой Л.Б. (1989). Активность ферментов выражали в мкмоль/г Нв или мкмоль/мг белка. Определение активности супероксиддисмутазы проводили по методу Misra Н.Р. и Fridovich J. (1972), в модификации Саркисяна О.Г. (2000). Результат выражали в условных единицах на 1 г Нв или мг белка в мин. Активность катала-

зы определяли методом, предложенным Королюк и др. (1988). Определение концентрации восстановленного глутатиона проводили методом Ellman G.L.(1959). Результаты выражали в мкмоль/ г НЬ или мг белка. Определение концентрации мочевины проводили унифицированным методом по реакции с диметилмонооксимом с использованием набора реагентов «ЭКОлаб» (Санкт-Петербург). Концентрацию внеэритроцитарного гемоглобина определяли спектрофотометрическим методом, описанным Каракшевым А.В., Вечевым В.П. (1968). Полученные результаты выражали в ммоль/л.

Определение количества церулоплазмينا проводилось по методу Ревина, описанному Кольб В.Г., Камышниковым В.С. (1982), который базируется на окислении п-фенилендиамина при участии церулоплазмينا. Результат выражали в мкмоль/л.

Для изучения состояния газотранспортной функции эритроцитов определяли концентрацию 2,3-дифосфоглицерата методом Dyse, Bessman в модификации Лугановой И.С, Блиновым М.Н. (1975), пировиноградной кислоты по Фридеману и Хаугену в модификации П.М. Бабаскина (А.С. СССР №877436, 1981), молочной кислоты по реакции с параоксидифенилом, описанной В.В. Меньшиковым (1987).

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили согласно общепринятым методам с определением средней арифметической ошибки с использованием программы STATISTICA, версия 6.0. О достоверности отличий учитываемых показателей сравниваемых групп судили по величине t-критерия Стьюдента после проверки распределения на нормальность. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p < 0,05$.

Результаты работы и их обсуждение.

Результаты исследования отражают особенности кислород-транспортной функции эритроцитов, углеводного обмена и антиоксидантной защиты у больных с острым нарушением мозгового кровообращения до и после воздействия СКЭНАР.

Эритроциты.

В эритроцитах больных в острый период заболевания было выявлено достоверное увеличение активности фосфорилазы на 167,82% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой, что указывает на необходимость быстрой мобилизации глюкозы из «резервного фонда». Однако активность одного из ферментов гликолиза - фосфогекосизомеразы - достоверно не изменилась относительно контрольной группы, что указывает на сохранение скорости включения глюкозы в окислительные процессы в физиологических границах.

Установлено, что острый период заболевания характеризуется значительным увеличением концентрации 2,3-дифосфоглицерата на 188,42% ($p < 0,001$) в эритроцитах данной категории больных, что свидетельствует о

конформационных изменениях структуры гемоглобина (переход из R- в жёсткую T-конформацию) и приводит к снижению сродства гемоглобина к кислороду. Подобные изменения принято рассматривать как адаптационный механизм, направленный на улучшение снабжения тканей кислородом (Олемпиева Е.В., 2004).

В то же время отмечена тенденция к увеличению концентрации метаболитов гликолиза - лактата и пирувата - на 10,39% ($0,05 < p < 0,1$) и 36% ($p < 0,05$) соответственно относительно контрольной группы.

Согласно данным литературы, истощение внутренних энергетических резервов при недостаточной оксигенации приводит к замедлению дальнейшего окисления лактата и пирувата и накоплению их в клетках и тканях. Это способствует развитию метаболического ацидоза, что представляет собой дополнительный повреждающий фактор при гипоксии (Rovetto et al., 1975; Sutton J.R. et al., 1990).

Повреждающее действие гипоксии во многом определяется значительным усилением реакций свободно-радикального окисления (Пшенникова, 2002). В связи с этим представлялось перспективным оценить состояние антиоксидантной системы в эритроцитах и плазме крови больных.

Установлено, что острый период заболевания сопровождается значительным увеличением активности супероксиддисмутазы на 79,93% ($p < 0,001$) на фоне достоверного снижения активности каталазы на 18,52% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

Согласно современным представлениям, тезис о важнейшей защитной роли супероксиддисмутазы не столь очевиден, так как токсичность её субстрата - супероксидного анион-радикала не очень высока. Гораздо более опасен образующийся в результате супероксиддисмутазной реакции пероксид водорода, обладающий цитотоксическим действием, механизмы которого весьма разнообразны. В частности, под действием H_2O_2 может наблюдаться инактивация каталазы и глутатионпероксидазы (Pigeolet E. et al., 1990). В присутствии миелопероксидазы, пероксидазы эозинофилов и лактопероксидазы пероксид водорода может быть источником гипогалогенных кислот ($HOCl$, $HOBr$ и т.д.), которые также обладают цитотоксическим эффектом (McKeena S.M., Weiss S.J., 1989; Lovaas E., 1992). Кроме того, пероксид водорода даёт начало чрезвычайно агрессивному гидроксильному радикалу, поэтому при дефиците ГПО и каталазы высокая активность СОД служит дополнительным повреждающим фактором (Koningsberger J.S. et al., 1994).

В то же время в эритроцитах больных обсуждаемой группы не обнаружено достоверного изменения концентрации GSH относительно контрольной группы. Можно предположить, что такая тенденция связана с высокой активностью супероксиддисмутазы, которая образует с глутатионом своеобразную систему. По данным Munday R., Winterbourne C, (1989), СОД обеспечивает защиту от окисления внутриклеточного восстановленного глутатиона, который в восстановленном состоянии является эффек-

тивной ловушкой свободных радикалов. С другой стороны, такая ситуация может отражать снижение активности глутатонзависимого звена антиоксидантной защиты, которое является наиболее эффективным механизмом защиты от окислительного повреждения.

В плазме крови пациентов клинической группы в остром периоде инсульта выявлено значительное увеличение концентрации церулоплазмينا на 552,54% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Церулоплазмин считается одним из самых эффективных антиоксидантов плазмы крови, так как способен окислять ионы Fe^{2+} и тем самым ингибировать образование АКМ в реакции Фентона. Кроме того, церулоплазмин обладает супероксиддисмутазно-подобной активностью и способен эффективно взаимодействовать с супероксидным анион-радикалом. Однако высказывается предположение, что церулоплазмин выступает скорее прооксидантом, нежели антиоксидантом, так как эффективно индуцирует окисление липопротеинов низкой плотности (Ehrenwald E. et al., 1994).

Согласно полученным нами данным, острый период инсульта характеризуется достоверным повышением уровня внеэритроцитарного гемоглобина на 92,14% ($p < 0,001$) относительно контрольной группы. Внеэритроцитарный гемоглобин служит своеобразным маркером для оценки «биологической состоятельности» мембран эритроцитов при нарушениях мозгового кровообращения, и увеличение его концентрации является косвенным проявлением усиления липидной пероксидации и свидетельствует об увеличении деструкции и проницаемости мембран эритроцитов (Хозин А.А., 2002).

При определении концентрации мочевины в плазме крови пациентов достоверных изменений не обнаружено. Мочевина, с одной стороны, является показателем интенсивности деградации аминокислот и белков, и сохранение её физиологической концентрации может указывать на сохранение фонда тканевых белков. С другой стороны, мочевина может выступать эффективным антиоксидантом.

После СКЭНАР-воздействия в эритроцитах больных активность фосфоорилазы достоверно не изменилась относительно показателей до коррекции, относительно контрольной группы активность фермента была увеличена на 147,30% ($p < 0,001$). В то же время было выявлено значительное увеличение активности фосфогексоизомеразы на 173,45% ($p < 0,001$) по сравнению с показателями у пациентов до корригирующего влияния. По сравнению с контрольной группой активность фосфогексоизомеразы была увеличена на 136,61 % ($p < 0,001$).

Высокая активность ферментов углеводного обмена после воздействия СКЭНАРом может указывать на формирование компенсаторных механизмов, обеспечивающих поддержание функциональной целостности самих эритроцитов для адекватного выполнения основной их функции - транспорта кислорода. Наиболее полное представление может дать определение параметров, характеризующих кислородтранспортную функцию крови.

Как следует из полученных данных, после воздействия СКЭНАРом в эритроцитах пациентов выявлено снижение концентрации 2,3-дифосфоглицерата на 31,09% ($p < 0,05$) по сравнению с исходным показателем до лечения. Относительно контрольной группы данный показатель был увеличен на 98,74% ($p < 0,001$). Согласно представлениям Marti H.H. et al. (1997), характер изменения уровня 2,3-дифосфоглицерата является информативным показателем «надёжности» адаптационных механизмов, связанных с повышением эффективности функции системы транспорта и утилизации кислорода, а также залогом сохранения структурно-функциональной целостности эритроцитов. Несмотря на сохраняющийся анаэробный характер обменных процессов, снижение уровня 2,3-дифосфоглицерата указывает на уменьшение тяжести гипоксии.

Проводимое воздействие способствовало увеличению концентрации пирувата на 40% ($p < 0,001$) и лактата на 134,35% ($p < 0,001$) по сравнению с исходными показателями в клинической группе. В совокупности с увеличением активности фосфогексо-изомеразы такие изменения могут свидетельствовать об увеличении мощности гликолиза. При этом относительно контрольной группы уровень пирувата и лактата повышен на 90,91% ($p < 0,001$) на 158,70% соответственно.

После курса СКЭНАР-воздействия выявлено увеличение активности гликолитических ферментов и концентрации метаболитов гликолиза, что указывает на повышение функциональной активности эритроцитов.

На этом фоне активность супероксиддисмутазы достоверно не изменилась, активность каталазы ещё больше снизилась на 15,15% ($0,05 < p < 0,1$) относительно показателей клинической группы до воздействия. При этом относительно контрольной группы активность супероксиддисмутазы оставалась повышенной на 81,66% ($p < 0,001$), активность каталазы, напротив, была снижена на 30,86% ($p < 0,05$). Для многих ферментов, в том числе и для супероксиддисмутазы и каталазы, характерно явление перекрёстной регуляции активности (Marklund S., L., 1984; 1990). Для каталазы супероксидный анион-радикал является отрицательным эффектором, а H_2O_2 положительным, для СОД - наоборот (Дубинина Е.Е., 1998).

Вместе с тем после применения СКЭНАРа в эритроцитах выявлено достоверное снижение концентрации GSH на 24,72 % ($p < 0,05$) по сравнению с показателями до воздействия. Соответственно, по сравнению с контрольной группой данный показатель был снижен на 30,86% ($p < 0,001$).

Комплекс выявленных нами изменений, с одной стороны, может указывать на усугубление деструктивных окислительных процессов, с другой стороны, снижение концентрации GSH может свидетельствовать о вовлечении низкомолекулярных неферментативных антиоксидантов в осуществление защитных реакций. Кроме того, в исследовании, проведённом Хозиным А.А., (2002), отмечено важное патогенетическое значение системы обмена глутатиона в поддержании гомеостаза в системе антиоксиданты-

прооксиданты и снижение уровня GSH может быть связано с растормаживанием глутатионового звена при преходящих нарушениях мозгового кровообращения.

Вместе с тем в плазме крови выявлено достоверное снижение концентрации церулоплазмينا на 39,39% ($p < 0,001$) относительно показателей до воздействия. Относительно контрольной группы данный показатель оставался увеличенным на 295,48% ($p < 0,001$).

Необходимо отметить, что уровень мочевины в плазме крови после курса СКЭНАР-воздействия достоверно не изменился и оставался в пределах физиологической нормы. Однако обращает на себя внимание увеличение концентрации внеэритроцитарного гемоглобина на 17,78% ($0,05 < p < 0,1$) относительно исходных показателей клинической группы. По сравнению с контрольной группой данный показатель был увеличен на 126,07% ($p < 0,001$).

Такой характер изменений в плазме крови после курса СКЭНАР-воздействия свидетельствует о сохранении процессов окислительной деструкции и усилении прооксидантной активности гемоглобина. С другой стороны, нельзя не отметить положительные стороны проводимой коррекции обменных сдвигов. Обращает на себя внимание снижение уровня церулоплазмينا и сохранение фонда мочевины плазмы крови в физиологической концентрации. Последний факт свидетельствует о сохранении фонда тканевых белков и антиоксидантного потенциала организма (Виноградов А.Ю., 1994).

Ротовая жидкость.

Выявлено, что острый период инсульта характеризуется значительным увеличением в слюне обследуемых больных активности фосфорилазы на 540,91% ($p < 0,001$) относительно контрольной группы, что свидетельствует об активном обеспечении мозга резервными полисахаридами для анаэробной ориентации метаболизма в целом. Повышение активности гликолитических процессов документируется и выраженным увеличением одного из ферментов гликолиза - фосфогексоизомеразы на 516,61% ($p < 0,001$) относительно контрольной группы. Тем не менее, концентрация лактата и пирувата достоверно не изменилась, что может рассматриваться как демонстрация ограниченной способности мозга к анаэробному гликолизу (таб. 3; рис. 5).

По данным Хозина А.А. (2002), проводившего исследование в более поздние сроки, в слюне больных ИИ наблюдается значительное увеличение уровня лактата и снижение концентрации пирувата. Такая ситуация, по-видимому, связана с особенностями энергетических процессов в головном мозге, отличительной чертой которых является преимущественное окисление глюкозы в реакциях аэробного гликолиза. В условиях острой гипоксии, сопровождающей манифестацию инсульта, происходит постепенная блокада аэробных путей утилизации пирувата и его окисление в лактат. Лактатный метаболический ацидоз обуславливает рост концентрации H^+ и сдвиг рН, что затормаживает активность ферментов аэробного биологического окисления и активирует анаэробный гликолиз (Шевченко Ю.Л., 2000).

Можно сказать, что в таких условиях формируется порочный круг, в котором возрастающая интенсивность гликолиза «разбивается» об ограниченную способность мозга обеспечивать адекватную утилизацию глюкозы в условиях дефицита кислорода, что усугубляет деструктивные процессы в мозге, вызывает нарушение ионного гомеостаза и процессы нейрональной проводимости.

При изучении активности ферментов антиоксидантной защиты установлено, что в слюне больных ишемическими инсультами активность ферментов первой линии антиоксидантной защиты - супероксиддисмутазы и каталазы была снижена на 36,89% ($p < 0,001$) и 19,93% ($p < 0,02$) соответственно по сравнению с контрольной группой, что указывает на депрессию механизмов антиоксидантной защиты.

Вместе с тем в слюне больных обсуждаемой группы выявлено достоверное увеличение концентрации восстановленного глутатиона на 517,39% ($p < 0,001$) и снижение уровня ВЭГ на 14,86% ($0,05 < p < 0,1$) относительно контрольной группы.

В слюне больных обсуждаемой группы наблюдается достоверное увеличение концентрации мочевины на 84,87% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. С одной стороны, это может указывать на увеличение окислительного распада белков. С другой стороны, мочевина и другие азотсодержащие компоненты биологических жидкостей: мочевая кислота, аммиак, аминокислоты и пептиды - играют важную регуляторную роль в организме. Изменение условий среды отражалось на интенсивности обмена азотсодержащих соединений, а изменение метаболизма последних могло определять адаптивные способности организма.

Мочевина легко проникает через гистогематические барьеры, в том числе и через гематоэнцефалический. Протекторное действие мочевины развивается по двум направлениям: стабилизация биомембран и модификация активности ферментов. Так, мочевина тормозит окисление Fe^{2+} кислородом, связанное с генерацией гидроксильного радикала, и, по мнению Кричевской А.А. и соавторов (1983), повышение её концентрации можно рассматривать как реализацию защитных антиоксидантных свойств организма (цит. по Виноградову А.Ю., 1994).

Однако в слюне больных обсуждаемой группы выявлено достоверное снижение концентрации церулоплазмينا на 85,67% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Данные изменения, напротив, могут указывать на усиление свободно-радикального окисления индуцированного ионами Fe^{2+} , так как считается, что церулоплазмин вместе с трансферрином образует своеобразную систему, обеспечивающую депонирование железа и, таким образом, выведение его из реакции Фентона.

После СКЭНАР-воздействия в слюне больных была отмечена несколько иная картина. Отмечено достоверное снижение активности фосфорилазы на 51,77% ($p < 0,001$), фосфогексоизомеразы на 22,93% ($p < 0,05$) и кон-

центрации лактата на 31,88% ($p < 0,05$) относительно показателей до коррекции, что может рассматриваться как тенденция к нормализации трофики и энергетики мозга. Однако по сравнению с контрольной группой активность фосфорилазы всё еще была увеличена на 210% ($p < 0,001$), ФГИ на 330,77% ($p < 0,001$), тогда как уровень лактата снижен на 39,11% ($p < 0,05$).

Необходимо отметить значительное увеличение концентрации пирувата в слюне больных обсуждаемой группы на 133,33% ($p < 0,001$) относительно уровня до применения СКЭНАРа. По сравнению с контрольной группой отмечали превышение показателя на 172,22% ($p < 0,001$). Подобная тенденция указывает на растормаживание путей утилизации пирувата, с одной стороны. С другой стороны, согласно данным литературы, пируват обладает выраженным протекторным действием при гипоксии и способствует улучшению процессов микроциркуляции, что также может расцениваться как положительный эффект проводимого воздействия (Микашинович З.И., 1989).

После воздействия СКЭНАРом в слюне больных выявлено дальнейшее снижение активности СОД на 36,89% ($p < 0,001$), тогда как активность каталазы, напротив, увеличилась на 34,85% ($p < 0,05$) по сравнению с показателями больных до корригирующего воздействия. При этом относительно контрольной группы активность СОД была снижена на 64,22% ($p < 0,001$), активность каталазы достоверно не отличалась. Выше указывалось, что для супероксиддисмутазы и каталазы, так же, как и для многих ферментов, характерно явление перекрёстной регуляции, когда для каталазы супероксидный анион-радикал служит отрицательным эффектором, а пероксид водорода - положительным, а для супероксиддисмутазы - наоборот. Кроме того, существует мнение о том, что восстановление пероксида водорода может служить дополнительным источником молекулярного кислорода (Январёва И.Н. и др., 2001) и возвращение её активности к физиологическим показателям также может расцениваться как положительный эффект СКЭНАР-воздействия.

В то же время нами обнаружено дальнейшее достоверное увеличение концентрации GSH на 13,38% ($0,05 < p < 0,1$) по сравнению с показателями до применения СКЭНАРа. Относительно контрольной группы концентрация глутатиона была увеличена на 600% ($p < 0,001$). В обзоре, представленном Кулинским В.И. и Колесниченко Л.С. (1990), убедительно показано, что именно система глутатиона определяет устойчивость организма к окислительному воздействию.

В слюне больных после СКЭНАР-воздействия выявлено достоверное снижение концентрации мочевины на 82,84% ($p < 0,001$) относительно показателей до воздействия. По сравнению с контрольной группой этот показатель был снижен на 68,27% ($p < 0,001$). Выше указывалось, что мочевина может легко проникать через гематоэнцефалический барьер и мигрировать в кровотоки. Показано, что она способна включаться в комплекс с гемоглобином, снижая его стимулирующее действие на перикисное окисление ли-

пидов (цит. по Виноградову А.Ю., 1994).

В качестве положительной динамики можно расценивать и увеличение концентрации церулоплазмينا на 68,07% ($p < 0,001$) относительно показателей до СКЭНАР-воздействия. По сравнению с контрольной группой уровень церулоплазмينا ещё оставался сниженным на 75,91% ($p < 0,001$).

Косвенным показателем состояния мембран является концентрация внеэритроцитарного гемоглобина. Установлено, что после СКЭНАР-терапии уровень этого метаболита снизился на 90% ($p < 0,001$) по сравнению с больными до корригирующего воздействия. Относительно контрольной группы уровень внеэритроцитарного гемоглобина был снижен на 91,49%, что может указывать на увеличение «прочности» тканевых барьеров.

На рисунках 1-2 представлены наиболее значимые изменения после применения нейроадаптивного стимулятора СКЭНАР:



• - достоверно относительно контрольной группы.

Рис. 1. Изменения содержания субстратов и ферментов в эритроцитах больных после СКЭНАР-воздействия.



• - достоверно относительно контрольной группы.

Рис. 2. Изменения содержания субстратов и ферментов в слюне больных после СКЭНАР-воздействия.

На основании представленных результатов можно сделать следующие выводы:

Выводы

1. Особенностью обменных процессов в остром периоде ишемического инсульта является аварийная перестройка метаболизма эритроцитов, направленная на повышение их функциональной активности для обеспечения кислородного гомеостаза мозга.
2. В слюне больных ишемическим инсультом в остром периоде заболевания формируется комплекс изменений, характерный для гипоксического поражения - депрессия ферментов антиоксидантной защиты и активация гликогенолиза.
3. После СКЭНАР-воздействия в эритроцитах больных регистрируется уменьшение концентрации 2,3-ДФГ, что свидетельствует о снижении тяжести гипоксии.
4. После применения СКЭНАРа выявлена активация глутатиозависимого звена в эритроцитах и снижение концентрации церулоплазмينا в плазме крови.
5. После корректирующего воздействия СКЭНАР регистрируется уменьшение уровня мочевины в слюне.
6. Характер изменения показателей антиоксидантной защиты в слюне после курса СКЭНАР-терапии свидетельствует о снижении окислительных деструктивных процессов в ЦНС.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Слюсарева И.В. Влияние нейроадаптивного стимулятора СКЭНАР на обменные процессы в эритроцитах и слюне больных ишемическим инсультом. //Труды V-й международной конференции «Обмен веществ при адаптации и повреждении». — Ростов-на-Дону, 2006.-С. 183-185.
2. Микашинович З.И., Слюсарева И.В., Белоусова Е.С. Нейростимулятор СКЭНАР в комплексной терапии больных ишемическим инсультом.//Врач.-2007. - №3. - С.115-116
3. Слюсарева И.В., Белоусова Е.С., Рамазанова О.Р., Даниэлян И. СКЭНАР-терапия - перспективный метод лечения ишемического инсульта. //Труды VI-й международной конференции «Обмен веществ при адаптации и повреждении». - Ростов-на-Дону, 2007.-С.48-49
4. Слюсарева И.В., Ширанов К.А., Бобылев Д.//Аннотации докладов и материалов 61-й Итоговой конференции молодых учёных. -Ростов-на-Дону, 2007. - С.93

Сокращения:

1. ОНМК - острые нарушения мозгового кровообращения;
2. СКЭНАР - саморегулирующийся энергонеуростимулятор;
3. 2,3 ДФГ - дифосфоглицерат;
4. ЦНС - центральная нервная система;
5. СОД - супероксиддисмутаза;
6. ФГИ - фосфогексоизомераза;
7. ЦП - церулоплазмин;
8. ВЭГ - внеэритроцитарный гемоглобин.