

УДК 616.12-018.74-008.6:616.831-005:577.115  
DOI:10.24061/2413-0737/XXI.2.82.1.2017.13

*В.М. Пашковський, І.І. Кричун, Н.В. Васильєва, О.Б. Яремчук, І.І. Білоус*

## ЕНДОТЕЛІАЛЬНА ДИСФУНКЦІЯ ТА ПОКАЗНИКИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ХВОРОБОЮ ПАРКІНСОНА

Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці

**Резюме.** Стаття присвячена вивченню показників ендотеліальної дисфункції, оксидантної та глутатіонової систем крові у пацієнтів із хворобою Паркінсона. Продемонстрована ендотеліальна дисфункція на тлі активації оксидантної системи.

**Ключові слова:** ендотеліальна дисфункція, оксидантний стрес, хвороба Паркінсона.

**Вступ.** Хвороба Паркінсона – це одне із найпоширеніших нейродегенеративних захворювань нервової системи, яке посідає друге місце після хвороби Альцгеймера [3].

Згідно з офіційною статистикою МОЗ України на 01.01.2012 року в Україні зареєстровано 23076 хворих на хворобу Паркінсона, що становить 61,4 на 100 тис. населення. Щорічно у світі реєструється від 2300 до 2500 вперше виявлених хворих на цю недугу [4]. Захворюваність паркінсонізмом не залежить від статі, раси, соціального статусу, виду трудової діяльності, регіону проживання. Факторами ризику розвитку захворювання вчені вважають, насамперед, вік. Доведено, що в процесі старіння в людини зменшується кількість дофаміну в мозку: кожні 10 років життя на 10 %.

Також вже доведено, що на вироблення дофаміну в мозку впливають багато факторів: психоемоційний стрес, несприятливий вплив навколишнього середовища, вживання деяких ліків та супутня судинна патологія на фоні атеросклерозу та артеріальної гіпертензії [2]. Разом з тим на сьогодні існує мало досліджень стану ендотелію та процесів пероксидного окиснення ліпідів при хворобі Паркінсона.

**Мета дослідження.** З'ясувати стан ендотеліальної функції та стан процесів пероксидного окиснення ліпідів у пацієнтів із хворобою Паркінсона для подальшого удосконалення комплексного лікування таких осіб.

**Матеріал і методи.** З метою дослідження вираженості ендотеліальної дисфункції та можливих її механізмів, зокрема процесів апоптозу ендотеліоцитів, обстежено 55 хворих на хворобу Паркінсона. Середній вік обстежених пацієнтів склав  $55,3 \pm 8,59$  року. Хворі перебували на лікуванні в неврологічних відділеннях поліклінік та стаціонарах м. Чернівці.

Контрольні дослідження виконані за допомогою донорів, середній вік яких становив 35-60 років.

Діагноз хвороби Паркінсона встановлювався на основі даних клінічного неврологічного обстеження з використанням базисних критеріїв, які підтверджують діагноз хвороби Паркінсона, таких, як однібочний початок проявів захворювання, наявність тремору спокою, постійна асиметрія з більш вираженими симптомами на боці тіла,

з якого почалося захворювання, прогресуючий перебіг хвороби та позитивний леводопа-тест [4].

Леводопа-тест проводився шляхом прийому пацієнтом протягом п'яти днів леводопамісного препарату українського виробництва Левоком у добовій дозі 250 мг, після чого реєструвався ступінь змін (зменшення) показників рухових функцій за допомогою спеціалізованої шкали Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS; III частина, моторна активність) [7].

Стадійність захворювання визначалась за міжнародною шкалою М. Hoehn и М. Yahr (1967) в модифікації Lindvall (1987) [4].

За переважанням провідного симптому в тріаді рухових порушень виділяли клінічну форму хвороби Паркінсона: акінетико-ригідно-тремтливую, ригідно-акінетико-тремтливую або тремтливо-акінетико-ригідну.

На момент проведення дослідження всі пацієнти приймали стандартну патогенетичну терапію, яка включала неерголіновий агоніст дофамінових рецепторів праміпексол у загальній добовій дозі 1,5 мг та амантадину сульфат (ПК-Мерц) 0,1 два рази на день.

Окрім того, у всіх пацієнтів проводилися загальноприйняті лабораторні обстеження, рутинні інструментальні методи обстеження: електрокардіограму, екстра та транскраніальну ультразвукову доплерографію, електроенцефалографію, рентгенівську комп'ютерну томографію та магнітно-резонансну томографію голови.

Кров для імуноферментних та біохімічних методів дослідження збирали з ліктьової вени вранці, натщесерце.

Вміст у крові фібронектину, розчинних форм молекул судинної адгезії sVCAM-1 і sE-селектину досліджували імуноферментним аналізом з використанням реактивів фірми "Beckman Coulter" (США). Активність ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ) визначали біохімічно на спектрофотометрі "СФ-46" (Росія) за допомогою реактивів ("Buhlmann Lab. AG", Швейцарія).

У роботі використовували набори реактивів для імуноферментного визначення вмісту в плазмі крові APO1/Fas (CD95), sFas-L, білка p53, фактора некрозу пухлин  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), зв'язаного з фактором некрозу пухлин апоптозіндукуючого ліганду (sTRAIL) (Diacclone Res., Франція) та біохіміч-

ного дослідження активності каспаз-1, -3, -8 (BioVision, США) з реєстрацією на ридері “Уніплан-М” (Росія).

Стан оксидантної системи (ОС) вивчали за показниками процесу пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). З цією метою спектрофотометрично досліджували вміст сполук з ізольованими подвійними зв'язками (ІПЗ) – 220 нм, дієними кон'югатами (ДК) – 232 нм, кетодієнами та спряженими триєнами (КД і СТ) – 278 нм із розрахунку на 1 мл крові. Вміст малонового альдегіду (МА) визначався за його реакцією з тіобарбітуровою кислотою.

Стан захисної ОС оцінювали за активністю глутатіон-трансферази (ГТ) [КФ 2.5.1.18] і визначали в нмоль на 1 мл плазми за 1 хвилину. Методика побудована на принципі знаходження кількості відновленого глутатіону (GSH), яка пішла на кон'югацію з 1-хлор-2,4-динітробензолом під дією ферменту плазми крові. Про активність глутатіонпероксидази (ГП) [КФ 1.11.1.9] судили за кількістю ГSSG, що утворився при знешкодженні пероксиду водню в глутатіонпероксидазній реакції і виражали в ммоль на 1 мл крові за 1 хвилину.

Статистична обробка матеріалів дослідження виконувалася з використанням різних критеріїв значимості диференційовано – залежно від типу вихідних даних. Так, для парних досліджень у динаміці процесу був використаний парний критерій Стьюдента, для показників, виражених у частках одиниці або відсотках – використовувалося кутове Фі-перетворення Фішера. Статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою програми “BioStat” та програми Excel з пакета програм Microsoft Office 2007.

#### Результати дослідження та їх обговорення.

Аналіз перебігу та клінічної симптоматики хвороби Паркінсона показав, що у всіх обстежених пацієнтів були наявні чіткі ознаки моторних порушень паркінсонічного типу. Разом з тим нами був зафіксований цілий ряд нестандартних немоторних проявів хвороби Паркінсона. Зокрема, цефалгічний синдром був характерний для всіх обстежених хворих, з переважанням головного болю в лобних ділянках (65 %) та позитивною

реакцією на кофеїновмісні анагетіки, такі, як копаціл. Також у групі обстежених хворих частими були вегетативно-судинні пароксизми – у 88,9 %.

При аналізі показників ендотеліальної дисфункції (ЕД) виявлено наступне (табл. 1): у хворих на хворобу Паркінсона порівняно з контролем вірогідно підвищується активність ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ), на цьому тлі зростають концентрації фібронектину, розчинних молекул судинної адгезії та розчинного Е-селектину. Іншими словами, при хворобі Паркінсона з'являються в крові маркери ЕД [1].

Аналіз факторів апоптозу ендотеліоцитів виявив наступне (табл. 2). У хворих на хворобу Паркінсона, порівняно з контролем, знижується концентрація в плазмі крові молекул sCD95 та зростає концентрація розчинного апоптозіндукуючого ліганду до фактора некрозу пухлин (sTRAIL). Окрім того, в обстежених відзначено зниження рівня білка P53 (табл. 3).

При дослідженні стану ПОЛ встановлено зростання рівня МА, ДК, ІПЗ, КД та СТ (табл. 4). Дослідження вмісту ДК і МА у суспензії еритроцитів у обстежених у всіх випадках виявлялося збільшення рівня цих продуктів у мембранах еритроцитів. Так, при ДЕ II ст. рівень ДК зростав на 19 % порівняно з нормою. Аналогічні дані отримано при дослідженні рівня МА у суспензії еритроцитів. Таким чином, при хворобі Паркінсона активуються процеси ПОЛ, які поглиблюються в зв'язку з погіршенням мозкового кровообігу і патологічного стану судинної системи.

Однією із суттєвих причин посилення процесів ПОЛ у хворих на хворобу Паркінсона є зниження активності антиоксидантних глутатіонвмісних ферментів внаслідок порушення синтезу відновленого глутатіону, який значною мірою забезпечується ферментом глутатіон-редуктазою (табл. 5). У процесах нейтралізації продуктів ПОЛ активну участь бере глутатіон-пероксидаза, як “пастка” вільних радикалів. При хворобі Паркінсона активність цього ферменту знижена приблизно вдвічі, з чого можна дійти висновку, що посилення процесів ПОЛ і зниження активності

Таблиця 1

#### Активність ангіотензинперетворюючого ферменту та вміст фібронектину, молекул sVCAM-1 і sE-селектину в плазмі крові хворих на дисциркуляторну енцефалопатію ( $\bar{x} \pm Sx$ )

Показники, що вивчалися	Контроль, n=15	Хворі на хворобу Паркінсона, n=63
Активність АПФ, од/1 мл за 1 год	0,489±0,034	0,880±0,034 p<0,001
Концентрація в плазмі крові фібронектину, мкг/мл	419,50±30,97	600,70±22,07 p<0,001
Концентрація в плазмі крові sVCAM-1, нг/мл	6,06±0,63	21,70±1,15 p<0,001
Концентрація в плазмі крові sE-селектину, пг/мл	2,92±0,39	8,94±0,55 p<0,001

Примітка. p – ступінь достовірності різниць показників відносно контролю; n – число спостережень

Таблиця 2

Вміст молекул sCD95, sFasL та sTRAIL у плазмі крові хворих на хворобу Паркінсона ( $x \pm Sx$ )

Групи хворих	sCD95, пг/мл	sFasL, пг/мл	sTRAIL, пг/мл
Контроль, n=15	118,50±10,09	200,40±16,28	392,80±16,38
Хворі на хворобу Паркінсона, n=63	87,47±4,90 p<0,01	180,60±9,3 p>0,4	460,50±23,37 p<0,05

Примітка. p – ступінь достовірності різниць показників відносно контролю; n – число спостережень

Таблиця 3

Вміст білка p53, фактора некрозу пухлин- $\alpha$  у плазмі крові хворих на хворобу Паркінсона ( $x \pm Sx$ )

Групи хворих	p53 од./мл	TNF- $\alpha$ , пг/мл
Контроль, n=15	25,66±2,64	35,98±3,68
Хворі на хворобу Паркінсона, n=63	62,86±3,54 p<0,001	53,70±3,11 p<0,05

Примітка. p – ступінь достовірності різниць показників відносно контролю; n – число спостережень

Таблиця 4

Динаміка показників оксидантної системи крові у хворих на хворобу Паркінсона, ( $M \pm m$ )

Показники	Контрольна група, n=28	Обстежена група хворих, n=60
Малоновий альдегід, мкмоль /л еритроцитів	21,22±0,21	38,51±0,54 p<0,001
Ізольовані подвійні зв'язки, E 220/мл крові	3,13±0,071	5,54±0,05 p<0,001
Дієнові кон'югати, E 232/мл крові	1,11±0,043	3,6±0,06 p<0,001
Кетодієни і спряжені триєни, E 278/мл крові	0,94±0,039	1,31±0,03 p<0,001

Примітка. p – вірогідність по відношенню до контрольної групи

Таблиця 5

Динаміка показників глутатіонової антиоксидантної системи крові у хворих на хворобу Паркінсона ( $M \pm m$ )

Показники	Контрольна група	Обстежена група хворих, n=60
Глутатіон-трансфераза, нмоль/мл плазми×хв	70,41±1,18 n=27	97,35±0,71 p<0,001
Глутатіон-пероксидаза, ммоль/мл крові×хв	20,48±0,46 n=27	11,33±0,24 p<0,001

Примітка. p – вірогідність по відношенню до контрольної групи

ферментів глутатіонзалежної антиоксидантної системи може розглядатися як важливий патогенетичний ланцюг розвитку хвороби Паркінсона, оскільки ліпоперекиси деструктивно впливають на білкові та ліпідні компоненти крові та мембрани клітин.

## Висновки

1. Хворобу Паркінсона характеризує однобічний початок проявів захворювання, наявність тремору спокою, постійна асиметрія з більш вираженими симптомами на боці тіла, з якого поча-

лося захворювання, початок захворювання з ведучої частини тіла (у правшів – з правої руки).

2. Одним із вузлових патогенетичних механізмів ініціації та формування хвороби Паркінсона є клітинно-мембранна дисфункція у вигляді активізації вільнорадикального окиснення, посилення пероксидного окиснення ліпідів мембран. Суттєву роль відіграє розвиток ендотеліальної дисфункції, що підтверджено вірогідним зростанням концентрації в плазмі крові хворих таких показників ендотеліальної дисфункції як фібро-

нектин, розчинні молекули судинної адгезії sVC-SAM-1, sE-селектин та активність АПФ.

**Перспективи подальших досліджень.** Проведене дослідження дозволяє коригувати патогенетичну терапію хвороби Паркінсона із застосуванням ендотеліотропних та антиоксидантних препаратів.

#### Література

1. Багмет М.А. Ремоделирование сосудов и апоптоз в норме и при патологии / М.А. Багмет // Кардиология. – 2002. – № 3. – С. 83-86.
2. Быканова М.А. Болезнь Паркинсона и функциональная асимметрия / М.А. Быканова, Н.В. Пизова // Асимметрия. – 2012. – Т. 6, № 1. – С. 4-16.
3. Дурманов Н.Н. Болезнь Паркинсона / Н.Н. Дурманов // Вопр. биол. мед. и фарм. химии. – 2013. – Т. 11, № 6. – С. 013-016.
4. Евтушенко С.К. Болезнь Паркинсона и паркинсонические синдромы / С.К. Евтушенко, Ю.И. Головченко, Е.А. Труфанов // Міжнар. неврол. ж. – 2014. – № 4 (66). – С. 16-31.
5. Садоха К.А. Болезнь Паркинсона: некоторые аспекты патогенеза и эффективное лечение / К.А. Садоха, Е.В. Мазуренко // Мед. новости. – 2012. – № 10 (217). – С. 35-39.
6. Суховерская О. Болезнь Паркинсона и паркинсонические синдромы: диагноз и лечение / О. Суховерская // Междунар. неврол. ж. – 2011. – № 6. – С. 16-24.
7. Determinants of the timing of symptomatic treatment in early Parkinson Disease: the National Institutes of Health Exploratory Trials in Parkinson Disease (NET-PD) Experience / S.A. Parashos, C.J. Swearingen, K.M. Biglan [et al.] // Archives of Neurology. – 2009. – Vol. 66, № 9. – P. 1099-1104.

### ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

*В.М. Пашковский, И.И. Кричун, Н.В. Васильева, О.Б. Яремчук, И.И. Білоус*

**Резюме.** Статья посвящена изучению показателей эндотелиальной дисфункции, оксидантной и глутатионовой систем крови у пациентов с болезнью Паркинсона. Продемонстрирована эндотелиальная дисфункция на фоне активации оксидантной системы.

**Ключевые слова:** эндотелиальная дисфункция, оксидантный стресс, болезнь Паркинсона.

### ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AND INDICES OF FREE RADICAL LIPID OXIDATION IN PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE

*V.M. Pashkovsky, I.I. Krychun, N.V. Vasylieva, O.B. Yaremchuk, I.I. Bilous*

**Abstract.** The article deals with a study of the indices of endothelial dysfunction, oxidant and glutathione blood systems in patients with Parkinson's disease. The endothelial dysfunction and activation of oxidant system has been demonstrated.

**Key words:** endothelial dysfunction, oxidative stress, Parkinson's disease.

Higher educational institution of Ukraine «Bukovinian State Medical University» (Chernivtsi)

Рецензент – проф. О.І. Волошин

Buk. Med. Herald. – 2017. – Vol. 21, № 2 (82), part 1. – P. 57-60

Надійшла до редакції 25.01.2017 року