

УДК 616.831-009.24-053.4 (575.2) (04)

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ СУДОРОЖНЫХ СОСТОЯНИЯХ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

А.Ш. Кадырова, С.Дж. Боконбаева

Проведено исследование и представлены результаты сравнительного анализа по определению уровня продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сыворотке крови у детей с судорожными состояниями.

Ключевые слова: судороги; эпилепсия; перекисное окисление липидов.

Исследованию патогенетических механизмов пароксизмальных состояний у детей долгое время не уделялось должного внимания в связи с господствующими представлениями об их исключительной доброкачественности и благоприятном прогнозе [1–3]. Актуальность проблемы в последнее время значительно выросла в связи с появившимися фактами, указывающими на возможность преемственной связи неэпилептических пароксизмов с развитием в последующем у этих больных эпилепсии [4–6].

Одним из важных аспектов эпилептогенеза является гипоксия головного мозга, ведущая к активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови [7–9]. Существует зависимость между интенсивностью перекисным окислением липидов (ПОЛ) и функциональной активностью ряда нейромедиаторных систем: холинергической, серотонинергической, нарушение работы которых приводит к снижению порога судорожной готовности и усилению процессов возбуждения в организме ребенка первых лет жизни [1, 4, 9, 10].

Проблема судорожных состояний у детей раннего возраста имеет многофакторный характер, что затрудняет освещение патогенетических и патофизиологических механизмов их развития. Следовательно, возникает необходимость нахождения отправной системы в цепи патогенетических расстройств в организме ребенка, которая позволит объяснить механизм возникновения судорог. Такой отправной системой может служить процесс свободнорадикального ПОЛ в организме, имеющего универсальное биологическое значение и чутко реагирующего на малейшее изменение гомеостаза организма.

Однако количество работ, посвященных изучению взаимосвязи ПОЛ с процессами эпи-

лептогенеза, единичны, а результаты противоречивы, что и обусловило актуальность настоящих исследований [4, 6, 8].

Цель работы: определить содержание продуктов ПОЛ в плазме крови у детей раннего возраста с судорожными состояниями.

Материалы и методы. Продукты ПОЛ определены у 52 детей. Опытную группу составили 43 ребенка с различными судорожными состояниями. Из них: 14 детей с аффективно-респираторными пароксизмами (АРП); 9 детей – с фебрильными судорогами (ФС); 11 детей – с судорожным синдромом (СС); 9 детей – с эпилепсией. Для сравнения показателей специальных методов обследования в качестве контрольной группы обследовано 9 здоровых детей в возрасте до 3 лет.

Определение содержания продуктов ПОЛ в плазме крови проводили спектрофотометрическим методом Пласег в модификации В.Б. Гаврилова и М.К. Мишкорудной (1983). Ход определения: к 4 мл экстрагирующей смеси гептан-изо-пропилового спирта в объемном соотношении 1:1 добавляют 0,2 мл плазмы крови. Экстрагирование проводится в течение 10 мин при периодическом встряхивании. После окончания экстракции добавляют 2 мл гептана и 1 мл раствора HCl с pH-2,0, все это интенсивно встряхивается и через 20–30 мин отбирают гептановый слой, в котором измеряют ультрафиолетовое поглощение липидных экстрактов на спектрофотометре. Принцип метода основан на интенсивности ультрафиолетового поглощения липидными экстрактами крови. Замеряли оптическую плотность на спектрофотометре СФ-26 на длинах волн: 212–220 нм – нейтральные липиды (НЛ), 232–234 нм – гидроперекисные липиды (ГПЛ),

Таблица 1

Сравнительные показатели ПОЛ в плазме крови у больных и здоровых детей

Группа	Кол-во	Показатель ПОЛ			
		НЛ, ед. оп.пл/мл	ГПЛ, ед. оп.пл/мл	ДК, ед. оп.пл/мл	ОИ
Контрольная	9	1,095±0,078	1,153±0,126	0,166±0,017	1,046±0,147
Больные с АРП	14	2,333±0,176**	2,53±0,166**	0,45±0,041***	0,981±0,097
Больные с фебрильными судорогами	9	1,944±0,302**	1,755±0,102**	0,515±0,079**	0,73±0,06*
Больные с судорожным синдромом	11	1,69±0,142**	1,572±0,193*	0,496±0,077**	1,04±0,064*
Больные с эпилепсией	9	4,576±0,408***	3,876±0,459***	2,15±0,417***	1,01±0,151

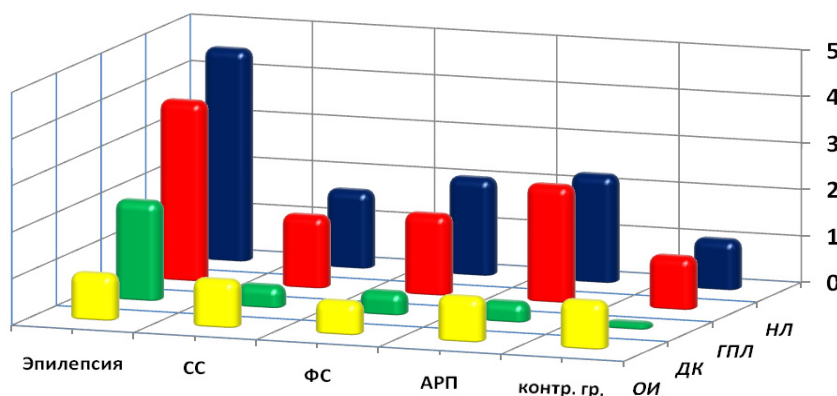
273–275 нм – диеновые кетоны (ДК). Результаты измерений выражали в относительных единицах оптической плотности на 1 мл плазмы крови. Расчет содержания перекисных продуктов производят по следующей формуле: D на 1 мл плазмы = $\frac{(D \times V_2)}{V_n} = 20 \times D$, где D – измеренное значение оптической плотности, $V_2 = 4$ мл – конечный объем гептанового экстракта и $V_n = 0,2$ мл – объем взятой плазмы крови. Такой результат измерений обусловлен тем, что расчет молярной концентрации ацилгидроперекисей для сложной смеси липидов практически невыполним. Величина окислительного индекса (ОИ) рассчитывалась соотношением содержания ГПЛ к НЛ.

Материал обработан методом вариационной статистики с использованием пакета статистической программы “Statistika”. Код достоверности при $p=95\%$, или $p<0,05(*)$, $p=99\%$, или $p<0,01(**)$, при $p=99,9\%$, или $p<0,001(***)$. Для определения чувствительности и специфичности методов использована специальная методика Флетчера Р., Флетчера С., Вагнера Э. (1998).

Результаты и обсуждение. У опытной группы детей, по сравнению со здоровыми детьми контрольной группы, наблюдается значительная активация процессов ПОЛ в плазме крови (табл.1).

По сравнению с контрольной группой у детей с АРП наблюдается двукратное увеличение содержания ГПЛ ($p<0,01$) и трехкратное ДК ($p<0,001$). В то же время окислительный индекс (ОИ) не достигает значимых изменений ($p>0,05$). Это обусловлено тем, что наряду с увеличенным содержанием перекисных продуктов, пропорционально увеличивается обмен липидов в плазме крови, что подтверждается повышенным содержанием НЛ ($p<0,01$), состоящих преимущественно из фракций триглицеридов и холестерина.

У детей с ФС, по сравнению с контролем, наблюдается достоверное увеличение содержания ГПЛ ($p<0,05$) и более выраженное (в 3 раза) увеличение содержания ДК ($p<0,001$). Уровень НЛ превышает показатель контрольной группы



Показатели ПОЛ при судорожных состояниях у детей

Таблица 2

Чувствительность и специфичность показателей ПОЛ
в плазме крови детей с судорожными состояниями, %

Показатель	Чувствительность, (Se), %	Специфичность, (Sp), %
НЛ	41	39
ГПЛ	78	71
ДК	92	94
ОИ	68	63

в 1,8 раз ($p < 0,01$), что при менее выраженном значении ГПЛ привело к достоверному снижению величины ОИ ($p < 0,05$). При сравнении с данными детей с АРП у детей с ФС отмечается достоверное снижение ГПЛ ($p < 0,05$), остальные показатели не достигают значимых изменений ($p > 0,05$).

В группе детей с СС в анализируемых показателях наблюдается следующая динамика: содержание НЛ и ГПЛ увеличено ($p < 0,05$), а концентрация ДК так же, как и в предыдущих группах, превышает контрольный показатель в 3 раза ($p < 0,001$), величина же ОИ не достигает достоверных значений ($p > 0,05$). По сравнению с показателями детей группы с АРП наблюдается значимое снижение НЛ и ГПЛ ($p < 0,05$). В сравнении с данными группы с ФС снижено содержание НЛ, а величина ОИ повышена ($p < 0,05$).

Более выраженная картина прослеживается у детей с эпилепсией, где наблюдается дальнейшая интенсификация липоперекисления, проявляющаяся в более значимых изменениях показателей ПОЛ как в сравнении с показателями здоровых детей, так и с показателями детей из других клинических групп. Так, содержание ГПЛ по сравнению с контрольным значением увеличивается в 3 раза, ($p < 0,001$), а ДК в 12 раз ($p < 0,001$). Величина ОИ не достигает видимых значений ($p > 0,05$), вследствие преимущественного увеличения содержания НЛ ($p < 0,001$) в 4 раза, относительно увеличения ГПЛ. По сравнению с показателями других клинических групп отмечается достоверно (от $p < 0,05$ – до $p < 0,001$) выраженная активация всех показателей ПОЛ (см. рисунок).

Как известно, диагностически тест обладает наибольшей информативностью, когда он одновременно имеет высокую чувствительность и высокую специфичность. Анализ показателей процессов ПОЛ выявил, что не все анализируемые данные обладают достаточно высокой чувствительностью и специфичностью (табл. 2).

Установлено, что наиболее информативными оказались показатели ГПЛ и ДК, обладающие и высокой чувствительностью и высокой специфичностью. Определение только этих показателей может быть использовано в клинической практике с дифференциально-диагностической целью.

С позиций изменений процессов ПОЛ у обследуемых групп детей представляется возможным объяснение некоторых механизмов развития судорожных состояний у детей.

Известно, что перекисное окисление – неспецифический процесс, являющийся ответной реакцией на любой стресс или патологическое воздействие. Чрезмерная активация ПОЛ ведет к глубоким нарушениям мембранных структур клеток. Это связано, прежде всего, с образованием межмолекулярных липид-липидных и липид-белковых связей, что приводит к изменению физико-химических свойств мембранного матрикса: снижается его тягучесть и повышается ригидность, нарушается ориентация жирнокислотных составляющих фосфолипидов, в результате чего повышается пассивная ионная проницаемость мембраны, особенно для ионов кальция.

Образование свободных радикалов тесно связано с метаболизмом кислорода в клетках. При гипоксии мозга, присущей судорожным состояниям, в результате ферментативных реакций или спонтанных биохимических процессов образуются промежуточные продукты, обладающие повышенной окислительной способностью.

Субстратами для перекисных радикалов, в первую очередь, в гидрофобной части клеток, являются ненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов. Восстановление молекулы кислорода протекает ступенчатыми этапами с образованием активных интермедиаторов клеток организма.

Сравнительная динамика изменений активности ПОЛ в исследуемых группах детей показывает, что повышается содержание как началь-

ных продуктов пероксидации липидов – ГПЛ, так и конечных – ДК. Причем уровень ДК имеет стабильно высокое значение у детей с АРП, ФС, СС, с резким увеличением (в 12 раз) в группе детей с эпилепсией. Это свидетельствует об истощении антиоксидантной системы, что способствует обвалному росту процессов радикалообразования с преимущественным образованием конечных продуктов пероксидации.

Токсическое действие образовавшихся в большом количестве свободнорадикальных продуктов проявляется в следующих явлениях:

- 1) инактивации сульфгидрильных групп крови;
- 2) активации фосфолипаз;
- 3) разобщении и подавлении окислительного фосфорилирования;
- 4) деформации митохондрий;
- 5) активации аутолитических процессов;
- 6) неспецифическом нарушении целостности и функционировании биологических мембран и, как следствие, нарушение метаболизма и деления клеток [2, 4, 7–9].

В результате аутоокисления ненасыщенных жирных кислот в кислородпотребляющих биологических системах при взаимодействии кислорода с восстановителями образуются активные формы кислорода, которые реагируют с жирными кислотами. Это приводит к появлению жирнокислотных радикалов.

При локализации в них неспаренного электрона происходит образование конъюгированных диенов, которые легко взаимодействуют с кислородом и образуют перекисные радикалы. Дальнейшее разветвление цепи ПОЛ происходит благодаря взаимодействию перекисных радикалов с фосфолипидами, в результате чего образуются гидроперекиси и новые фосфолипидные радикалы. Активация ПОЛ является результатом снижения активности ферментативной системы антиоксидантной защиты. Образование в повышенной концентрации начальных и конечных продуктов ПОЛ, оказывает системное повреждающее действие на клетку: белки, тиоловые соединения, ДНК. При этом происходит разобщение окислительного фосфорилирования митохондрий, дисбаланс клетки и активация лизосомальных ферментов.

Увеличение проницаемости биомембран и подавление ионных насосов под действием продуктов липидной пероксидации приводит к повышению концентрации натрия и кальция в цитоплазме. Направление потоков ионов натрия из внеклеточной среды во внутриклеточную является самоусиливающимся. Открытие

большого числа потенциал-зависимых натриевых каналов, в свою очередь, индуцирует избыточный выброс возбуждающих нейромедиаторов, прежде всего, глутамата. Внутриклеточная гипернатриемия и внеклеточная гиперкалиемия являются одним из механизмов ионного дисбаланса в нейронах эпилептического очага.

Другим механизмом является то, что мембрана нейронов-пейсмекеров, особенно в условиях гипоксии, становится легко проходимой для ионов кальция, что приводит к внутриклеточной гиперкальцемии. В ответ на нее в нейронах легко возникает спонтанный пароксизмальный деполяризационный сдвиг. Внутриклеточная гиперкальцемия губительна для нейронов, так как оказывает цитотоксическое действие непосредственно, а также через резкую активацию ПОЛ. Активация ПОЛ сопровождается дисбалансом внутриклеточной регуляции и активацией деструктивных ферментов, таких, как фосфолипаза A_2 и эндонуклеазы. Гидролиз фосфолипидов фосфолипазой приводит к дальнейшему нарушению барьерных свойств липидного бислоя, что способствует еще большему росту уровня кальция в цитоплазме. Порочный круг замыкается, и в клетках мозговой ткани возникает пароксизмальный сдвиг в нейронах с развитием судорожного состояния.

Таким образом, наши исследования показали, что определение параметров интенсивности ПОЛ отражает патофизиологические аспекты формирования состояния судорожной готовности у детей раннего возраста, а также могут явиться дополнительным диагностическим критерием метаболических расстройств в организме детей с пароксизмальными состояниями и иметь прогностическую значимость течения судорожного состояния. Кроме того, мембраностабилизирующая и антиоксидантная терапия должна облегчить или предупредить развитие пароксизмов у больных детей.

Литература

1. Гулямова Д.Н. Клиника и дифференциальная диагностика и подходы к терапии судорожных состояний у детей раннего возраста: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ташкент, 2002. 22 с.
2. Заплатников А.П., Коровина Н.А., Науменко Л.Л. Рациональное применение антипиретиков при фебрильных судорогах у детей // Российск. медицинск. журн. 2007. № 21. С. 6–10.
3. Медведев М.И. Судорожные и эпилептические приступы в педиатрической практике // Педиатрия. 2001. № 1. С. 57–61.

4. *Гузева В.И.* Эпилепсия и неэпилептические пароксизмальные состояния у детей. М., 2007. 563 с.
5. *Зенков В.Л.* Клиническая эпилептология. М., 2010. 563 с.
6. *Шибзухова М.С.* Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита организма при резистентных формах судорожных состояний у детей и обоснование терапии с использованием мембранотропных и антиоксидантных средств: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1999. 25 с.
7. *Атыканов А.О., Алексеев В.П.* Структура, функция клеточных мембран при гипоксических состояниях у детей и антиоксидантная терапия. Бишкек, 1998. 166 с.
8. *Таирова Г.К.* Клиника, диагностика и прогноз фебрильных судорог: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Алматы, 2002. 28 с.
9. *Флеров М.А., Толстухина Т.И.* Метаболизм фосфолипидов нейронов и нейроглии при судорогах // Вопросы медицинской химии. 1992. № 2. 40–41 с.
10. *Бабаджанов Н.Дж.* Изменение дофаминергической системы у детей раннего возраста с эпилептическим синдромом: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1992. 16 с.