

МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ЕРИТРОЦИТІВ ТА ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ПРИ РОЗСІЯНОМУ СКЛЕРОЗІ

Мицкан Б. М., Лисенко Ю. О., Мицкан Т. С., Попель С. Л.

ВСТУП

Неухильне зростання поширеності та важкі соціально-економічні наслідки розсіяного склерозу (РС) зумовлюють необхідність подальшого аналізу даної патології, особливо вивчення його патогенезу, як ключа до пошуку перспективних методів патогенетичної терапії¹. У патохімічному комплексі, що формується при РС, центральне місце відводиться дезінтеграції метаболізму, активації процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і пригніченню системи антиоксидантного захисту (САОЗ)^{2, 3, 4}. Встановлено взаємозв'язок між порушеннями в імунній системі та накопиченням в організмі продуктів ПОЛ-ліпоперекисів. Надмірне утримання продуктів ПОЛ в організмі служить одним з факторів формування аутоімунних відповідей, в той час, як стан САОЗ може визначати ступінь відновлення неврологічного дефіциту. Для розкриття патогенетичних механізмів формування ушкоджень на тканинному та клітинному рівні при РС істотний інтерес представляє вивчення ролі системи еритрона як важливої ланки у забезпеченні компенсаторно-приспосувальних реакцій цілісного організму. Еритроцити периферичної крові (ЕПК), тісно контактуючи з усіма тканинами і вступаючи з ними в морфо-функціональні взаємини, власною якісною та кількісною перебудовою відображають фізіологічні та патологічні зміни, що відбуваються в організмі,

¹ Ostapyak Z, Mytskan B, Bejga P, Gerich G, Popel' S. Effectiveness of physical therapy in myofascial syndrome in patients with multiple sclerosis. *Wiadomosci lekarskie*. 2020. Vol. 73. N 9. S. 1951–1957. DOI: 10.36740/WLek202009210

² Жмуров В. А., Крылов В. И., Кашуба Э. А. Аспекты мембранологии / Труды мединститута. Тюмень, 1993. 160 с.

³ Жученко Т. Д. Белки миелина. Рассеянный склероз. Избранные вопросы теории и практики / под ред. Завалишина И. А., Головкина В. И. Москва, 2000. С. 97–114.

⁴ Завалишин И. А., Гусев Е. И., Яхно Н. Н. с соавт. Результаты открытых пострегистрационных клинических испытаний препарата копаксон у больных рассеянным склерозом. *Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова, спецвып. «Рассеянный склероз»*. 2002. С. 59–65.

обумовлюючи тим самим так звані еквівалентні (відображені) як прогностичні маркери при цілій низці хронічних захворювань^{5,6}.

Поліфункціональна роль ЕПК у механізмах адаптації та компенсації в умовах гіпоксії, при здійсненні газотранспортних процесів та інших життєво важливих функцій пояснює високу інформативність результатів вивчення структурно-функціональних змін у цих клітинах. При цьому недостатньо дослідженим аспектом гіпоксії є ензимне регулювання процесів утворення та руйнування перекису водню в ЕПК. Беручи до уваги дані про безпосередню участь активних форм кисню (АФК) (O_2 , H_2O_2) та ферментів антиоксидантного захисту супероксиддисмутази (СОД) та каталази (КТ) у процесах оксигенації гемоглобіну⁷, цікавить вивчити характер змін активностей цих ферментів, спрямованих на підвищення структурно-функціональної повноцінності ЕПК, яка потрібна на адекватного транспорту кисню при РС.

Метою дослідження було вивчення структурно-функціональних особливостей еритроцитів периферичної крові та ферментів антиоксидантного захисту у пацієнтів з розсіяним склерозом залежно від його клінічних форм та стадії розвитку патологічного процесу. Обстежено 62 пацієнти з достовірним діагнозом розсіяний склероз згідно з критеріями МакДональда, середній вік хворих склав $40,4 \pm 0,87$ років, дослідження ЕПК проводили під час перебування на стаціонарному лікуванні (протягом 14 днів) та при загостренні хвороби. Відповідно до сучасних рекомендацій, усі хворі були поділені на три групи: хворі I гр. – з ремітуючим розсіяним склерозом (РРС), II гр. – з вторинно-прогресивним розсіяним склерозом (ВПРС) та III гр. – з первинно-прогресивним розсіяним склерозом (ППРС). Контрольну групу (КГ) склали 20 практично здорових людей, які можна порівняти за віком. Спеціальні методи дослідження представлені:

1. Вивченням вмісту продуктів вільно радикального окиснення ліпідів у мембранах ЕПК: дієнових кон'югатів (ДК) поліненасичених жирних кислот фосfolіпідів та шиффових основ (ШО)⁷.

2. Оцінкою рівня антиоксидантного захисту (активність супероксиддисмутази (СОД) – ферменту антирадикального захисту,

⁵ Merzlyakov V., Drugova E., Lesnikova L. The use of an extract from brown seaweed saccharina japonica to restore physiological characteristics of rat erythrocytes during intoxication with tetrachloride. Chronos. 2016. S. 99–104.

⁶ Ромащенко О. В., Каменев В. Ф. Возможности прогнозирования состояния больных с сердечной недостаточностью по данным электронной микроскопии образцов крови. Мир медицины и биологии, 2019. № 4. С. 89–94.

⁷ Сторожук П. Г. Ферменты прямой и косвенной антирадикальной защиты эритроцитов и их роль в инициации процессов оксигенации гемоглобина, антибактериальной защите и делении клеток. Вестник интенсивной терапии. 2003. № 3. С. 8–13.

каталази (КТ) – ферменту САОЗ, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГД)^{8,9}.

3. Визначенням фосфоліпазної активності. Поверхневу архітектуру ЕПК вивчали за допомогою скануючої електронної мікроскопії (СЕМ) (електронний мікроскоп «JEOL-25А-Т3225»; Японія) з приготуванням зразків за методикою Г. І. Козинця та співавторів¹⁰. Підрахунок різних морфологічних форм ЕПК проводили згідно з класифікацією Г. І. Козинця та співавторів¹⁰. Статистичний аналіз здійснено за допомогою стандартного пакету програм SAS 8,0 (SAS Inc., США). Використовували критерії t та χ^2 . Результати вважали достовірними при $p < 0,05$. Частина досліджень проводили на гемоаналізаторі (Lab Analyt30000Plus (Фінляндія). Визначення мікроелементного складу ЕПК проводили за допомогою енергодисперсійного рентгенструктурного аналізу на приставці для мікроаналізу «ЕДАР» до СЕМ «РЕММА-202Е») (м. Суми).

4. Визначенням індексу деформації еритроцитів (ІДЕ) за методом С. Tannert, V. Lux (1981) у модифікації З. Д. Федорова, М. О. Котовщикової та насиченості крові киснем за допомогою пульсоксиметрії приладом Jziki-Fingertip Oximeter.

1. Морфо-функціональні зміни еритроцитів при розсіяному склерозі

Стан мембрано-дестабілізуючих процесів характеризується різними критеріями. Це, перш за все, рівень функціональної активності ендогенних фосфоліпаз та динаміка накопичення ліпоперекисів. Як випливає з отриманих нами результатів, вираженість мембрано-дестабілізуючих процесів зростає від мінімальних значень у хворих на І гр. з найбільш сприятливою ремітуючою формою РС (РРС) до максимального рівня в II гр. при вторинно-прогресивному РС (ВПРС) та III гр. при первинно-прогресивному РС (ППРС), що проявляється збільшенням ширини гемограми та її зміною з нормального, унімодального типу гемограми (рис. 1 Б) на біполярний тип розподілу ЕПК за їх обсягом (рис. 1 А), та значним зміщенням піку розподілу вліво (рис. 1 В).

⁸ Кичерова Е. А., Рейхерт Л. И., Соколова А. А. Мем-браностабилизирующий эффект глатирамера ацетата при рассеянном склерозе. Материалы XX Всемирного конгресса по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (26–30.04.14, Нью-Йорк, США). 2014. Т. 15. № 1. С. 54.

⁹ Кравцов Ю. И., Кичерова Е. А. Мембрано-протекторное действие глатирамера ацетата при рассеянном склерозе. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2013. № 3. С. 69–71.

¹⁰ Меньшиков В. В. Лабораторное методы исследования в клинике. М. : Медицина, 1987. 365 с.

У пацієнтів II та III гр. виявили зміни не лише форми ЕПК, а й їх хімічного складу, що найвиразніше виявлялося у пацієнтів III гр. У міру прогресування РС еритроцити з двояко вгнутих дисків перетворювалися на сфероцити, і їх поверхні з'являлися виражені нерівності мікрорельєфу. Співвідношення сфероцитів до дискоцитів на стадії компенсації РС складало 1:7, на стадії субкомпенсації 1:4, на стадії декомпенсації 1:9 (у практично здорових осіб КГ і того ж віку це співвідношення становить 1:60) (рис. 2). За таких умов у пацієнтів III гр. з підвищенням кількості сфероцитів порівняно з людьми КГ статистично достовірно (в 3 рази; $p < 0,05$) зменшується кількість азоту – добре відомого основного хімічного елемента живих білків (рис. 2, табл. 2), що дозволяє виявити мікроаналізаторною приставкою «ЕДАР» до скануючого електронного мікроскопа.

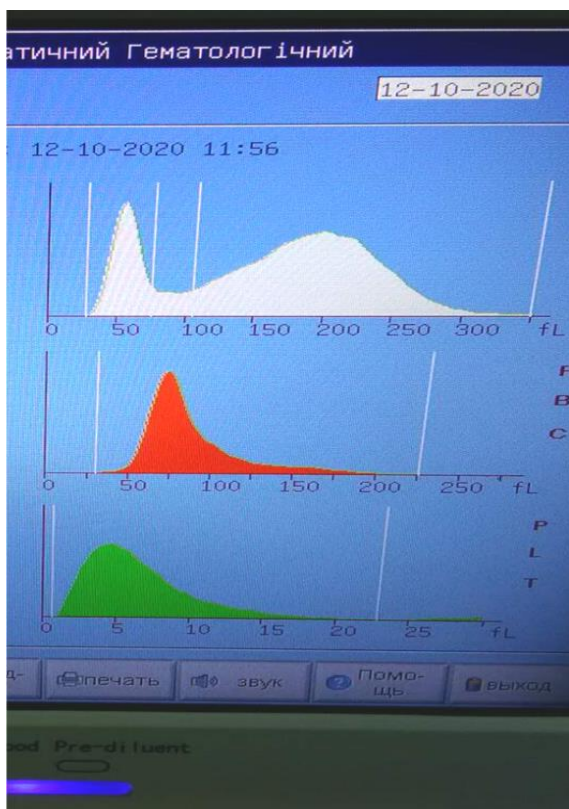


Рис. 1. Гемограми розподілу ЕПК за середнім обсягом (FL) пацієнта I гр. (В), II гр.(А), та пацієнта КГ (Б) з різким зміщенням вліво (В)

Відомо, що білки в мембрані ЕПК розташовуються переважно на її внутрішній стороні та утворюють мережу філаментів, які підтримують двояко вгнуту форму ЕПК¹¹. Таким чином, втрата дисковидної форми ЕПК пояснюється дефіцитом вільного азоту та збільшенням кількості оксиду азоту, що можливо в умовах нітрозолінового стресу та розпадом білкових структур цитоплазматичної мембрани ЕПК. Розпад білків посилювався у разі загострень РС.

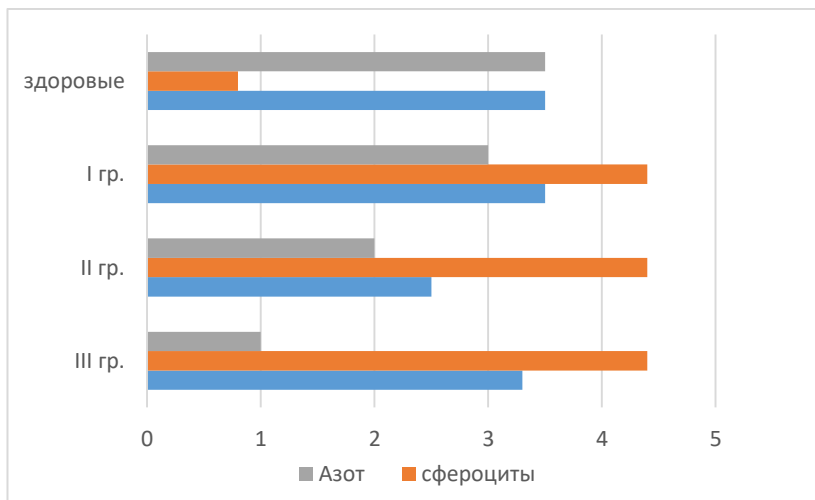


Рис. 2. Кількісне співвідношення різних форм ЕПК та концентрація азоту в еритроцитах хворих різних груп при РС

В ЕПК хворих II та III гр. порівняно з ЕПК практично здорових КГ того ж віку виявлено достовірне ($p < 0,05$) збільшення концентрації кальцію (у 1,5–2 рази), магнію (у 2 рази) та алюмінію (у 3 рази) (рис. 3)), що необхідно трактувати як ознаку розвитку кальцієвого парадоксу при зменшенні кількості вільних форм азоту та збільшення оксиду азоту при активації ПОЛ¹², порушення проникності клітинних мембран та наближення ЕПК до гемолізу.

¹¹ Одинак М. М., Бисага Г. Н., Зарубина И. В. Комплексная антиоксидантная терапия при рассеянном склерозе: эффективность и патогенетическая направленность. Лечение нервных болезней, 2003. № 2. С. 12–16.

¹² Рудакова-Шилина Н. К., Матюкова Л. Д. Оценка антиоксидантной системы организма. Лабораторное дело, 1982. № 1. С. 19–22.

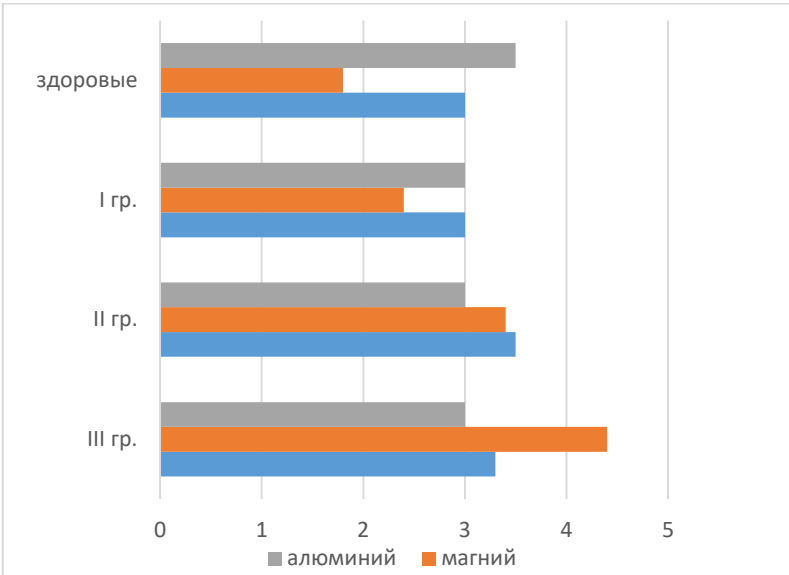


Рис. 3. Концентрація окремих мікроелементів в ЕПК у пацієнтів різних груп при розсіяному склерозі

Алюміній, швидше за все, знаходився не в самих еритроцитах, а «вибивався» електронним пучком із підкладки препарату для СЕМ крові. Це тісно корелює ($r=0,93$) з появою серед еритроцитарної популяції клітин із незворотно зміненою формою (рис. 4).

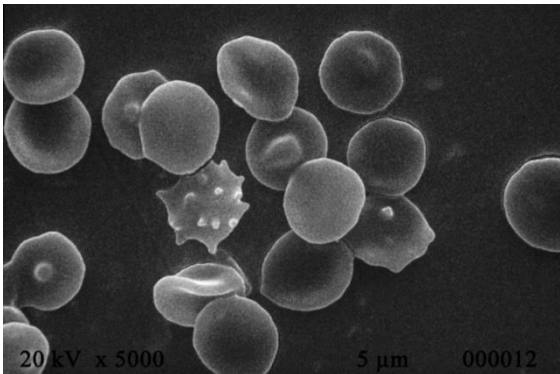


Рис. 4. Акантоцит (а), еритроцит із гребенем (б), еритроцит із одним виростом (в), еритроцит із куполом (д), сфероцит (е) у пацієнтів II та III гр. Скануюча електронна мікроскопія. 36: × 5000. Прискорювальна напруга 20 кВ

Гемограма розподілу ЕПК за розміром асиметрична та мультиполярна за рахунок збільшення числа варіюючих класів мало розмірного (лівого) крила клітинних елементів (рис. 5). При цьому змінюються біохімічні показники ЕПК (табл.1), що особливо виявляється при порівнянні показників отриманих у період загострення та період ремісії РС (табл. 1).

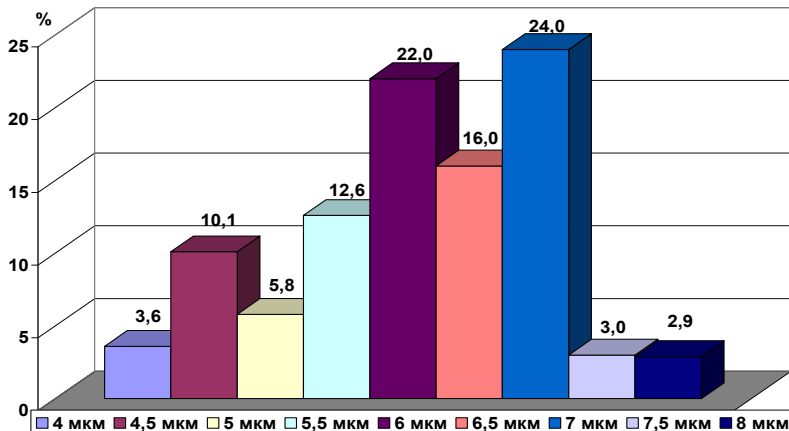


Рис. 5. Розподіл еритроцитів пацієнтів III групи за максимальними діаметрами в окремих параметричних групах

Таблиця 1

Показники активності ФЛА2 і вміст продуктів ПОЛ в ЕПК хворих на РС в залежності від форми захворювання, $M \pm m$

Показники	Здорові n=20	Хворі на РС n=60		
		РРС (n=20) I гр.	ВПРС (n=20) II гр.	ППРС (n=20) III гр.
ФЛ-α2, % гемолиза	4,44±0,22	15,21±1,1 *	27,05±1,3 */ **	25,93±1,33 */ **
ДК, нмоль. Мл	48,43±3,5	109,11±3,7 *	180,3±5,1 */ **	170,1±7,9 */ **
ШО, у. е. ф.	18,3±1,02	21,73±5,1 *	30,1±2,3 */**	33,1±2,5 */**
ИДЭ	2,03±0,05	1,44±0,02	1,39±0,03	1,08±

Примітки: ИДЭ – індекс деформації еритроцитів; * – достовірність відмінностей між показниками здорових і хворих, $p < 0,05$; ** – достовірність відмінностей між показниками хворих РРС ф показниками в двох інших групах пацієнтів з РС, $p < 0,05$; *** – достовірність відмінностей між показниками хворих ВПРС і ППРС, $p < 0,05$.

2. Особливості змін перекисного окислення ліпідів та активності ферментів антиоксидантої системи при розсіяному склерозі

У хворих на РС незалежно від форми захворювання виявлено багаторазове збільшення вмісту продуктів ПОЛ (дієнових кон'югатів (ДК) та шиффових основ (ШО), а також активності фосфоліпази- $\alpha 2$ (ФЛ- $\alpha 2$) щодо контролю ($p < 0,05$). цьому, у міру обтяження захворювання вміст продуктів ПОЛ (ДК, ШО) закономірно підвищується ($p < 0,05$) і тісно корелює ($r = 0,93$) зі збільшенням кількості ЕПК необоротно зміненої форми (рис.6), що може служити прогностично несприятливим показником у хворих на РС, оскільки утворення акантоцитів і ехіноцитів веде до різкого зниження площі ефективного обміну речовин з мембраною ЕПК, внаслідок дуже маленької площі їх контакту з ендотеліоцитами МЦР робочих органів лише невеликою поверхнею на вершинах шиповидних виростів і порушень крові¹³.

Таблиця 2

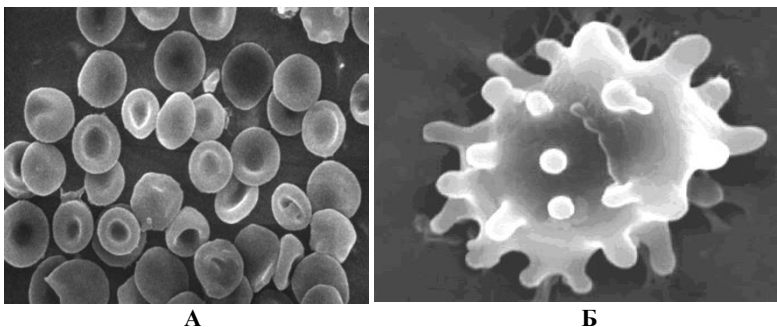
Біохімічні показники ЕПК хворих з РС на різних стадіях захворювання, $M \pm m$

Показники	Здорові, n=20	Пацієнти з РС, n=40	
		Загострення, n = 20	Ремісія, n=20
ФЛ- $\alpha 2$, % гемолізу	4,44 \pm 0,22	22,3 \pm 1,7 * / **	14,1 \pm 0,9 *
ДК, нмоль. мл	47,9 \pm 1,5	157,99 \pm 5,5 * / **	120,8 \pm 2,6 **
ШО, у. е. ф.	17,89 \pm 1,03	28,58 \pm 1,4 * / **	21,2 \pm 1,8 **
К- сть азоту (процент відносно показника КГ)	100 \pm 0,0	47,7 \pm 3,3* / **	31,3 \pm 2,7**

Примітки: * достовірність відмінностей між показниками здорових і хворих на РС ($p < 0,05$); ** достовірність відмінностей між показниками при загостренні і ремісії у хворих на РС ($p < 0,05$).

Цими виростами часто травмується поверхня ендотеліоцитів мікроциркуляторного руслу (відбувається стирання поверхневого глікокаліксу, коли жорсткий мікрорельєф і структура ехіноцитів набуває властивостей своєрідних трубопровідних «йоршиків» (pipeline brush) щодо дуже ранимо для поверхні ендотеліоцитів), що є причиною мікротромботизації гемокапілярів з відповідним порушенням кровопостачання та обміну речовин у мікрооточенні ушкоджених таким чином гемокапілярів.

¹³ Козинец Г. И., Шишканова З. Г., Новодержкина Ю. К. Конфигурация и поверхность клеток крови в норме и патологии. Москва : Триада-фарм, 2004. 17 с.



А

Б

Рис. 6. Різні форми ЕПК (А): дискоцит (а), еритроцит з одним виростом (б), еритроцит з гребенем (в) та незворотно змінена форма ЕПК, Б – ехіноцит у пацієнта з первинно-прогресивним розсіяним склерозом. Зб: $\times 5000$ (А), $\times 8000$ (Б). Прискорювальна напруга 20 кв

Таким чином, простежується закономірність, що виявляється збільшенням активності фосфоліпази- $\alpha 2$ в порівнянні з аналогічними показниками у здорових людей КГ і можна стверджувати, що саме висока активність фосфоліпази- $\alpha 2$ забезпечує менш сприятливий перебіг РС у хворих на I гр. Про це свідчать кількісні характеристики активності ендогенних фосфоліпаз та процесів peroxygenation мембранних ліпідів залежно від стадії захворювання (див. табл. 2). Виявлено, що вміст ліпоперекисів та активність фосфоліпази- $\alpha 2$ у мембранах ЕПК статистично достовірно ($p < 0,05$) підвищені у хворих на РС, незалежно від стадії захворювання, та в період клінічної ремісії, коли ці показники не приходять у відповідність до нормативних параметрів. У той самий час ми можемо стверджувати, що зазначені зміни є патогенетично значущими у разі загострення РС (різниця між аналізованими показниками при загостренні і ремісії захворювання статистично достовірна, $p < 0,05$). Істотні відмінності активності ФЛ- $\alpha 2$ залежно від стадії РС дозволяють стверджувати, що цей показник має патогенетичне значення, підвищуючись при загостренні та знижуючись при ремісії захворювання. Стан системи антиоксидантного захисту в організмі також є одним з найважливіших механізмів, що регулюють активність ПОЛ та опосередковано, функціональну значимість ендогенних фосфоліпаз. Подані в табл. 3 результати можуть свідчити про те, що при несприятливому варіанті РС (ВПРС та ППРС) у хворих на II та III гр. спостерігається зрив компенсаторних можливостей досліджених ланок САОЗ, у той час як у хворих на I гр. при ПРС не виявлено значних відмінностей від контролю.

Показники активності ферментів антиоксидантного захисту та вміст α -токоферолу в ЕПК хворих на РС залежно від форми захворювання, $M \pm m$

Показники	Здорові, n=20	Хворі на РС, n=60		
		РРС (n=20)	ВПРС (n=20)	ППРС (n=20)
СОД, % гальмування	45,3 \pm 2,9	48,36 \pm 1,9	28,54 \pm 1,21*/**	21,14 \pm 0,8*/**/**
Каталаза, моль мин. мл	3,9 \pm 0,1	3,19 \pm 0,1	2,01 \pm 0,09*/**	1,87 \pm 0,1*/**
Г-6ФДГ, m I / мл	662,9 \pm 29,9	607,13 \pm 26,8	417,8 \pm 21,1*/**	358,4 \pm 23,8*/**/**
α -токоферол, нмоль/мл	5,8 \pm 0,28	5,03 \pm 0,1	3,67 \pm 0,1*/**	3,24 \pm 0,2*/**

*Примітки: * достовірність відмінностей між показниками здорових та хворих на РС ($p < 0,05$); ** достовірність відмінностей між показниками хворих на РРС та показниками у двох інших групах хворих на РС ($p < 0,05$); *** достовірність статистичних відмінностей між показниками хворих на ВПРС та ППРС ($p < 0,05$).*

Таким чином, можна стверджувати, що неспроможність системи антиоксидантного захисту є додатковим фактором, що веде до активації процесів ПОЛ та, зрештою, до зміни функціональних властивостей клітинних мембран в ЕПК у хворих на I гр.

Необхідно відзначити, що в КГ, не було зареєстровано достовірних змін активностей супероксиддисмутази СОД, каталази і 6-ФДГ в ЕПК. 0,9 \pm 0,1 0,2 \pm 0,05 мкмоль/хв/мг Нв. та Г-6-ФДГ – 662,9 \pm 29,9. Однак у пацієнтів I гр. спостерігається зниження активності і навіть спостерігається недостатність Г-6-ФДГ, при чому відбувається зниження енергетичних запасів клітин, що на думку окремих авторів¹⁴, є причиною патологічної конформації ЕПК з утворенням «тіней» еритроцитів (рис. 7), які мають підвищене негативно заряджене поверхневим потенціалом до нормальних дископодібних форм ЕПК. При цьому відомо, що наявність «тіней» еритроцитів у загальному кровотоку призводить до розвитку гострої ниркової недостатності та підвищення летальності серед пацієнтів із різною і не лише неврологічною патологією.

¹⁴ Козлов М. М., Маркин В. С. Мембранный скелет эритроцита. Теоретическая модель. Биологические мембраны, 1986. Т. 3, № 4. 110 с.

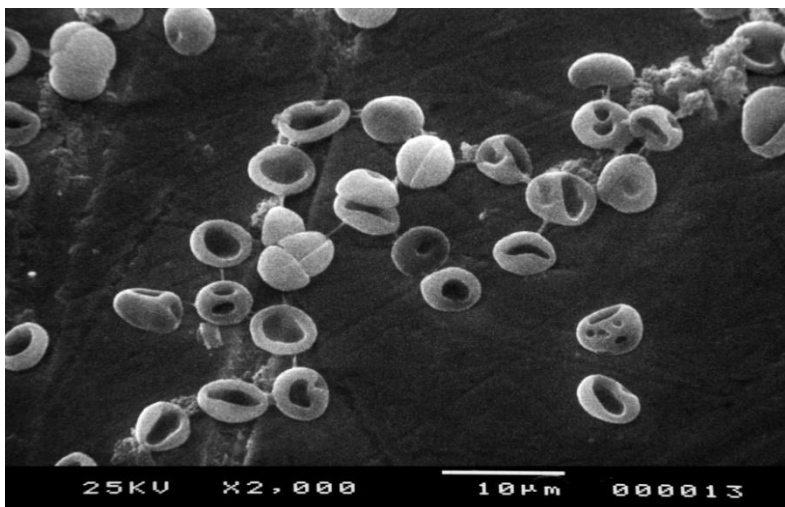


Рис.7. Деструктивно змінені еритроцити у пацієнта III гр. при розсіяному склерозі. Скануюча електронна мікроскопія 3б: $\times 3000$. Прискорювальна напруга 20 kv

Зміна активностей каталази та СОД в ЕПК залежно від групи пацієнтів у динаміці РС має коливальний характер. Зростання каталазної активності завжди відбувається на тлі достовірного зниження активності СОД щодо каталази (КТ). Для багатьох ферментів, зокрема і СОД і каталази, характерне явище перехресної регуляції їх активності¹⁵. Для КТ супероксидний аніон-радикал є негативним ефектором, а H_2O_2 – позитивним, тоді як СОД – навпаки (рис. 8).

¹⁵ Акопова О. В., Коцюрба А .В., Ткаченко Ю. П., Сагач В. Ф. Оксид азоту пригнічує відкриття мітохондріальної пори і збільшує кальцієву ємність мітохондрій *in vivo*. Фізіол. журн. 2005. Т. 51. № 3. С. 3–11.

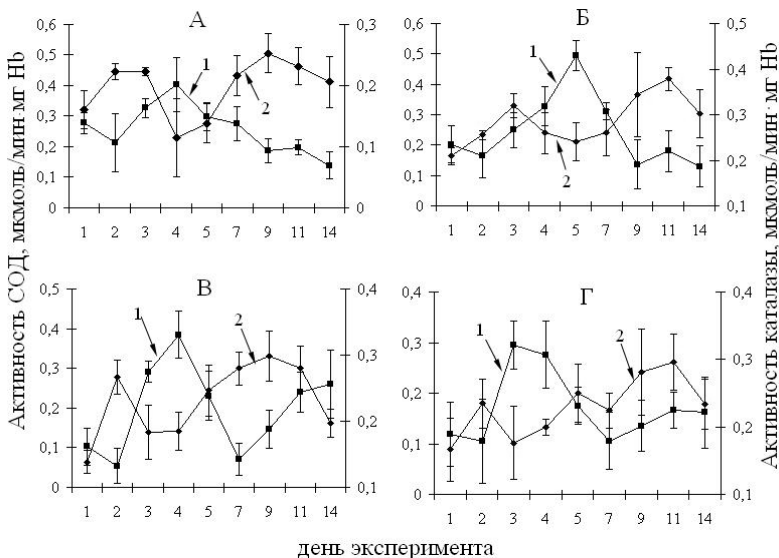


Рис. 8. Зміна активності СОД (1), каталази (2) в динаміці в еритроцитах периферичної крові пацієнтів I гр. (А), II гр.(Б), III гр. (В) і в період загострення (Г)

Наші дані знайшли своє підтвердження у роботах Окуневої Г. М.¹⁶. Виявлена нами сферизація ЕПК і накопичення у них хімічних елементів, мабуть, передують гемолізу, тобто. руйнування мембран еритроцитів із виходом гемоглобіну в кров. Так, на думку І. І. Гігельсона та І. А. Терескова¹⁷ при гемолізі ЕПК проходять низку етапів: 1) перед гемолітичну стадію, що характеризується сферизацією еритроцитів; 2) стадію осмотичного гемоглобінолізу, що супроводжується набуханням еритроциту з виходом за межі об'ємного критичного розміру, (що в нашому випадку визначає розширення гемограми розподілу ЕПК за обсягом) зі зміною або пошкодженням поверхні клітини і виходом більшої частини гемоглобіну в плазму; 3) стадію хімічного гемоглобінолізу, що характеризується зміною хімічного складу клітини, та відповідно зміною електрохімічних та

¹⁶ Мурав'єв А. В. Механизмы микрореологических ответов эритроцитов на действие газотрансмиттеров – оксида азота и сероводорода. Тромбоз, гемостаз и реология. 2020, 2, С. 34–39.

¹⁷ Мицкан Б. М., Попель С. Л., Остафійчук Я. Ф., Земська Н. О. Активність антиоксидантної системи в еритроцитах та м'язовій тканині при довготривалій гіпокнезії. Врачебное дело, 2017. 8. С. 149–153.

колоїдно-осмотичних властивостей ЕПК з повним відщепленням гемоглобіну; 4) стадію повного руйнування клітинних структур. Логічним було б очікувати на розвиток анемії, переважно гемолітичного характеру, також і у пацієнтів з РС. Дійсно, синдром анемії у обстежених нами хворих зустрічався у 6,7–11,5 % випадків при загостренні РС та у 33,3 % випадків при зменшенні оксигенації крові (визначеної при пульс-оксиметрії). За даними наукової літератури, серцево-судинна смертність у хворих на РС збільшується пропорційно відхилення показника гематокриту як у бік анемії, так і у бік поліцитемії. Так, ще 2007 р. W.-C. Wu із співавторами¹⁸, виявили підвищення смертності на 1,6 %, асоційоване з кожним відсотком відхилення від норми рівня гематокриту у будь-який бік. Отже, при хронічному перебігу РС і на фоні мембрано-дестабілізуючих процесів в ЕПК очікується більш несприятливий прогноз для життя, ніж при звичайній хронічній формі РС з незначним неврологічним дефіцитом, що розвинувся на тлі загостреної стадії хвороби, поєднаної з деструктивними змінами ЕПК. Справді, по-перше, компенсаторні можливості ЕПК значно менші у розвитку процесів ПОЛ через меншу товщину мембрани ЕПК, а, по-друге, ступінь гіпоксії за наявності метаболічної патології значно збільшується. Серед обстежених нами хворих на РС летальність у разі загострень за неврологічно дефіцитним типом склала 0,93 %, а за вегетативно дефіцитним – 28,6 %, що підтверджує висунуту нами тезу про виражену еквівалентну реакцію ЕПК при РС. Відомо, що багато захворювань, у тому числі імунно-неврологічні, характеризуються розвитком окисного стресу внаслідок порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги та посиленого перебігу вільно-радикальних реакцій за участю активних форм кисню. Разом з цим, за останні роки накопичилося чимало даних, що свідчать про тісний взаємозв'язок продукції вільних радикалів кисню та оксиду азоту⁷. Є дані у тому, що оксид азоту (NO) одна із універсальних регуляторів фізіологічних функцій організму з досить широким спектром біологічної дії. Так, відомо, що в оптимальних концентраціях NO покращує ендотеліальну функцію периферичних судин, позитивно впливає на активність окремих протеїназ, здатний пригнічувати каспази, пригнічувати індукцію апоптозу. Однак синтез оксиду азоту в підвищених концентраціях, що перевищують допустимий стаціонарний рівень, може бути причиною розвитку нітрозативного стресу, зумовленого утворенням активних форм азоту (АФА), перш за

¹⁸ Marklund S. L. Properties of extracellular superoxide dismutase from human lung. *Biochem. J.* 1984. Vol. 220. P. 269–272.

все, пероксинітриту та продукту його деградації діоксиду азоту¹⁹. Одним із маркерів нітрозативного стресу розглядається утворення низькомолекулярних та високомолекулярних нітрозотіолів, зокрема, продуктів нітрозилування протеїнів²⁰. Раніше було показано, що при ішемічній хворобі серця (ІХС) в ЕПК посилюються реакції ПОЛ та окисної модифікації протеїнів²¹. Враховуючи це й те, що при ряді захворювань у патологічний процес залучаються еритроцити²², цікавило вивчити окремі показники системи синтезу оксиду азоту та процесів нітрозилування в еритроцитах хворих на РС, що й становитиме мету майбутнього дослідження. Зміни морфофункціонального стану ЕПК у вигляді їх сферуляції та розвитку хімічного дисбалансу (втрати клітинами азоту та накопичення всередині них кальцію та інших хімічних елементів) можна вважати ознаками несприятливого прогнозу для життя пацієнтів з хронічною неврологічною недостатністю при РС, а метод СЕМ зразків крові – діагностично значущим у таких пацієнтів.

Таке різноспрямоване зміна активностей цих двох ферментів за даними наукової літератури притаманно гіпоксії та енергетичної недостатності клітинного метаболізму, тобто. в умовах коли спостерігається активація мембрано дестабілізуючих процесів, що лежать в основі конформаційної трансформації ЕПК. Очевидно, така закономірність притаманна і для пацієнтів з РС. Статистичний аналіз отриманих експериментальних даних показав наявність достовірної негативної кореляції між активностями СОД та каталазою еритроцитів пацієнтів усіх вивчених груп. У пацієнтів КГ зафіксовано високу (+0,86) позитивну кореляцію між активностями цих ферментів. Існує думка, що відновлення пероксиду водню може бути додатковим джерелом молекулярного кисню²³. Каталаза, виконуючи антиоксидантну функцію, компенсаторно підвищує коефіцієнт корисного використання екзогенного кисню в енергетичних цілях

¹⁹ Окунева Г. Н., Чернявский А. М. Левичева Е. Н., и др. Распределение химических элементов в разных отделах сердца больных ишемической болезнью сердца с острой сердечной недостаточностью. Кардиология, 2008. № 2. С. 25–31.

²⁰ Гительзон И. И., Тересков И. А. Закономерности распределения эритроцитов по стойкости к различным гемолитикам. Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. Красноярск, 1961. С. 30–59.

²¹ Wu W.-C., Schiffner T. L., Henderson W. G. Preoperative hematocrit levels and postoperative outcomes in older patients undergoing noncardiac surgery. J.A.M.A, 2007. Vol. 297. P. 2481–2488.

²² Сагач В. Ф., Коркач Ю. П., Коцюруба А. В., Присяжна О. Д. Фізіол. журн. 2008. Т. 54. № 5. С. 46–54.

²³ Меньщиков Е. Б., Зенков Н. К., Ланкин В. З. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. Новосибирск : АРТА, 2008. 284 с.

внаслідок часткового повернення метаболічної ланцюги окисного фосфорилування того молекулярного кисню, який відновлюється в організмі по одноелектронному шляху. Руйнування мієліну при РС призводить до виходу з нейролеммоцитів протеолітичних ферментів та інших агресивних агентів, що незворотно змінює конформацію білкових молекул пошкоджених клітин, що сприймаються імунною системою вже як «чуже». Наприклад, окремі автори²⁴ виявили гістологічні ознаки дистрофії міокарда щурів вже на 7 день після дії стрес-факторів. Автори відзначають, що різке зниження надходження кисню до кардіоміоцитів відбувається як внаслідок розвитку набряку стінки судин та периваскулярного простору, так і в результаті безпосередньої деструкції судин гемомікроциркуляторного русла, що спостерігається починаючи з перших днів стрес-реакції. При цьому показано²⁵, що РС викликає у нейронах різних типів зміни структури популяції мітохондрій. Описані морфо-функціональні зміни у тканинах тимусу²⁶, нирок²⁷ на різних термінах дії стрес-факторів. при старінні, гіпоксії, що дозволяє вважати реакцію організму пацієнтів з РС на патологічний вплив основного білка мієліну специфічною та обумовленою невідповідністю зростаючою при РС енергопотребою та можливостями енергоутворюючих систем по її компенсації, серця, м'язової, нервової та сполучної тканин, а також високі титри антитіл до цих антигенів²⁸. При цьому в їхньому організмі відбуваються запальні процеси в першу чергу в нервовій тканині і знаходять закономірні

²⁴ Ёлкина Н. М., Коношенко С. В., Шашуа И. Энзиматическая активность эритроцитов человека при ишемической болезни сердца в условиях развития окислительного стресса. Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия: Биология, химия. 2011. Т. 24 (63), № 2. С. 124–128.

²⁵ Новицкий В. В., Гольберг В. Е., Колосова М. В. Белковый спектр мембран эритроцитов у больных раком легкого и с опухолями головы и шеи. Бюл. эксперим. биол. и мед. 1999. № 1. С. 18–20.

²⁶ Январева И. Н., Павлова Л. П., Баранова Т. И., Баскакова Г. Н. Системно-динамический подход к исследованию адаптационного потенциала человека. Структурно-функциональные основы приспособительных реакций на разных уровнях организации живых систем. Нервная система. СПб: СПбГУ, 2001. С. 105–154.

²⁷ Абдуллин Т. Г., Абдуллин А. Т., Глушков А. В.. Эффективность профилактического применения биорезонансного альфа-препарата при вибрационном поражении миокарда. Вестник новых медицинских технологий. 2008. Т. XV. № 2. С. 28–29.

²⁸ Насибуллин Б. А. Особенности реакции популяции митохондрий в нейронах сенсомоторной коры при рассеянном склерозе. Цитология и генетика. 2002. № 1. С. 40–45.

прояви у вигляді конформаційних змін ЕПК, що ми пропонуємо використовувати в діагностичних та прогностичних цілях.

Отже, результати дослідження свідчать, що в патогенезі РС значне місце належить активації ферментативного та вільно радикального окиснення ліпідів клітинних мембран в умовах повної або часткової неспроможності механізмів антиоксидантного захисту. Наслідком є значні зміни структури клітинних мембран ЕПК та його функції. Виявлені на моделі ЕПК зміни є базовими, корелюють з тяжкістю клінічних проявів РС, а значить, багато в чому їх визначають, що можна використовувати для визначення не тільки тяжкості РС, а й для прогнозування його перебігу, а також контролю за якістю терапевтичних заходів у таких пацієнтів.

ВИСНОВКИ

1. Різний перебіг розсіяного склерозу супроводжується зміною активності ферментів супероксидисмутази та каталази, що пов'язано з активізацією процесів утворення активних форм кисню і відбувається на тлі зменшення у два рази величини індексу деформації еритроцитів та концентрації азоту в еритроцитах що може бути одним із патогенетичних факторів прогресування розсіяного склерозу.

2. Показано, що при розсіяному склерозі для системи ферментів супероксидисмутаза/каталаза еритроцитів характерне явище перехресної регуляції активності, що проявляється в негативній кореляції між активностями ферментів і асоціюється з появою в загальному кровотоці незворотно деструктивно змінених форм еритроцитів.

3. Зростання співвідношення супероксиддисмутаза/каталаза вище за рівень контрольної групи спостерігається у пацієнтів з вторинно-прогресивним розсіяним склерозом. Цей факт обумовлений падінням активності каталази та може розглядатися як стан гіпоксії.

4. Загострення розсіяного склерозу супроводжується зниженням активності як супероксиддисмутази, так і каталази, а також до їх співвідношенняхсоотношения нижче одиниці. Це тісно корелює ($r=0,93$) з конформаційними змінами еритроцитів, що необхідно використовувати в діагностично-прогностичних цілях при розсіяному склерозі.

АНОТАЦІЯ

У патохімічному комплексі, що формується при розсіяному склерозі, центральне місце відводиться дезінтеграції метаболізму, активації процесів перекисного окислення ліпідів і пригніченню системи антиоксидантного захисту. Встановлено взаємозв'язок між

порушеннями в імунній системі та накопиченням в організмі продуктів ліпоперекисів. Надмірне накопичення продуктів перекисного окислення ліпідів в організмі служить одним з факторів формування аутоімунних відповідей, в той час, як стан антиоксидантного захисту може визначати ступінь відновлення неврологічного дефіциту. Для розкриття патогенетичних механізмів формування ушкоджень на тканинному та клітинному рівні при розсіяному склерозі істотний інтерес представляє вивчення ролі системи еритрона як важливої ланки у забезпеченні компенсаторно-приспосувальних реакцій цілісного організму. Результати проведеного дослідження свідчать, що в патогенезі розсіяного склерозу значне місце належить активації ферментативного та вільно радикального окиснення ліпідів клітинних мембран еритроцитів в умовах повної або часткової неспроможності механізмів антиоксидантного захисту. Наслідком є значні зміни структури клітинних мембран еритроцитів та їх функції. Виявлені деструктивні зміни еритроцитів корелюють з тяжкістю клінічних проявів розсіяного склерозу, а значить, багато в чому їх визначають, що можна використовувати для визначення не тільки тяжкості захворювання, а й для прогнозування його перебігу, а також контролю за якістю терапевтичних заходів у таких пацієнтів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ostapyak Z., Mytskan B., Bejga P., Gerich G., Popel' S. Effectiveness of physical therapy in myofascial syndrome in patients with multiple sclerosis. *Wiadomosci lekarskie*. 2020. Vol. 73. N 9. S. 1951–1957. DOI: 10.36740/WLek202009210
2. Жмуров В. А., Крылов В. И., Кашуба Э. А. Аспекты мембранологии. / Труды мединститута Тюмень, 1993. 160 с.
3. Жученко Т. Д. Белки миелина. Рассеянный склероз. Избранные вопросы теории и практики / под ред. Завалишина И. А., Головкина В. И. Москва, 2000. С. 97–114.
4. Завалишин И. А., Гусев Е. И., Яхно Н. Н. с соавт. Результаты открытых пострегистрационных клинических испытаний препарата копаксон у больных рассеянным склерозом. *Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова, спецвып. «Рассеянный склероз»*. 2002. С. 59–65.
5. Merzlyakov V., Drugova E., Lesnikova L.. The use of an extract from brown seaweed saccharina japonica to restore physiological characteristics of rat erythrocytes during intoxication with tetrachloride. *Chronos*. 2016. S. 99–104.
6. Ромащенко О. В., Каменев В. Ф. Возможности прогнозирования состояния больных с сердечной недостаточностью по данным

электронной микроскопии образцов крови. Мир медицины и биологии, 2019. № 4. С. 89–94.

7. Сторожук П. Г. Ферменты прямой и косвенной антирадикальной защиты эритроцитов и их роль в инициации процессов оксигенации гемоглобина, антибактериальной защите и делении клеток. Вестник интенсивной терапии. 2003. № 3. С. 8–13.

8. Кичерова Е. А., Рейхерт Л. И., Соколова А. А. Мембраностабилизирующий эффект глатирамера ацетата при рассеянном склерозе. Материалы XX Всемирного конгресса по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (26–30.04.14, Нью-Йорк, США). 2014. Т. 15. № 1. С. 54.

9. Кравцов Ю. И., Кичерова Е. А. Мембрано-протекторное действие глатирамера ацетата при рассеянном склерозе. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2013. №3. С. 69–71.

10. Меньшиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике. М. : Медицина, 1987. 365 с.

11. Одинокий М. М., Бисага Г. Н., Зарубина И. В. Комплексная антиоксидантная терапия при рассеянном склерозе: эффективность и патогенетическая направленность. Лечение нервных болезней, 2003. № 2. С. 12–16.

12. Рудакова-Шилина Н. К., Матюкова Л. Д. Оценка антиоксидантной системы организма. Лабораторное дело, 1982. № 1. С. 19–22.

13. Козинец Г. И., Шишканова З. Г., Новодержкина Ю. К. Конфигурация и поверхность клеток крови в норме и патологии. Москва : Триада-фарм, 2004. 17 с.

14. Козлов М. М., Маркин В. С. Мембранный скелет эритроцита. Теоретическая модель. Биологические мембраны, 1986. Т. 3, № 4. 110 с.

15. Акопова О. В., Коцюруба А. В., Ткаченко Ю. П., Сагач В. Ф. Оксид азоту пригнічує відкриття мітохондріальної пори і збільшує кальцієву ємність мітохондрій *in vivo*. Фізіол. журн. 2005. Т. 51. № 3. С. 3–11.

16. Муравьев А. В. Механизмы микрореологических ответов эритроцитов на действие газотрансмиттеров – оксида азота и сероводорода. Тромбоз, гемостаз и реология. 2020, 2. С. 34–39.

17. Мицкан Б. М., Попель С. Л., Остафійчук Я. Ф., Земська Н. О. Активність антиоксидантної системи в еритроцитах та м'язовій тканині при довготривалій гіпокінезії. Врачебное дело. 2017. 8. С. 149–153.

18. Marklund S. L. Properties of extracellular superoxide dismutase from human lung. *Biochem. J.* 1984. Vol. 220. P. 269–272.

19. Окунева Г. Н., Чернявский А. М., Левичева Е. Н., и др. Распределение химических элементов в разных отделах сердца

больных ишемической болезнью сердца с острой сердечной недостаточностью. Кардиология, 2008. № 2. С. 25–31.

20. Гительзон И. И., Тересков И. А. Закономерности распределения эритроцитов по стойкости к различным гемолитикам. Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. Красноярск, 1961. С. 30–59.

21. Wu W.-C., Schiffner T. L., Henderson W. G. Preoperative hematocrit levels and postoperative outcomes in older patients undergoing noncardial surgery. J.A.M.A. 2007. Vol. 297. P. 2481–2488.

22. Сагач В. Ф., Коркач Ю. П., Коцюруба А. В., Присяжна О. Д. Фізіол. журн. 2008. Т. 54. № 5. С. 46–54.

23. Меньшиков Е. Б., Зенков Н. К., Ланкин В. З. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. Новосибирск : АРТА, 2008. 284 с.

24. Ёлкина Н. М., Коношенко С. В., Шашуа И. Энзиматическая активность эритроцитов человека при ишемической болезни сердца в условиях развития окислительного стресса. Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия: Биология, химия. 2011. Т. 24 (63), № 2. С. 124–128.

25. Новицкий В. В., Гольберг В. Е., Колосова М. В. Белковый спектр мембран эритроцитов у больных раком легкого и с опухолями головы и шеи. Бюл. эксперим. биол. и медиц. 1999. № 1. С. 18–20.

26. Январева И. Н., Павлова Л. П., Баранова Т. И., Баскакова Г. Н. Системно-динамический подход к исследованию адаптационного потенциала человека. Структурно-функциональные основы приспособительных реакций на разных уровнях организации живых систем. Нервная система. СПб : СПбГУ, 2001. С. 105–154.

27. Абдуллин Т. Г., Абдуллин А. Т., Глушков А. В. Эффективность профилактического применения биорезонансного альфа-препарата при вибрационном поражении миокарда. Вестник новых медицинских технологий. 2008. Т. XV. № 2. С. 28–29.

28. Насибуллин Б. А. Особенности реакции популяции митохондрий в нейронах сенсомоторной коры при рассеянном склерозе. Цитология и генетика. 2002. № 1. С. 40–45.

29. Бобров С. В., Ефремов А. В., Вакулин Г. М. Функциональная морфология и ультраструктурные изменения тимуса при воздействии вибрации и их коррекция с использованием эссенциальных фосфолипидов. Бюл. СО РАМН. 2002. Т. 104. № 2. С. 129–137.

30. Склианов Ю. И., Правоторов Г. В., Балуева О. И., Вакулин Г. М. Морфо-функциональная характеристика почек у матери, плода и потомства при воздействии вибрации промышленной частоты во время беременности. Морфология. 2005. № 4. С. 29–32.

31. Бобров С. В., Ефремов А. В., Вакулин Г. М. Функциональная морфология и ультраструктурные изменения тканей при воздействии разных антигенов и их коррекция с использованием эссенциальных фосфолипидов. Бюл. СО РАМН. 2002. Т. 104. № 2. С. 129–137.

Information about the authors:

Mytskan Bogdan Mykhailovych,

Doctor of Biological Sciences,
Professor at the Department of Theory and Methods of Physical Culture
Vasyl Stefanyk Precarpathian National University
57, Shevchenka str., Ivano-Frankivsk, 76000, Ukraine

Lysenko Yurii Oleksandrovych,

Doctor of Philosophy in Physical Therapy, Occupational Therapy,
Rehabilitation doctor,
Szprotow County Hospital
Szprotow, 67300, Poland

Mytskan Tetiana Stepanivna,

Candidate of Psychological Sciences,
Associate Professor at the Department of Theory and Methods of
Physical Culture Vasyl Stefanyk Precarpathian National University
57, Shevchenka str., Ivano-Frankivsk, 76000, Ukraine

Popel Serhii Liubomyrovych,

Doctor of Philosophy in Medicine,
Associate Professor at the Department of Theory and Methods of
Physical Culture Vasyl Stefanyk Precarpathian National University
57, Shevchenka str., Ivano-Frankivsk, 76000, Ukraine