

## **ХРОНІЧНА ІШЕМІЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ: ДЕЯКІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОЦЕСІВ АПОПТОЗУ ЛЕЙКОЦИТІВ КРОВІ, ОКИСНОГО СТРЕСУ ТА МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ**

**©Р. Б. Насалик, С. І. Шкробот, Н. Р. Сохор, Х. В. Дуве**

*Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України*

**РЕЗЮМЕ.** Вивчення показників раннього та пізнього апоптозу, окисного стресу та мітохондріальної дисфункції, з'ясування їх зв'язку з когнітивними розладами сприяють удосконаленню діагностичних підходів та оптимізації прогнозування перебігу захворювання.

**Мета** – вивчення показників раннього та пізнього апоптозу, окисного стресу та мітохондріальної дисфункції у хворих із хронічною ішемією головного мозку (ХІМ) у поєднанні з гідроцефалією (ГЦ).

**Матеріал і методи.** Проведено комплексне обстеження 140 пацієнтів з ХІМ та ГЦ. Враховували локалізацію ГЦ, дані Монреальського когнітивного тесту. Дослідження показників апоптозу, мітохондріальної дисфункції, внутрішньоклітинного окисного стресу здійснено цитофлуориметричним методом за допомогою проточного цитофлуориметра EpicsXL (Beckman Coulter, США). Оцінювали дані комп'ютерної томографії головного мозку з подальшим визначенням морфометричних показників та індексів. Для статистичної обробки результатів користувались програмами Microsoft Excel 2011, Statistica.

**Результати.** Встановлено, що у хворих із ХІМ з ГЦ достовірно ( $p < 0,05$ ) вищий вміст лейкоцитів у стадії апоптозу та некрозу і лейкоцитів із підвищеним вмістом внутрішньоклітинних АФК та зі зниженим мітохондріальним потенціалом, порівняно з пацієнтами без ГЦ. Установлено достовірно вищий відсоток клітин у стадії раннього апоптозу, АФК<sup>+</sup>- та Mito<sup>+</sup>-клітин при помірному та тяжкому ступенях ГЦ, порівняно з хворими з легкою ГЦ ( $p < 0,001$ ). Установлено достовірно відмінні значення вмісту ANV<sup>+</sup>, АФК<sup>+</sup>-клітин ( $p < 0,001$ ) у хворих 1А та 1В груп, порівняно з пацієнтами 1Б групи ( $p < 0,001$ ), особливо у 1А групі хворих з переважним розширенням передніх рогів БШ ( $20,84 \pm 0,54$ ) %.

Вміст клітин у стадії апоптозу у 1 та 2 групах становив, відповідно, ( $18,35 \pm 1,12$ ) % та ( $14,49 \pm 0,59$ ) %, у стадії некрозу – ( $1,40 \pm 0,09$ ) % та ( $1,14 \pm 0,10$ ) %, АФК<sup>+</sup>-клітин – ( $20,50 \pm 1,41$ ) % та ( $16,94 \pm 1,29$ ) %, Mito<sup>+</sup>-клітин – ( $8,63 \pm 0,23$ ) та ( $10,19 \pm 0,20$ ) %. Установлено достовірно вищі показники ANV<sup>+</sup>, PI<sup>+</sup>, АФК<sup>+</sup>- та Mito<sup>+</sup>-клітин за наявності ГЦ ( $p < 0,05$ ).

**Висновки.** Виявлена залежність між морфометричними показниками, які свідчать про підкіркову та кіркову церебральну атрофію, вираженням когнітивного дефіциту, формою ГЦ та маркерами раннього та пізнього апоптозу.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** хронічна ішемія мозку; гідроцефалія; апоптоз; мітохондріальна дисфункція; окисний стрес.

**Вступ.** Хронічна ішемія мозку (ХІМ) та гострі цереброваскулярні захворювання є однією з найважливіших медичних і соціальних проблем в усьому світі з огляду на їх значну поширеність та тяжкі наслідки.

Доволі поширеним явищем є поєднання ХІМ та гідроцефалії (ГЦ) [1]. З однієї сторони, така комбінація можлива, власне, при одночасній наявності ХІМ та нормотензивної гідроцефалії (НТГ), з іншої – це пояснюється морфологічною стадійністю прогресування ХІМ (як приклад – замісна гідроцефалія при атрофічних процесах), набряку [2]. У значній частині пацієнтів із гідроцефалією знаходяться безліч дрібних ішемічних вогнищ, або лейкоареозу, що не суперечить діагнозу, оскільки можливе поєднання нормотензивної гідроцефалії і цереброваскулярної недостатності [3].

Смерть нейронів гіпокампа є ключовим фактором судинної деменції (СД), спричиненої гіпоперфузією при ХІМ. Судинна гіпотеза свідчить про те, що помірна та стійка хронічна церебральна гіпоперфузія призводить до васкулотоксичних та нейротоксичних ефектів через зменшення загального об'ємного кровотоку та тривалу гіпоксію, що сприяє нейродегенерації та когнітивним порушен-

ням [4]. У нервово-судинних одиницях мозку нейрони є електрично функціональними клітинами і вимагають постійного надходження глюкози та кисню [5]. Смерть нейронів, яка є основною причиною втрати нейронів, є ключовою ознакою СД, пов'язаною з ХІМ [6].

Посилення апоптозу та судинного опору при СД виникає в результаті епендимального просякання, порушення потоку інтерстиціальної рідини, вазогенного набряку та ураження перивентрикулярної білої речовини. Крім того, спостерігається перерозподіл та накопичення бета-амілоїду по периваскулярних просторах [6]. Окислювальний стрес також відіграє ключову роль у розвитку церебральної ішемії, і взаємодія eNOS та активних форм кисню спричиняє абераційний розпад ліпідів. Це призводить до відкладання токсичних продуктів у судинній стінці, пошкодження ДНК та запрограмованої загибелі клітин.

ГЦ сама по собі може викликати зниження загального об'ємного кровотоку та посилення ішемії мозку, а, отже, й процеси загибелі нейронів [7].

**Мета** – вивчення показників раннього та пізнього апоптозу, окисного стресу та мітохондріальної дисфункції у хворих із ХІМ у поєднанні з ГЦ.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

**Матеріал і методи дослідження.** Обстежено 140 хворих (67 (47,86 %) жінок та 73 (52,14 %) чоловіки) з ХІМ віком від 44 до 82 років (середній вік ((65,78±9,11) роки), які отримували стаціонарне лікування в Тернопільській обласній комунальній клінічній психоневрологічній лікарні. У всіх хворих була діагностована гіпертонічна хвороба, яка поєднувалася з церебральним атеросклерозом у 77 (55,00 %), з ІХС – у 28 (20,00 %), зі стенокардією напруги – у 5 (3,57 %), із цукровим діабетом – у 10 (7,14 %) осіб. Гостре порушення мозкового кровообігу в анамнезі було у 34 (24,29 %) хворих. ХІМ I ст. діагностовано у 30 (21,43 %), ХІМ II ст. – у 90 (64,29 %), ХІМ III ст. – у 20 (14,29 %) хворих. Усіх хворих було поділено на дві групи. Першу групу склали 110 (78,57 %) хворих із ХІМ, у яких діагностовано ознаки внутрішньої – у 37 (33,64 %) – 1А група; зовнішньої – у 26 (18,57 %) – 1Б група; чи змішаної ГЦ – у 47 (47,73 %) хворих – 1В група. Легкий ступінь ГЦ було встановлено у 26 (23,64 %), помірний – у 57 (51,82 %), тяжкий – у 27 (24,55 %) пацієнтів. До 2 групи (групи порівняння) увійшли 30 (21,43 %) пацієнтів з ХІМ без проявів ГЦ. Контрольну групу (КГ) склали 20 практично здорових осіб, репрезентативних за віком та статтю. Стан когнітивних функцій оцінювали за Монреальською шкалою когнітивних функцій (MoCA-тест). Нейровізуалізацію про-

дили за допомогою спіральної комп'ютерної томографії (КТ) на апараті фірми Asteion 4 (Toshiba). Дослідження показників апоптозу, мітохондріальної дисфункції, внутрішньоклітинного окисного стресу здійснювали цитофлуориметричним методом за допомогою проточного цитофлуориметра EpicsXL (Beckman Coulter, США). Кількість лейкоцитів периферійної крові в стадії апоптозу (ANV<sup>+</sup>-клітини) і некрозу (PI<sup>+</sup>-клітини) визначали за допомогою набору реагентів ANNEXIN V-FITC-kit (Bender Medsystems, Австрія), кількість лейкоцитів периферійної крові з підвищеним рівнем внутрішньоклітинних АФК (АФК<sup>+</sup>-клітин) – за допомогою дихлорфлуоресцеїну діацетату («Sigma-Aldrich», USA), кількість лейкоцитів зі зниженим рівнем потенціалу мітохондріальних мембран (Mito<sup>+</sup>-клітини) – за допомогою набору реагентів Mito Capture TM Mitochondrial Apoptosis Detection Fluorometric Kit («Biovision», США).

Статистичний аналіз проводили на персональному комп'ютері з використанням програми Statistica v. 6.1.

**Результати й обговорення.** Встановлено, що у хворих з ХІМ спостерігався достовірно ( $p < 0,05$ ) вищий вміст лейкоцитів у стадії апоптозу та некрозу і лейкоцитів з підвищеним вмістом внутрішньоклітинних АФК та Mito<sup>+</sup>-клітин по відношенню до КГ (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст ANV<sup>+</sup>, PI<sup>+</sup>, АФК<sup>+</sup> та Mito<sup>+</sup>-лейкоцитів у хворих із хронічною ішемією мозку, % (M±m)

Показник	КГ (n=20)	Хворі з ХІМ (n=140)
ANV <sup>+</sup> -клітини	3,05±0,52	17,89±0,64*
PI <sup>+</sup> -клітини	0,29±0,04	1,34±0,05*
АФК <sup>+</sup> -клітини	10,06±0,35	19,08±0,72*
Mito <sup>+</sup> -клітини	4,08±0,16	9,16±0,21*

Примітка. \* показники достовірні по відношенню до значень КГ ( $p < 0,001$ ).

Проведено оцінку процесів раннього та пізнього апоптозу, окисного стресу та мітохондріальної дисфункції у хворих 1 (з ГЦ) та 2 груп (без ГЦ). У хворих обох груп відмічалися достовірно відмінні значення усіх визначуваних параметрів. Проте, встановлено достовірно вищі показники ANV<sup>+</sup>-, PI<sup>+</sup>-, АФК<sup>+</sup>- та Mito<sup>+</sup>-клітин за наявності ГЦ ( $p < 0,05$ ). Так, вміст клітин у стадії апоптозу у 1 та 2 групах становив відповідно (18,35±1,12) % та

(14,49±0,59) %, у стадії некрозу (1,40±0,09) % та (1,14±0,10) %, АФК<sup>+</sup>-клітин (20,50±1,41) % та (16,94±1,29) %, Mito<sup>+</sup>-клітин (8,63±0,23) та (10,19±0,20) %. Тобто, наявність ГЦ при ХІМ поєднувалася з достовірно вищим зростанням активності апоптичних процесів.

Досліджено вміст вміст AN<sup>+</sup>-, PI<sup>+</sup>-, АФК<sup>+</sup>- та Mito<sup>+</sup>-клітин у хворих з ХІМ в залежності від форми ГЦ (табл. 2).

Таблиця 2. Вміст ANV<sup>+</sup>, PI<sup>+</sup>, АФК<sup>+</sup> та Mito<sup>+</sup>-клітин у хворих з хронічною ішемією мозку залежно від ступеня тяжкості гідроцефалії (M±m), %

Показник	Групи хворих		
	1А, n=37	1Б, n=26	1В, n=47
ANV <sup>+</sup> -клітини	19,69±0,70*	14,54±0,64	18,29±0,81*
PI <sup>+</sup> -клітини	1,28±0,06*	1,49±0,06	1,31±0,08*
АФК <sup>+</sup> -клітини	23,12±0,52*	17,30±0,34	22,21±0,47*
Mito <sup>+</sup> -клітини	8,81±0,51*	10,69±0,50	9,03±0,24

Примітка. \* показники достовірні по відношенню до значень хворих 1Б групи ( $p < 0,001$ ).

При всіх формах ГЦ спостерігалися достовірно вищі показники ANV<sup>+</sup>-клітин, порівняно з КГ ( $p < 0,001$ ). Установлені достовірні відмінності значення вмісту ANV<sup>+</sup>-клітин у хворих 1А та 1В груп по відношенню до пацієнтів 1Б групи ( $p < 0,001$ ). Найвищий рівень лейкоцитів у стадії апоптозу зафіксовано у 1А групі хворих із переважним розширенням передніх рогів бокових шлуночків (БШ) ( $20,84 \pm 0,54$ ) %. Не діагностовано достовірної різниці у кількості клітин у стадії некрозу в хворих із різними формами ГЦ ( $p > 0,05$ ), хоча найвищий рівень PI<sup>+</sup>-клітин спостерігався у хворих 1Б групи. Співвідношення між кількістю лейкоцитів у стадії апоптозу та некрозу в 1А групі склало 1:15,38, у 1Б – 1:9,75, у 1В – 1:13,96. Отримані дані свідчать про те, що у клітинній загибелі при внутрішній та змішаній формах ГЦ при ХІМ переважають апоптичні процеси і менш активуються процеси некрозу, що було найбільше виражено у пацієнтів 1А групи. При зовнішній ГЦ при ХІМ найбільшою мірою, порівняно з іншими хворими 1 групи, активувалися процеси некрозу.

Вміст Mito<sup>+</sup>-клітин був достовірно вищим при різних формах ГЦ, порівняно з КГ ( $p < 0,001$ ). Порівняно з показниками хворих 1А та 1В груп, кількість клітин зі зниженим мітохондріальним потенціалом у 1Б групі була дещо вищою, проте достовірної відмінності виявлено не було. Спостерігалася залежність між кількістю ANV<sup>+</sup>- та Mito<sup>+</sup>-клітин при всіх формах ГЦ: 1А – ( $r = 0,31$ ,  $p = 0,040$ ), 1Б – ( $r = 0,29$ ,  $p = 0,036$ ), 1В – ( $r = 0,27$ ,  $p = 0,043$ ). Також встановлено кореляцію між вмістом PI<sup>+</sup>- та Mito<sup>+</sup>-клітин у хворих 1Б групи ( $r = 0,45$ ,  $p = 0,021$ ). Отримані дані, ймовірно, свідчать про те, що в процесах апоптозу, які в більшій мірі виражені при внутрішній та змішаній ГЦ, домінуючу роль відігравали активні форми кисню, і в меншій мірі – мітохондріальна дисфункція. У хворих із ознаками зовнішньої ГЦ у процесах некрозу лейкоцитів крові відмічена переважна роль порушення трансмембранного мітохондріального потенціалу і меншою мірою – окисного стресу.

Для визначення значення процесів апоптозу та некрозу в розвитку атрофічного процесу в хворих із ХІМ з гідроцефалією ми провели кореляційний аналіз морфометричних показників із вмістом ANV<sup>+</sup>-, PI<sup>+</sup>-, АФК<sup>+</sup>-та Mito<sup>+</sup>-клітин. Установлені такі кореляції. У хворих 1А та 1В груп: ANV<sup>+</sup>-клітини / бікаудатний індекс (БКІ) – ( $r = 0,42$ ;  $p = 0,020$ ), ANV<sup>+</sup>-клітини / біфронтальний індекс (БФІ) – ( $r = 0,48$ ;  $p = 0,017$ ). У хворих із морфометричними ознаками внутрішньої ГЦ (1А група) встановлено помірний зв'язок між кількістю АФК<sup>+</sup>-клітин та числом Еванса ( $r = 0,41$ ;  $p = 0,033$ ) та ANV<sup>+</sup>-клітин із показниками, які характеризують ширину бічних шлуночків: БКІ ( $r = 0,50$ ;  $p = 0,008$ ) та БФІ ( $r = 0,53$ ;  $p = 0,005$ ).

У хворих із зовнішньою ГЦ установлено кореляційну залежність між концентрацією PI<sup>+</sup>-клітин із шириною субарахноїдальних просторів (САП) на рівні полюсів лобних і потиличних часток ( $r = -0,42$ ;  $p = 0,020$  й  $r = 0,37$ ;  $p = 0,006$  відповідно). Також виявлена залежність між вмістом лейкоцитів у стадії некрозу з наступними морфометричними індексами: БФІ ( $r = -0,32$ ;  $p = 0,012$ ); БКІ ( $r = -0,30$ ;  $p = 0,020$ ). Відсоток ANV<sup>+</sup>-клітин слабо корелював із бітемпоральним індексом ( $r = -0,25$ ;  $p = 0,040$ ) та БКІ ( $r = -0,29$ ;  $p = 0,035$ ).

Отже, отримані результати дозволяють констатувати наявність у хворих 1А та 1В груп помірної залежності між морфометричними маркерами внутрішньої ГЦ та показниками, які характеризують стан процесів апоптозу та генерації АФК у периферичній крові. У хворих із зовнішньою ГЦ установлено помірну кореляційну залежність між концентрацією PI<sup>+</sup>-клітин та шириною САП та слабку – між кількістю клітин у стадії апоптозу і некрозу із значеннями БКІ та БФІ.

Встановлена залежність між деякими показниками когнітивної і психоемоційної сфер із показниками апоптозу та окисного стресу. Так, у хворих 1А та 1В груп виявлені такі кореляції: ANV<sup>+</sup>-клітини / МоСА-тест – ( $r = -0,58$ ;  $p = 0,005$ ), ANV<sup>+</sup>-клітин та «зорово-конструктивні навички» ( $r = -0,61$ ;  $p = 0,005$ ), ANV<sup>+</sup>-клітини / HADS депресія – ( $r = 0,39$ ;  $p = 0,005$ ), АФК<sup>+</sup>-клітини / депресія ( $r = 0,49$ ;  $p = 0,010$ ), АФК<sup>+</sup>-клітини / МоСА ( $r = 0,52$ ;  $p = 0,008$ ). За іншими показниками фіксувалися слабкі кореляційні зв'язки. Одночасно діагностовані кореляції між морфометричними показниками (БКІ, БФІ, числом Еванса) та вмістом ANV<sup>+</sup>-та АФК<sup>+</sup>-клітин, між морфометричними показниками (БКІ, шириною лівого шлуночка) зі значенням шкали МоСА, підшкалами «мовлення», «зорово-конструктивні навички», «орієнтація», тривогою та депресією можуть свідчити про наростання когнітивних та психоемоційних змін у зв'язку з посиленням окисного стресу, апоптозом клітин, що призводять до атрофічних змін речовини мозку і, як наслідок, до розвитку порушень пам'яті та емоційно-вольових розладів.

У 1Б групі спостерігалася наступна залежність: PI<sup>+</sup>-клітини / МоСА ( $r = 0,48$ ;  $p = 0,012$ ), PI<sup>+</sup>-клітини / «тривожність» ( $r = 0,53$ ;  $p = 0,008$ ), PI<sup>+</sup>-клітини / депресія ( $r = 0,60$ ;  $p = 0,008$ ). Виявлені кореляційні зв'язки між показником мітохондріальної дисфункції (Mito<sup>+</sup>-клітини) та такими параметрами: МоСА ( $r = 0,55$ ;  $p = 0,006$ ), «тривожність» ( $r = 0,45$ ;  $p = 0,010$ ).

Дослідження кореляційних зв'язків між окремими морфометричними індексами та даними лабораторного дослідження підтвердило наявність статистично значущої залежності між часткою PI<sup>+</sup>-клітин й шириною САП на рівні лобних і потиличних часток та результатом МоСа-тесту.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

Проведений аналіз процесів раннього та пізнього апоптозу у хворих із ХІМ 1 групи в залежності від ступеня тяжкості гідроцефалії (табл. 3).

Результати, отримані у хворих з ХІМ, достовірно ( $p=0,001$ ) відрізнялися від значень контролю, що свідчить про активацію процесів апоптозу лейкоцитів периферійної крові в усіх групах. Установлено достовірно вищий відсоток клітин у стадії раннього апоптозу при помірному та тяжкому

ступенях ГЦ, порівняно з хворими з легкою ГЦ ( $p<0,001$ ). Вміст  $PI^+$ -клітин був достовірно вищим лише при тяжкій ГЦ, порівняно з хворими із легкою ГЦ. Співвідношення  $PI^+ / AnV^+$ -клітин у даних групах коливалося в межах від 1:12,87 (легка ГЦ) до 1:14,95 (тяжка ГЦ), при значенні контрольної групи 1:10,51. Цей факт вказує на дисбаланс процесів раннього та пізнього апоптозу при різних ступенях тяжкості ГЦ.

Таблиця 3. Вміст  $ANV^+$ ,  $PI^+$ ,  $AФК^+$  та  $Mito^+$ -клітин у хворих з хронічною ішемією мозку залежно від ступеня тяжкості гідроцефалії ( $M \pm m$ ), %

Показник	Ступінь тяжкості ГЦ		
	легкий, n=26	помірний, n=57	тяжкий, n=27
$ANV^+$ -клітини	16,22±0,74	18,95±0,89*	21,38±0,53*
$PI^+$ -клітини	1,26±0,09	1,35±0,06	1,43±0,08*
$AФК^+$ -клітини	16,85±0,60	19,73±0,80*	22,91±0,63*
$Mito^+$ -клітини	8,31±0,27	9,23±0,28*	10,75±0,20*

Примітка. \* – показники достовірні по відношенню до значень хворих із легкою ГЦ ( $p<0,001$ ).

Свідченням активації окисного стресу при різних ступенях тяжкості ГЦ є достовірно ( $p<0,01$ ) вища за контрольні значення частка  $AФК^+$ -клітин: (16,85±0,60) % – легка ГЦ, (19,73±0,80) % – помірна ГЦ та (22,91±0,63) % – тяжка ГЦ. Між значеннями у групах показники  $AФК^+$ -клітин при тяжкій ГЦ статистично достовірно відрізнялися від значень хворих із легкою та помірною ГЦ ( $p<0,05$ ).

При легкій ГЦ не зафіксовано достовірних кореляцій між вмістом  $PI^+$ ,  $AnV^+$ -клітин та віком пацієнтів. У групі хворих із помірною ГЦ виявлено слабку ( $r=0,28$ ;  $p=0,036$ ), а при тяжкій ГЦ – помірну ( $r=0,37$ ;  $p=0,020$ ) залежність між віком хворих і часткою  $AnV^+$ -клітин. Найвищий рівень усіх досліджуваних показників був у хворих старше 74 років при тяжкому ступені ГЦ.

**Висновки.** 1. У хворих із ХІМ з ГЦ виявлено достовірно ( $p<0,05$ ) вищий вміст лейкоцитів у стадії апоптозу та некрозу і лейкоцитів з підвищеним вмістом внутрішньоклітинних АФК та зі зниженим мітохондріальним потенціалом, порівняно з пацієнтами без ГЦ.

2. Встановлено достовірно вищий відсоток

клітин у стадії раннього апоптозу,  $AФК^+$  та  $Mito^+$ -клітин при помірному та тяжкому ступенях ГЦ, порівняно з хворими з легкою ГЦ ( $p<0,001$ ). Вміст  $PI^+$ -клітин був достовірно вищим лише при тяжкій ГЦ, порівняно з хворими із легкою ГЦ.

3. При всіх формах ГЦ спостерігалися достовірно вищі показники  $ANV^+$ -клітин, порівняно з КГ. Установлено достовірно відмінні значення вмісту  $ANV^+$ ,  $AФК^+$ -клітин ( $p<0,001$ ) у хворих 1А та 1В груп, по відношенню до пацієнтів 1Б групи ( $p<0,001$ ), особливо у 1А групі хворих із переважним розширенням передніх рогів БШ (20,84±0,54) %. Не виявлено достовірної різниці у кількості  $PI^+$  та  $Mito^+$ -клітин у хворих з різними формами ГЦ.

4. При внутрішній та змішаній формах ГЦ при ХІМ встановлено переважаючу роль у клітинній загибелі апоптичних процесів і меншу активацію процесів некрозу. У процесах апоптозу домінуючу роль відігравали АФК, і в меншій мірі – мітохондріальна дисфункція. При зовнішній ГЦ найбільше, порівняно з іншими хворими 1 групи, активувалися процеси некрозу і порушення трансмембранного мітохондріального потенціалу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Дамулин И. В. Падения у пожилых / И. В. Дамулин. – М., 2005. – 152 с.
2. Williams M. A. Diagnosis and management of idiopathic normal pressure hydrocephalus / M. A. Williams, N. R. Relkin // *Neurol. Clin. Pract.* – 2013. – Vol. 3 (5). – P. 375–385.
3. A review of cognitive impairment and differential diagnosis in idiopathic normal pressure hydrocephalus /

M. Picascia, R. Zangaglia, S. Bernini [et al.] // *Funct. Neurol.* – 2015. – Vol. 30 (4). – P. 217–229.

4. Raz L. The neuropathology and cerebrovascular mechanisms of dementia / L. Raz, J. Knoefel, K. Bhaskar // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2016. – Vol. 36 (1). – P. 172–186.
5. Protective effects of sulforaphane in experimental vascular cognitive impairment: contribution of the Nrf2



Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення  
pathway / L. Mao, T. Yang, X. Li [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2019. – Vol. 39 (2). – P. 352–366.

6. MicroRNA-195 prevents dendritic degeneration and neuron death in rats following chronic brain hypoperfusion / X. Chen, X. M. Jiang, L. J. Zhao [et al.] // *Cell Death Dis.* – 2017. – Vol. 8 (6). – e2850. DOI: 10.1038/cddis.2017.243.

7. Current concepts on the pathophysiology of idiopathic chronic adult hydrocephalus: Are we facing another neurodegenerative disease? / R. Martín-Láez, N. Valle-San Román, E. M. Rodríguez-Rodríguez [et al.] // *Neurologia (Engl. Edn.)*. – 2018. – Vol. 33 (7). – P. 449–458.

#### REFERENCES

1. Damulin, I.V. (2005). *Padeniya u pozhilykh [Falls in the elderly]*. Moscow [in Russian].

2. Williams, M.A., & Relkin, N.R. (2013). Diagnosis and management of idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Neurol. Clin. Pract.*, 3 (5), 375-385. DOI: 10.1212/CPJ.0B013E3182A78F6B

3. Picascia, M., Zangaglia, R., Bernini, S., Minafra, B., Sinforiani, E., & Pacchetti, C. (2015). A review of cognitive impairment and differential diagnosis in idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Funct. Neurol.*, 30 (4), 217-229. DOI: 10.11138/fneur/2015.30.4.217

4. Raz, L., Knoefel, J., & Bhaskar, K. (2016). The neuropathology and cerebrovascular mechanisms of dementia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 36 (1), 172-186. DOI: 10.1038/jcbfm.2015.164

5. Mao, L., Yang, T., Li, X., Lei, X., Sun, Y., Zhao, Y., & Zhang, F. (2019). Protective effects of sulforaphane in experimental vascular cognitive impairment: contribution of the Nrf2 pathway. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 39 (2), 352-366. DOI: 10.1177/0271678X18764083

6. Chen, X., Jiang, X.M., Zhao, L.J., Sun, L.L., Yan, M.L., Tian, Y., & Ai, J. (2017). MicroRNA-195 prevents dendritic degeneration and neuron death in rats following chronic brain hypoperfusion. *Cell Death Dis.*, 8 (6), e2850. DOI: 10.1038/cddis.2017.243

7. Martín-Láez, R., Valle-San Román, N., Rodríguez-Rodríguez, E.M., Marco-de Lucas, E., Berciano Blanco, J.A., & Vázquez-Barquero, A. (2018). Current concepts on the pathophysiology of idiopathic chronic adult hydrocephalus: Are we facing another neurodegenerative disease? *Neurologia (Eng. Edn.)*, 33 (7), 449-458.

## ХРОНИЧЕСКАЯ ИШЕМИЯ МОЗГА: НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ АПОПТОЗА ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ, ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

©Р. Б. Насалык, С. И. Шкробот, Н. Р. Сохор, К. В. Дуве

Тернопольский национальный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МОЗ Украины

**РЕЗЮМЕ.** Изучение показателей раннего и позднего апоптоза, окислительного стресса и митохондриальной дисфункции, выяснения их связи с когнитивными расстройствами способствует усовершенствованию диагностических подходов и оптимизации прогнозирования течения заболевания.

**Цель** – изучение показателей раннего и позднего апоптоза, окислительного стресса и митохондриальной дисфункции у больных хронической ишемией мозга (ХИМ) в сочетании с гидроцефалией (ГЦ).

**Материал и методы.** Проведено комплексное обследование 140 пациентов с ХИМ и ГЦ. Учитывали локализацию ГЦ, данные Монреальского когнитивного теста. Оценивали данные компьютерной томографии головного мозга с последующим определением морфометрических показателей и индексов. Для статистической обработки результатов пользовались программами Microsoft Excel 2011, Statistica.

**Результаты.** Установлено, что у больных ХИМ и ГЦ достоверно ( $p < 0,05$ ) выше содержание лейкоцитов в стадии апоптоза и некроза и лейкоцитов с повышенным содержанием внутриклеточных АФК и со сниженным митохондриальным потенциалом по отношению к пациентам без ГЦ. Установлен достоверно более высокий процент клеток в стадии раннего апоптоза, АФК+ - и Mito+ клеток при умеренном и тяжелом степенях ГЦ, по сравнению с больными с легкой ГЦ ( $p < 0,001$ ). Установлены достоверно различающиеся значения содержания ANV+ -, АФК+ клеток ( $p < 0,001$ ) у больных 1А и 1В групп по отношению к пациентам 1Б группы ( $p < 0,001$ ), особенно в 1А группе больных с преимущественным расширением передних рогов БШ ( $20,84 \pm 0,54$ ) %.

Содержание клеток в стадии апоптоза в 1 и 2 группах составило, соответственно, ( $18,35 \pm 1,12$ ) % и ( $14,49 \pm 0,59$ ) %, в стадии некроза – ( $1,40 \pm 0,09$ ) % и ( $1,14 \pm 0,10$ ) %, АФК+ клеток – ( $20,50 \pm 1,41$ ) % и ( $16,94 \pm 1,29$ ) %, Mito+ клеток – ( $8,63 \pm 0,23$ ) и ( $10,19 \pm 0,20$ ) %. Установлены достоверно более высокие показатели ANV+ -, РИ+ -, АФК+ и Mito+ клеток при наличии ГЦ ( $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Установлена зависимость между морфометрическими показателями, которые свидетельствуют о подкорковой и корковой церебральной атрофии, выраженностью когнитивного дефицита, формой ГЦ и маркерами раннего и позднего апоптоза.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** хроническая ишемия мозга; гидроцефалия; апоптоз; митохондриальная дисфункция; окислительный стресс.

## **CHRONIC BRAIN ISCHEMIA: SOME FEATURES OF BLOOD LEUCOCYTIC APOPTOSIS PROCESSES, OXIDATIVE STRESS AND MITOCHONDRIAL DIFFUSION**

©R. B. Nasalyk, S. I. Shkrobot, N. R. Sokhor, Khr. V. Duve

*I. Horbachevsky Ternopil National Medical University*

**SUMMARY.** The study of indicators of early and late apoptosis, oxidative stress and mitochondrial dysfunction, elucidation of their connection with cognitive disorders contributes to the improvement of diagnostic approaches and optimization of disease prognosis.

**The aim** – to research the indicators of early and late apoptosis, oxidative stress and mitochondrial dysfunction in patients with CBI in combination with HC.

**Material and Methods.** A comprehensive examination of 140 patients with CBI and HC was carried out. We took into account the localization of HC, the data of the Montreal cognitive test. Studies of apoptosis, mitochondrial dysfunction, intracellular oxidative stress were performed by cytofluorimetric method using a flow cytofluorimeter EpicsXL (Beckman Coulter, USA). The data of computed tomography of the brain were evaluated, followed by the determination of morphometric parameters and indices. For statistical processing of the results, we used Microsoft Excel 2011 and Statistica programs.

**Results.** It was found that in patients with CBI and HC significantly ( $p<0.05$ ) higher content of leukocytes in the stage of apoptosis and necrosis and leukocytes with high content of intracellular AFO and with reduced mitochondrial potential compared to patients without HC. There was a significantly higher percentage of cells in the stage of early apoptosis, AFO<sup>-</sup> and Mito<sup>-</sup>-cells in moderate and severe HC in comparison with patients with mild HC ( $p<0.001$ ). Significantly different values of the content of ANV<sup>-</sup>, AFO<sup>+</sup> cells ( $p<0.001$ ) in patients of groups 1A and 1B in relation to patients of group 1B ( $p<0.001$ ), especially in group 1A of patients with predominant enlargement of the anterior horns of the BV ( $20.84\pm 0.54$ ) %.

The content of cells in the stage of apoptosis in groups 1 and 2 was ( $18.35\pm 1.12$ ) % and ( $14.49\pm 0.59$ ) %, respectively, in the stage of necrosis ( $1.40\pm 0.09$ ) % and ( $1.14\pm 0.10$ ) %, AFO<sup>+</sup> cells ( $20.50\pm 1.41$ ) % and ( $16.94\pm 1.29$ ) %, Mito<sup>+</sup> cells ( $8.63\pm 0.23$ ) and ( $10.19\pm 0.20$ ) %. Significantly higher indicators of ANV<sup>-</sup>, PI<sup>-</sup>, AFO<sup>-</sup> and Mito<sup>-</sup>-cells in case of the presence of HC ( $p<0.05$ ).

**Conclusions.** The relationship between morphometric parameters, which indicate subcortical and cortical cerebral atrophy, the severity of cognitive deficits, the form of HC depending on the markers of early and late apoptosis.

**KEY WORDS:** chronic brain ischemia; hydrocephalusapoptosis; mitochondrial dysfunction; oxidative stress.

Отримано 03.02.2021