

УДК: 577.121.7.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ, КОРРИГИРУЮЩИХ УРОВЕНЬ МЕЛАТОНИНА, НА СТЕПЕНЬ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ, АКТИВНОСТЬ АМИНОТРАНСФЕРАЗ И КАТАЛАЗЫ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ АЛКОГОЛЬНЫМ ГЕПАТИТОМ

С.С. ПОПОВ¹
А.Н. ПАШКОВ¹
К.К. ШУЛЬГИН²
А.О. СТОЛЯРОВА²

¹*Воронежская государственная медицинская академия имени Н.Н. Бурденко*

²*Воронежский государственный университет*

e-mail: popov-endo@yandex.ru

Проведено исследование уровня первичных продуктов пероксидного окисления липидов – диеновых конъюгатов, активностей аминотрансфераз и каталазы в сыворотке крови пациентов с хроническим алкогольным гепатитом, находящихся на базисном лечении, включающем гепатопротекторы, и комбинированной терапии с мелатонин-корректирующими препаратами – эпифамином и мелаксенем. При патологии наблюдалось увеличение активности аминотрансфераз и каталазы, а также содержания ДК, что свидетельствовало о повреждении гепатоцитов, сопровождающемся интенсификацией свободнорадикальных процессов. Комбинированная терапия с эпифамином и мелаксенем оказывала более благоприятное воздействие на состояние свободнорадикального гомеостаза в организме больных, что подтверждалось более выраженными изменениями исследуемых параметров в сторону нормы по сравнению с базисным лечением.

Ключевые слова: хронический алкогольный гепатит, свободнорадикальные процессы, каталаза, эпифамин, мелаксен.

Непосредственное токсическое действие этанола на гепатоциты вызывает нарушение их жизнедеятельности, дистрофию и некроз. Под действием алкогольдегидрогеназ из алкоголя образуется ацетальдегид, который в десятки раз более токсичен, чем этанол. Около 90% принимаемого алкоголя метаболизируется в печени с образованием ацетальдегида, гепатотоксическое действие которого сопряжено с усилением процессов пероксидного окисления липидов (ПОЛ), нарушением функционирования белков, и в том числе ферментов. При избытке активных форм кислорода (АФК) и продуктов ПОЛ происходят структурно-функциональные повреждения важнейших компонентов клетки – нуклеиновых кислот, белков, фосфолипидов клеточных мембран. При чрезмерном образовании свободных радикалов активизируется работа антиоксидантной системы (АОС), которая направлена на предупреждение неблагоприятных последствий оксидативного стресса. К важнейшим компонентам ферментативной антиоксидантной защиты относится каталаза (КФ 1.11.1.6). Данный фермент наиболее длительно сохраняет высокую активность, предотвращая накопление в клетке пероксида водорода. Следует отметить, что скорость реакции разложения H_2O_2 лимитируется лишь скоростью диффузии субстрата к активному центру каталазы [10]. В наших предыдущих работах было показано, что для снижения степени выраженности оксидативного стресса, сопровождающего развитие патологических состояний у экспериментальных животных, могут быть использованы препараты, корректирующие уровень мелатонина в организме [1]. В настоящей работе мы использовали на фоне проведения базисной терапии у больных с хроническим алкогольным гепатитом (ХАГ) в стадии обострения эпифамин и мелаксен. Эпифамин является пептидным биорегулятором, тропным к эпителиально-эпифизарной области. Он относится к классу цитомединов, которые имеют способность обеспечивать коррекцию содержания мелатонина в организме. Эти пептиды не только стимулируют синтез и секрецию мелатонина, но и могут оказывать положительное действие на иммунную систему, нормализовать жировой и углеводный обмен, улучшать микроциркуляцию, а также проявлять антиоксидантное действие [2, 3]. Мелаксен является лекарственным препаратом, имеющим в своем составе мелатонин, который как, известно, является дериватом аминокислот и принимает участие в синхронизации суточных и сезонных ритмов организма, участвует в нейроэндокринной регуляции функций желудочно-кишечного тракта, репродуктивной системы, обладает антиопухолевым действием [4].

Цель работы. Определение активностей аминотрансфераз, содержания первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов (ДК) и активности каталазы у больных ХАГ в стадии обострения, находящихся на базисном лечении и комбинированной терапии с применением препаратов, корректирующих уровень мелатонина – эпифамина и мелаксена.



Материалы и методы. В клиническое исследование было включено 74 человека с алкогольным поражением печени, развивающемся вследствие хронического употребления алкоголя, все пациенты были мужского пола. Возраст больных составлял от 22 до 70 лет: средний возраст – $41,4 \pm 7,2$ года. Все пациенты были больны синдромом алкогольной зависимости. Средняя продолжительность заболевания составляла $2,2 \pm 0,4$ месяца. Диагноз алкогольного гепатита был поставлен на основании клинических признаков заболевания, биохимического исследования крови, данных ультразвукового исследования печени. Из сопутствующих заболеваний чаще всего регистрировались следующие: хронический гастрит – 36 больных (50%), гипертоническая болезнь – 22 пациента (30,5%).

Контрольную группу составили 65 практически здоровых лиц с нормальными показателями общего, биохимического анализов крови.

Критериями исключения из исследования явились: вирусные гепатиты, злокачественные новообразования, сахарный диабет, острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения.

Больные были разделены на 3 группы. Первая группа пациентов (28 человек) находилась на базисном лечении: полный отказ от приема алкоголя, стол № 5, раствор NaCl 0,9% и раствор витамина B₁ 10 мл внутривенно, раствор рибоксина 10 мл внутривенно, раствор витамина B₆ 4 мл внутримышечно, раствор реланиума 4 мл внутривенно, гепатопротекторы: карсил (эквивалент силимарина 35 мг) по 2 таблетки 3 раза в день во время еды, эсливер форте (эссенциальные фосфолипиды 300 мг) по 2 таблетки 3 раза в день в течение 10 дней. Вторая группа пациентов (22 человека) дополнительно к базисной терапии получала эпифамин (ООО «Клиника Института биорегуляции и геронтологии», Санкт-Петербург, Россия; удостоверение качества и безопасности №103, регистрационное удостоверение № 004471.P.643.04.2003, биологически активная добавка) по 1 таблетке (10 мг) 3 раза в день за 10-15 минут до еды в течение 7 дней. Третья группа пациентов (24 человека) дополнительно к базисной терапии получала мелаксен (Unifarm, Inc., США) по 1 таблетке, содержащей 3 мг мелатонина, 1 раз в день за 30-40 минут перед сном в течение 10 дней.

В ходе клинического исследования использовали сыворотку крови больных, находящихся на лечении в стационаре. Кровь для исследования забиралась в пробирки типа «вакутейнер» в утреннее время, натощак, из локтевой вены. Интенсивность ПОЛ оценивали по концентрации ДК в сыворотке крови. Содержание ДК определяли спектрофотометрическим методом. Принцип метода состоит в том, что в ходе ПОЛ на стадии образования свободных радикалов в молекулах полиненасыщенных жирных кислот возникает система сопряженных двойных связей, что сопровождается появлением максимума в спектре поглощения при 233 нм. Активность каталазы определяли на спектрофотометре Hitachi U-1900 (Япония) при длине волны 410 нм, с помощью метода, основанном на способности пероксида водорода образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс. Активность фермента выражали в ферментативных единицах (Е) в расчете на мл сыворотки и в виде удельной активности. Общий белок определяли унифицированным методом по биуретовой реакции [5].

В ходе исследований использовали реактивы отечественного производства марки «хч» или «чда». Результаты опытов сравнивали с контролем. Статистическая обработка материала включала использование стандартных методов вариационной статистики (расчет средних значений (M), ошибки средних значений (m), t-критерия Стьюдента) и непараметрического теста Вилкоксона с использованием прикладных программ «STATISTICA 6.0». Достоверными считались различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Состояние функции печени у больных 1-ой, 2-ой и 3-ей групп до лечения по сравнению с контрольной группой характеризовалось возрастанием уровня активности АлАТ в среднем в 1,3 ($p < 0,05$) раза. Для активности АсАТ также было характерно увеличение во всех группах больных в среднем в 1,2 раза по сравнению с нормой. Данные биохимические показатели подтверждают, что при алкогольном поражении печени у больных происходило нарушение метаболизма и повреждение гепатоцитов, что сопровождалось цитоллизом клеток и выходом в кровь аминотрансфераз. После базисного лечения в 1-ой группе больных происходило уменьшение активности АлАТ и АсАТ в 1,5 и 1,4 ($p < 0,05$) раза соответственно. Во 2-ой группе пациентов, находящихся на комбинированной терапии с эпифамином, уровень АлАТ уменьшался в 1,7 ($p < 0,05$) раза, а уровень АсАТ в 1,5 раза. После комбинированной терапии с мелаксеном происходило уменьшение уровня АлАТ и АсАТ в среднем в 1,8 ($p < 0,05$) и 1,6 ($p < 0,05$) раза соответственно.

Перед лечением в сыворотке крови больных всех групп наблюдалось повышение содержания ДК, являющихся первичными продуктами ПОЛ, в среднем в 1,5 ($p < 0,05$) раза по сравнению с результатами, полученными в контрольной группе. Это свидетельствовало об интенсификации свободнорадикального окисления (СО) биомолекул при алкогольном поражении пе-

чени. При индуцировании данного патогенетического механизма увеличивается выработка АФК и происходит угнетение АОС организма, что в свою очередь приводит к развитию окислительного стресса.

После проведения базисного лечения у больных 1-ой группы происходило уменьшение уровня ДК в сыворотке крови в 1,3 ($p < 0,05$) раза по сравнению данными, полученными до лечения. Во 2-ой группе пациентов после проведения комбинированной терапии с эпифамином содержание ДК в сыворотке уменьшалось также как и в 1-ой группе больных в 1,3 ($p < 0,05$) раза по сравнению с данными, полученными до лечения. В 3-ей группе больных, находящихся на комбинированной терапии с мелаксеном, содержание ДК в сыворотке крови уменьшалось в большей степени, чем у пациентов в предыдущих группах – в 1,4 раза ($p < 0,05$), что свидетельствовало о благоприятном воздействии мелатонина, входящего в состав данного препарата, на процессы ПОЛ (рис. 1).

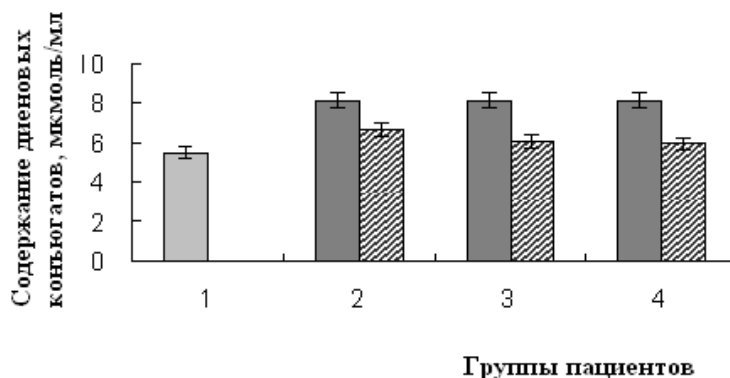


Рис. 1. Содержание диеновых конъюгатов в сыворотке крови: 1- контрольная группа, 2- пациенты с хроническим алкогольным гепатитом, находящиеся на стандартном лечении, 3- пациенты с хроническим алкогольным гепатитом, получавшие комбинированную терапию с эпифамином, 4- пациенты с хроническим алкогольным гепатитом, находящиеся на комбинированной терапии с мелаксеном
 ■ до лечения, ▨ после лечения

Согласно полученным результатам, в сыворотке крови больных с алкогольным гепатитом 1-ой, 2-ой и 3-ей групп до лечения активность каталазы, выраженная в Е на мл, была в среднем выше в 2,1 раза ($p < 0,05$) по сравнению с нормой. При измерении удельной активности фермента наблюдалось ее повышение на 25,6%. Как известно, активация каталазы при алкогольной интоксикации может иметь важное значение, во-первых, для ускорения процессов окисления алкоголя при его высоких концентрациях, во-вторых, для обезвреживания пероксидов, концентрация которых может при этом резко возрасть. Хотя в нормальных условиях каталазный путь окисления этанола малоактивен, так как скорость образования пероксида водорода существенно ниже способности к его утилизации, но он может приобретать определенное значение в ситуациях, сопровождающихся значительным ростом образования АФК [6]. Поскольку уровень ДК свидетельствует о чрезмерной генерации АФК в организме больных, то повышение активности каталазы было, очевидно, связано с необходимостью нейтрализации H_2O_2 , образующегося в повышенных количествах.

После проведения базисного лечения происходило снижение активности каталазы, выраженной в Е на мл сыворотки, в 1,1 раза, а удельной активности – на 10,5% по сравнению с данными, которые были получены перед лечением. После проведения комбинированной терапии с эпифамином происходило уменьшение активности каталазы, выраженной в Е на мл сыворотки на 16,7%, а удельной активности на 12,0% по сравнению с результатами до лечения. В 3-ей группе больных после проведения комплексной терапии с мелаксеном активность каталазы, выраженная в Е на мл сыворотки, уменьшалась на 16,9% по сравнению с данными, полученными до лечения (рис. 2). Удельная активность фермента снижалась на 12,9% (рис. 3).

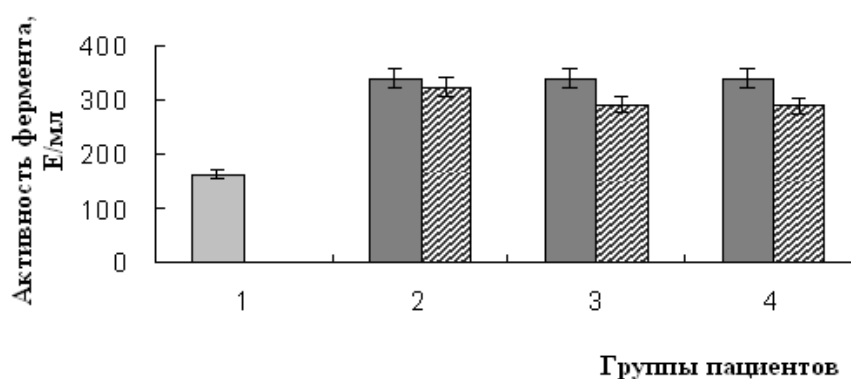


Рис. 2. Активность каталазы, выраженная в Е/мл, в сыворотке крови: 1 – контрольная группа, 2 – пациенты с хроническим алкогольным гепатитом, находящиеся на стандартном лечении, 3 – пациенты с хроническим алкогольным гепатитом, получавшие комбинированную терапию с эпифамином, 4 – пациенты с хроническим алкогольным гепатитом, находящиеся на комбинированной терапии с мелаксеном

■ До лечения, ▨ после лечения

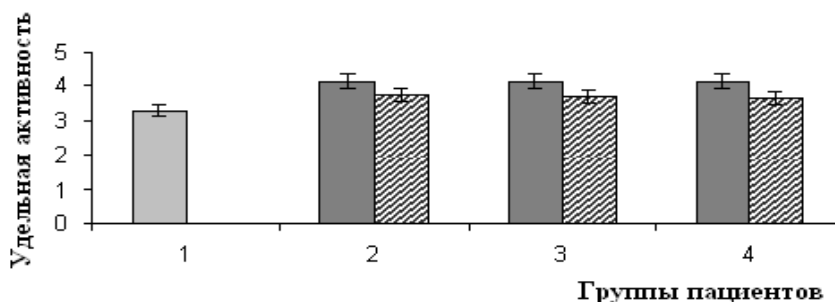


Рис. 3. Удельная активность каталазы в сыворотке крови: 1- контрольная группа, 2- пациенты с хроническим алкогольным гепатитом, находящиеся на стандартном лечении, 3- пациенты с хроническим алкогольным гепатитом, получавшие комбинированную терапию с эпифамином, 4- пациенты с хроническим алкогольным гепатитом, находящиеся на комбинированной терапии с мелаксеном

■ До лечения, ▨ после лечения

Выявленное снижение активности каталазы может быть объяснено положительным влиянием проводимого лечения на общеметаболическое состояние организма, в том числе и на уровень АФК, снижение которого могло приводить к уменьшению степени мобилизации активности каталазы. Однако, по всей видимости, на активность данного фермента мог влиять ряд факторов, способных оказывать разнонаправленное воздействие. С одной стороны, сохраняющаяся повышенная активность фермента могла быть следствием его индукции в организме при ХАГ. С другой стороны, из литературных данных известно, что под действием мелатонина при окислительном стрессе происходит защита молекулы каталазы от АФК [7]. Это указывает на возможность более стабильного функционирования каталазы при проведении комбинированной терапии с применением препаратов, корректирующих содержание мелатонина в организме. Вместе с тем, при снижении интенсивности СО под влиянием антиоксидантной терапии, очевидно, могла уменьшаться концентрация субстрата каталазы – H_2O_2 , скоростью диффузии которого к активному центру лимитируется активность фермента [8]. По-видимому, выявленные различия ферментативной активности в сыворотке крови пациентов после проведения стандартного лечения и комбинированной терапии с применением препаратов, корректирующих уровень мелатонина, определяются суммарным эффектом действия вышеуказанных факторов.

Следует отметить, обладая широким спектром биологической активности, мелатонин может играть важнейшую роль в регуляции многих функций желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Имеются данные, свидетельствующие о способности мелатонина регулировать моторику ЖКТ, улучшать микроциркуляцию слизистой оболочки, восстанавливать местный гормональный баланс гастроинтестинальных гормонов. Вместе с тем, мелатонин выполняет функции важнейшего регулятора пролиферации и апоптоза клеток слизистой оболочки ЖКТ [9]. Существуют специфические пути регуляции синтеза мелатонина в энтерохромаффинных клетках ЖКТ. Имеются сведения о нарушении продукции мелатонина при развитии заболеваний ЖКТ [10]. В этой связи

можно предполагать, что экзогенный мелатонин может способствовать коррекции нарушений, возникающих при патологии ЖКТ. Согласно полученным нами данным, мелатонин-корректирующие препараты – эпифамин и мелаксен, оказывали позитивное действие, усиливая как гепатопротекторное действие базисной терапии, так и улучшая показатели свободнорадикального гомеостаза. Причем, при приеме мелаксена исследуемые параметры более существенно изменялись в направлении контроля по сравнению с соответствующими значениями в группе больных, получавших комбинированную терапию с эпифамином. По-видимому, это было связано с тем, что эпифамин, являясь пептидным биорегулятором, тропным к эпифизарной области, способен усиливать секрецию и синтез мелатонина, воздействуя на нее, и для реализации эффекта препарата требуется определенное время, необходимое для стимуляции продукции мелатонина и его транспортировки к гепатоцитам. Мелаксен – препарат, содержащий непосредственно в своем составе мелатонин, может, по всей видимости, более быстро и эффективно способствовать коррекции нарушений, развивающихся при ХАГ.

Выводы. Таким образом, можно отметить, что у больных ХАГ в стадии обострения происходило повреждение гепатоцитов, сопровождающееся активизацией СО биомолекул и снижением антиоксидантного потенциала организма. Включение в терапию эпифамина и мелаксена оказывало благоприятное влияние на функцию печени и состояние свободнорадикального гомеостаза, что подтверждалось показателями активности аминотрансфераз, уровня первичных продуктов ПОЛ, а также более выраженной тенденцией изменения активности каталазы в сторону нормы по сравнению с базисным лечением.

Литература

1. Мелатонин как фактор коррекции процессов свободнорадикального окисления при токсическом поражении печени крыс / С.С. Попов [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т. 7, № 70. – С. 48 – 51.
2. Хавинсон В.Х. Морфофункциональные и молекулярные основы старения эпифиза / В.Х. Хавинсон, Н.С. Линькова // Физиология человека. – 2012. – № 1. – С. 119-127.
3. Козина Л.С. Антиоксидантное действие пептидных препаратов эпифиза и мелатонина / Л.С. Козина // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии. – 2007. – № 1. – С.140-143.
4. Голиченков В.А. Мелатонин как антиоксидант: основные функции и свойства / В.А. Голиченков, А.Ю. Беспятовых, О.В. Бурлакова // Успехи современной биологии, 2010. – №5. – С. 487-496.
5. Практикум по биологической химии / О.А. Сафонова [и др.] // Воронеж.: ВГУ, 2012, 123 с.
6. Melatonin improves methanol intoxication-induced oxidative liver injury in rats / Zehra Kurcer [at all.] // Journal of Pineal Research, 2007. – V. 43, № 1. – P. 42–49.
7. Мелатонин угнетает канцерогенез легких, индуцируемый уретаном у мышей / Г. М. Веснушкин [и др.] // Вопросы онкологии. – 2006. – № 2. – С. 164-168.
8. Cardiac-specific overexpression of catalase attenuates myocardial hypertrophy and diastolic dysfunction in diet-induced metabolic syndrome in mice / F. Qin [at all.] // Circulation, 2013. – V. 12, P. 113 – 118.
9. Ifigenia K.A. / Therapeutic applications of melatonin // Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism, 2013. – V. 4, P. 13 – 24.
10. Мелатонин: теория и практика / А.Ю. Беспятовых [и др.] // Под ред. Рапопорта С.И., Голиченкова В.А. – Москва: Издательский дом «Медпрактика М.», 2009, 99с.

INFLUENCE OF DRUGS, CORRECTING MELATONIN LEVEL, ON THE LIPID PEROXIDATION DEGREE AND ACTIVITY OF AMINOTRANSFERASES AND CATALASE IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC ALCOHOLIC HEPATITIS

S.S. POPOV¹
A.N. PASHKOV¹
K.K. SHULGIN²
A.O. STOLYAROVA²

¹⁾ *Voronezh State Medical Academy named of N.N. Burdenko*

²⁾ *Voronezh State University*

e-mail: popov-endo@yandex.ru

Lipid peroxidation primary products (diene conjugates; DC) level, aminotransferases and catalase activities in blood serum of patients with the chronic alcoholic hepatitis, being on the basic treatment including hepatoprotector or on the combined therapy with melatonin-corrective preparations – epifamine and melaxen, have been investigated. At the pathology increase of aminotransferases and catalase activities and DC content has been observed, that testified about hepatocytes damage, being accompanied by free radical processes intensification. The combined therapy with the epifamine and melaxen cause favorable impact on free radical homeostasis condition in patients organisms that was confirmed by more expressed changes of investigated parameters towards norm in comparison with basic treatment.

Key words: chronic alcoholic hepatitis, free radical processes, catalase, epifamine, melaxen.