

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ С ВКЛЮЧЕНИЕМ МЕЛАКСЕНА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И КОНЦЕНТРАЦИЮ ЦИТРАТА В КРОВИ БОЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫМ ГЕПАТИТОМ

С. С. Попов¹, К. К. Шульгин², А. Н. Пашков¹, В. И. Золоедов¹, Г. И. Шведов¹

При комбинированной терапии с мелаксеном в сыворотке крови больных с лекарственным гепатитом, развивающимся на фоне приема противотуберкулезных препаратов, наблюдалось снижение активности гамма-глутамилтранспептидазы и уровня диеновых конъюгатов, что свидетельствует о выраженных антиоксидантных и гепатопротекторных свойствах применяемого препарата. Происходит уменьшение содержания цитрата и изменение активности аконитатгидратазы в сторону нормы, что также отражает снижение степени развития окислительного стресса при патологии, обусловленное антирадикальным действием мелаксена.

Ключевые слова: лекарственный гепатит, мелаксен, гамма-глутамилтранспептидаза, диеновые конъюгаты, аконитатгидратаза, цитрат

ВВЕДЕНИЕ

Известно более тысячи лекарственных препаратов, которые могут вызвать гепатотоксический эффект. Среди этих средств особое место занимают химиопрепараты для лечения туберкулеза. Образующиеся в результате их метаболизма гепатотоксины оказывают прямое повреждающее действие на клетки печени посредством чрезмерного образования активных форм кислорода (АФК), которые оказывают детергентный эффект на белки, ферменты, нуклеиновые кислоты. Данные патологические реакции приводят к некрозу гепатоцитов и развитию воспалительной клеточной инфильтрации [7]. Повышение содержания АФК влечет преобладание процессов свободнорадикального окисления (СО) биомолекул над активностью антиоксидантной системы (АОС) организма. АОС включает ферментативное и неферментативное звенья. К неферментативному звену относится цитрат, который может играть роль хелатора ионов металлов с переменной валентностью. Данный метаболит способен элиминировать ионы Fe^{2+} , участвующие в образовании гидроксильного радикала из пероксида водорода в реакции Фентона [5]. Реакцию превращения цитрата в изоцитрат катализирует фермент аконитатгидратаза (КФ 4.2.1.3: АГ), молекула которой легко разрушается АФК, что позволяет рассматривать данный фермент как чувствительную мишень для свободных радикалов [16].

В связи с необходимостью поиска новых эффективных средств для антиоксидантной терапии приобрета-

ет актуальность исследование антиоксидантных свойств гормона эпифиза и экстрапинеальных тканей мелатонина. Мелатонин по структуре является производным аминокислот, принимает участие в синхронизации суточных и сезонных ритмов организма, участвует в нейроэндокринной регуляции функций желудочно-кишечного тракта, репродуктивной, иммунной систем [1]. В настоящей работе использовали лекарственный препарат мелаксен, имеющий в составе мелатонин.

Целью исследования явилась оценка уровня первичных продуктов липопероксидации — диеновых конъюгатов (ДК), содержания цитрата, активности АГ и маркерного фермента поражения печени — гамма-глутамилтранспептидазы (КФ 3.4.4.8: ГГТП) в сыворотке крови больных с лекарственным гепатитом, возникающим в результате приема противотуберкулезных препаратов, при проведении базисной терапии и дополнения последней мелаксеном.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование было включено 66 человек с лекарственным гепатитом, развивающимся вследствие комплексного введения противотуберкулезных препаратов: изониазид — 600 мг в таблетках внутрь, стрептомицин — 1 мл в растворе внутривенно (1 г препарата на 4 мл 9 % раствора натрия хлорида), пипразинамид — 1,75 мг в таблетках внутрь, рифампицин — 600 мг в таблетках внутрь (58 пациентов); пипразинамид — 1,75 мг в таблетках внутрь, рифампицин — 600 мг в таблетках внутрь, этамбутол — 2 г внутрь (8 пациентов), находившихся на стационарном лечении в Воронежском областном клиническом противотуберкулезном диспансере им. Н. С. Похвисневой. Среди них 40 мужчин (61 %) и 26 женщин (39 %). Возраст больных — от 21 до 75 лет; средний возраст — $45,2 \pm 7,3$ года. Все пациенты были больны инфильтративным туберкулезом легких. Средняя продолжительность заболе-

¹ Кафедра эндокринологии (зав. — проф. В. И. Золоедов); кафедра биологии с экологией (зав. — проф. А. Н. Пашков) Воронежской государственной медицинской академии им. Н. Н. Бурденко, 394000, Воронеж, ул. Студенческая, 10.

² Кафедра медицинской биохимии и микробиологии (зав. — проф. Т. Н. Попова) Воронежского госуниверситета.

вания составляла $2,6 \pm 0,4$ месяца. В среднем через $19 \pm 5,6$ дней после назначения полихимиотерапии у больных развивался лекарственный гепатит. Всем пациентам был поставлен диагноз “лекарственный гепатит средней степени тяжести” на основании клинических признаков заболевания, биохимического исследования крови, данных ультразвукового исследования печени. Больные были разделены на 2 группы: 1-я группа пациентов (35 человек) получали базисное лечение (стол № 5, раствор витамина В₁ 1 мл внутривенно (тиамина хлорида 1 мл 5 % раствора), карсил по 1 драже 3 раза в день, “эссливер форте” (эссенциальные фосфолипиды) по 2 таблетки 3 раза в день в течение 10 дней). 2-я группа пациентов (31 человек) дополнительно к базисной терапии получала мелаксен (“Unifarm, Inc.”, США) по 1 таблетке, содержащей 3 мг мелатонина, 1 раз в день за 30–40 мин перед сном в течение 10 дней. Из сопутствующих заболеваний регистрировались: гипертоническая болезнь — у 39 больных, хронический гастрит в стадии ремиссии — у 27 больных, которые в количественном соотношении встречались в равной степени выраженности в обеих группах пациентов. Критериями исключения из исследования являлись: вирусные гепатиты, злокачественные новообразования, острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения. Контрольную группу составили 65 практически здоровых лиц в возрасте от 21 до 52 лет с нормальными показателями общего и биохимического анализов крови.

Содержание ДК определяли на спектрофотометре Hitachi U-1900 при 233 нм [8]. Активность АГ оценивали спектрофотометрически при 235 нм в среде, содержащей 0,05 мМ трис-НСl-буфер (рН 7,8), 4 мМ цитрат. За ферментативную единицу (Е) принимали количество фермента, необходимого для превращения 1 мкмоль субстрата в 1 мин при 25° С. Количество цитрата определяли по методу Натгельсона [13]. Общий белок определяли унифицированным методом по биуретовой реакции [4]. Активность ГГТП оценивали по скорости реакции переноса глутамилового остатка с гамма-L-(+)-глутамил-4-нитроанилида на глицилглицин (Био-тест, PLIVA — Lachema Diagnostika).

В работе использовали цитрат (“Sigma”, США); трис, ЭДТА (“Reanal”, Венгрия); остальные реактивы — отечественного производства марки “хч” или “чда”. Статистическая обработка 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 считали различия при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В 1-й и 2-й группах больных с лекарственным гепатитом перед лечением наблюдалось повышение актив-

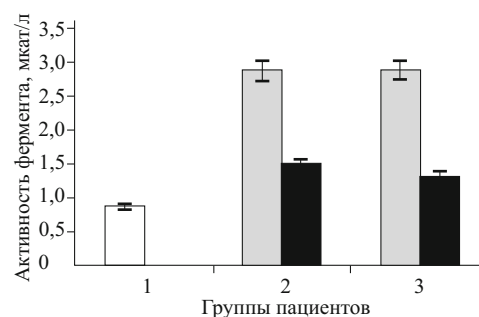


Рис. 1. Активность гаммаглутамилтранспептидазы (мкат/л) в сыворотке крови в норме (1), у больных с лекарственным гепатитом после базисного лечения (2) и при комбинированной терапии с включением мелаксена (3).

Здесь и на рис. 2 и 3: светлый столбик — норма, серый — до лечения, темный — после лечения.

ности ГГТП в сыворотке крови в среднем в 3,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольным уровнем, что свидетельствует о токсическом влиянии противотуберкулезных препаратов на клетки печени (рис. 1). После проведения базисного лечения данный показатель снижался в 1,9 раза ($p < 0,05$). Очевидно, применение карсила и эссенциале положительно влияло на метаболические процессы в печени. Известно, что силимарин, входящий в состав карсила, препятствует тканевому воспалению и оказывает мембраностабилизирующее действие [11]. Эссенциальные фосфолипиды обладают мембраностабилизирующим и гепатопротекторным действием за счет непосредственного встраивания их молекул в фосфолипидную структуру поврежденных печеночных клеток, замещения дефектов и восстановления барьерной функции липидного бислоя мембран [9]. Во 2-й группе больных, находящихся на комбинированной терапии с мелаксеном, активность ГГТП уменьшалась в большей степени, чем в 1-й группе — в 2,2 раза ($p < 0,05$). Вероятно, мелатонин, входящий в состав мелаксена, повышал антиоксидантный потенциал организма и тем самым обеспечивал наиболее существенную защиту при токсическом действии противотуберкулезных препаратов.

Перед лечением в обеих группах больных в сыворотке крови наблюдалось повышение содержания ДК, являющихся первичными продуктами перексидного окисления липидов, в среднем в 1,7 раза ($p < 0,05$) по сравнению с результатами, полученными в контрольной группе (рис. 2). Это свидетельствовало об интенсификации СО биосубстратов. После проведения базисного лечения в 1-й группе больных в сыворотке крови происходило уменьшение уровня ДК в 1,4 раза по сравнению с данными, полученными до лечения. Очевидно, назначение гепатопротекторов положительно влияло на свободнорадикальный гомеостаз за счет антиоксидантного действия данных препаратов [3, 14]. Во 2-й группе пациентов, находящихся на комбинированной терапии с мелаксеном, содержание ДК уменьшалось в еще большей степени, чем в предыду-

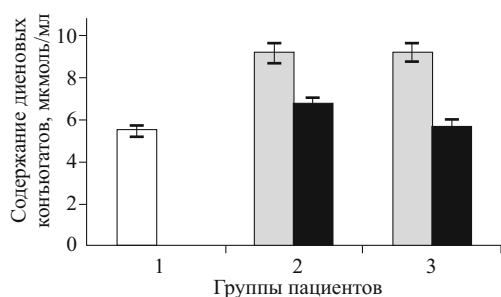


Рис. 2. Содержание диеновых конъюгатов в сыворотке крови в норме (1), у больных лекарственным гепатитом после базисного лечения (2) и при комбинированной терапии с включением мелаксена (3).

Обозначения те же, что на рис. 1.

сих группах — в 1,6 раза, что свидетельствовало об антиоксидантном эффекте мелатонина, входящего в состав данного препарата. Антирадикальная активность мелатонина, очевидно, сопряжена с его способностью проникать через мембраны и сосудисто-тканевые барьеры, накапливаясь в ядрах клеток, что обеспечивает его участие в защите мембранных структур и ДНК от СО биомолекул. Данный метаболит также обладает способностью нейтрализовывать АФК: гидроксильный радикал, радикал окиси азота. Сочетание этих механизмов, по-видимому, обеспечивает выраженный антиоксидантный эффект мелатонина [10, 15].

Установлено, что у больных 1-й группы с лекарственным поражением печени, возникшем на фоне приема противотуберкулезных препаратов, активность АГ, выраженная в Е на 1 мл, была меньше в среднем в 1,8 раза ($p < 0,01$) по сравнению с нормой (рис. 3, а). Удельная активность фермента уменьшалась в 2,6 раза ($p < 0,01$) (рис. 3, б). Изменения активности фермента, вероятно, связаны с тем, что при лекарственном гепатите происходит биотрансформация лекарственных препаратов и стимуляция микросомальных цитохром Р-450 содержащих систем, что сопровождается образованием активных метаболитов, включая АФК [12]. При окислительном стрессе происходит разрушение железо-серных кластеров АГ, что сопровождается инактивацией фермента. Полученные данные согласуются с предположениями, что АГ может выступать в качестве чувствительной мишени для свободных радикалов [16]. После проведения базисной терапии активность АГ, выраженная в Е на 1 мл сыворотки крови, повышалась на 10 %, удельная активность фермента увеличивалась на 7 %. Возрастание ферментативной активности могло быть связано с положительным воздействием проводимой терапии на метаболизм гепатоцитов. Во 2-ой группе больных перед лечением наблюдалась такая же тенденция к снижению активности АГ. После проведения терапии, включающей мелаксен, активность фермента, выраженная в Е на 1 мл сыворотки, повышалась в 1,8 раза ($p < 0,05$), а удельная активность — в 1,5 раза. Вероятно, это связано с

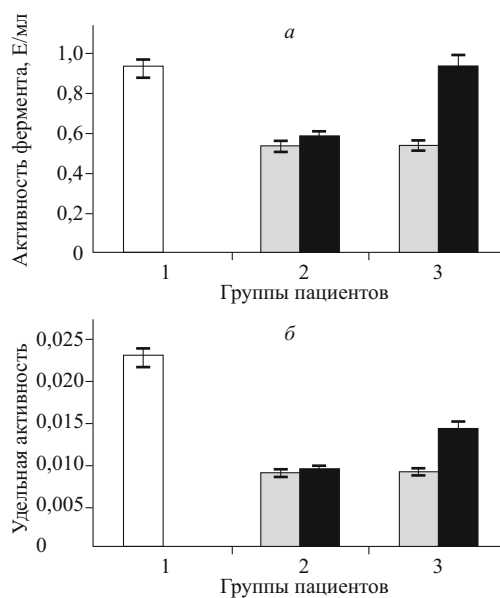


Рис. 3. Активность аспартатгидратазы, выраженная в Е на 1 мл сыворотки (а) и удельная ферментативная активность фермента (б) в сыворотке крови в норме (1), у больных с лекарственным гепатитом после базисного лечения (2) и при комбинированной терапии с включением мелаксена (3).

Обозначения те же, что на рис. 1.

положительным эффектом мелатонина, входящего в состав данного препарата и обеспечивающего снижение активности СО и, как следствие, защиту молекулы АГ от действия АФК.

При лекарственном поражении печени содержание цитрата в сыворотке крови больных 1-й группы увеличивалось в 1,8 раза ($p < 0,05$) по сравнению с нормой. Вероятно, наблюдаемое изменение концентрации данного метаболита происходило в результате разрушения молекулы АГ под действием АФК. После проведения базисной терапии происходило уменьшение концентрации цитрата в 1,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с результатами до лечения. Очевидно, карсил и эссенциале снижали степень выраженности оксидативного стресса, что могло отражаться на содержании цитрата и влиять на общую антиокислительную способность организма. Во 2-й группе пациентов перед лечением концентрация цитрата была также повышена, как и в 1-й группе. После проведения комбинированной терапии с мелаксеном содержание цитрата уменьшалось в 1,9 раза ($p < 0,05$). Вероятно, более выраженное снижение концентрации цитрата было связано с достаточно быстро реализуемым антиоксидантным эффектом данного препарата.

ВЫВОДЫ

1. Комбинированная терапия с включением мелаксена обладает более выраженным гепатопротекторным действием, чем базисная терапия, что подтверждается изменением активности гамма-глутамил-

транспептидазы в сыворотке крови больных лекарственным гепатитом.

2. Комбинированная терапия с включением мелаксена положительно влияет на оксидативный статус, что проявляется в снижении интенсивности свободно-радикальных процессов, оцениваемой по содержанию диеновых конъюгатов.

3. Под влиянием комбинированного лечения с включением мелаксена при лекарственном поражении печени происходит более значительное уменьшение содержания цитрата и изменение активности аконитатгидратазы в сторону нормы по сравнению с базисным лечением, что, очевидно, связано с антиоксидантным эффектом данного препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Калинин, *Consilium medicum*, 6 – 8 (2001).
2. А. В. Семенихина, А. Н. Пашков, С. С. Попов, *Пробл. эндокринолог.*, **51**(6), 41 – 43 (2005).
3. А. Н. Осипов, Э. Ш. Якутова, Ю. А. Владимиров, *Биофизика*, **38**(3), 390 – 396 (1993).
4. В. Н. Анисимов, Р. Д. Рейтер, *Вопр. онкол.*, **36**, 259 – 268 (1990).
5. Е. А. Ушкалова, *Фарматека*, **73**(10), 10 – 15 (2003).
6. И. А. Симонов, Л. Г. Арушанян, Э. Б. Арушанян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **64**(4), 73 – 79 (2001).
7. И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили, *Современные методы в биохимии*, Медицина, Москва (1977).
8. И. Н. Скрыпник, *Справочник поликлинического врача*, № 10, 40 – 44 (2008).
9. Л. В. Матасова, О. А. Сафонова, Т. И. Рахманова, *Лабораторные работы и задачи по биохимии*, Изд-во ВГУ, Воронеж (2006).
10. A. Par, E. Roth, G. Jr. Rumi, *Orv. Hetil.*, **141**(30), 1655 – 1659 (2000).
11. D. Acuno-Castroviejo, D. X. Tan, R. J. Reiter, *Curr. Topics Biophys.*, **24**, 171 – 183 (2000).
12. D. Esposti, F. Fraschini, G. Demartini, *Clin. Drug Invest.*, **22**(1), 51 – 65 (2002).
13. D. Tan., L. C. Manchester, R. Hardeland, *J. Pineal Res.*, **34**(4), 249 – 259 (2003).
14. J. B. Pincus, J. K. Lugovoy, S. Natelson, *J. Clin. Invest.*, **27**(4), 446 – 449 (1948).
15. S. Luper, *Altern. Med. Rev.*, **3**(6), 410 – 421 (1998).
16. V. P. Skulachev, *Quart. Rev. Biophys.*, **29**, 169 – 203 (1996).

Поступила 23.01.12

EFFECT OF COMBINED THERAPY WITH MELAXEN ON LIPID PEROXIDATION RATE AND CITRATE CONTENT IN BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH DRUG-INDUCED HEPATITIS DIAGNOSIS

S. S. Popov¹, K. K. Shul'gin², A. N. Pashkov¹, V. I. Zoloedov¹, and G. I. Shvedov¹

¹ Burdenko Voronezh State Medical Academy, ul. Studencheskaya 10, Voronezh, 394000, Russia

² Voronezh State University, Voronezh, 394006, Russia

A combined therapy with melaxen led to a decrease in the activity of gamma-glutamyl transpeptidase and the level of diene conjugates in blood serum of patients with the drug-induced hepatitis developing on the background of administration of antituberculous preparations. These changes are indicative of pronounced antioxidant and hepatoprotective properties of the drug. In addition, there was a decrease in the content of citrate and a change in the activity of aconitate hydratase toward a normal level, which reflects a decrease in the degree of pathologic oxidative stress development and is evidence of the antiradical effect of melaxen.

Key words: Drug-induced hepatitis, melaxen, gamma-glutamyl transpeptidase, diene conjugates, aconitate hydratase, citrate