

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА РЕМАКСОЛА, РЕАМБЕРИНА И АДЕМЕТИОНИНА ПРИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПОРАЖЕНИЯХ ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ НА ФОНЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ТЕРАПИИ

Д. С. Суханов¹

Проведено изучение антиоксидантных свойств ремаксола, реамберина и адеметионина в сравнении с раствором 5 % глюкозы у 120 больных лекарственными поражениями печени на фоне противотуберкулезной терапии. Установлено, что включение изучаемых препаратов в состав комплексной терапии способствовало восстановлению антиоксидантного потенциала клеток, что проявилось повышением активности глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и интегральных показателей антиоксидантной защиты (общая антиоксидантная способность и общий антиоксидантный статус) с относительной стабилизацией уровня глутатион-S-трансферазы.

Ключевые слова: туберкулез; антиоксиданты; ремаксол; реамберин; адеметионин; лекарственные поражения печени

ВВЕДЕНИЕ

Препараты, используемые во фтизиатрии в настоящее время, обладают гепатотоксическим действием различной степени выраженности, что диктует необходимость изменения режима химиотерапии больных, приводящая к снижению эффективности лечения [11]. Данные о клинической эффективности, в том числе, и у больных туберкулезом, наиболее широко применяемых в клинической практике современных гепатопротекторных (гепатотропных) препаратов не отличаются однородностью [3].

Одним из направлений гепатотропной терапии является применение препаратов с прямым или косвенным антиоксидантным действием, так как свободнорадикальное повреждение мембранных структур клеток печени относится к важнейшим механизмам, лежащим в основе токсичности противотуберкулезных препаратов и их метаболитов [9, 10].

Применяемые в клинической практике, в том числе, и во фтизиатрии, препараты реамберин, ремаксол, а также адеметионин показали свою эффективность при коррекции поражений печени различного генеза [2, 4 – 6]. Однако остается не изученным влияние этих препаратов на показатели антиоксидантной защиты клеток при гепатотоксическом воздействии.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На базе кафедры фтизиопульмонологии и торакальной хирургии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова, отделения терапии туберкулеза легких Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии и противотуберкулезного диспансера

¹ Кафедра фтизиопульмонологии и торакальной хирургии (зав. — проф. А. В. Елькин), ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, 191015, Санкт-Петербург, Кировная, 41.

г. Пушкина обследовано 140 пациентов с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания. Среди больных преобладали мужчины — 62,1 %, средний возраст — $36,5 \pm 4,8$ года. Критерии включения в исследование: возраст от 18 до 60 лет, впервые выявленный инфильтративный или диссеминированный туберкулезный процесс, наличие лекарственного поражения печени с уровнем активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) более 1,5 максимальных норм. Критерии исключения: наличие положительных серологических маркеров хронических вирусных гепатитов, генерализованный туберкулез, хронический алкоголизм и наркомания. Доминирующей клинической формой туберкулеза был инфильтративный, который регистрировали у 74,2 % больных, при этом распад определялся в 61,4 %, а бактериовыделение — у 52,1 %.

Больные, участвующие в исследовании, были разделены на 4 группы ($n = 35$ в каждой группе): основная группа 1 (ОГ1) — пациенты, получавшие реамберин 400 мл, основная группа 2 (ОГ2) — пациенты, получавшие ремаксол 400 мл, основная группа 3 (ОГ3) — пациенты, получавшие адеметионин 400 мг и группа сравнения (ГС) — пациенты, получавшие 5 % раствор глюкозы в объеме 400 мл. Изучаемые препараты назначали внутривенно капельно 1 раз в сутки курсом 10 дней. Больные исследуемых групп существенно не отличались по возрастному-половому составу и характеристике туберкулезного процесса.

Наблюдаемым больным назначали противотуберкулезную терапию в соответствии с действующими стандартными режимами согласно приказу МЗ РФ 109 от 21.03.2003г. Использование режима I/III с применением комбинации из четырех этиотропных препаратов основного ряда (изониазид 0,6 – 0,9 г, рифампицин 0,6 г, пиразинамид 1,5 г, этамбутол 1,2 г или стрептомицин 1 г) наблюдалось у 80, 82,9 и 82,9 % пациентов основных групп и у 77,1 % больных группы сравнения. В остальных случаях использовались режимы IIb

и IV с применением четырех препаратов основного и двух-трех препаратов резервного (протионамид 0,5 – 0,75 г, циклосерин 0,75 г, ПАСК 12 г, левофлоксацин 0,5 г или ципрофлоксацин 1 г, канамицин 1 г, амикацин 1 г, рифабутин 0,45 г) ряда. По этиотропному лечению больные исследуемых групп значимо не различались.

С целью оценки влияния изучаемых препаратов на показатели антиоксидантной системы сыворотки крови определялись: а) общая антиоксидантная способность (ОАС, тест-системы производства Cayman-Chemical “AntioxidantAssayKit”) в миллимолярных эквивалентах тролокса по количеству ABTS (2,2'-азино-бис-[3-этилбензтиазолин сульфонат]), определяющимся измерением оптической плотности при длине волны 750 нм или 405 нм; б) общий антиоксидантный статус (ОАСт, тест-системы производства Immunodiagnostik “ImAnOx (TAS/TAC) Kit”) фотометрическим методом; в) активность глутатионпероксидазы (ГПО, тест-системы производства AbFrontier “GlutathionePeroxidase 1 ELISA”) «сэндвич» иммуноферментным методом; г) активность глутатион-S-трансферазы (ГСТ, тест-системы производства Immunodiagnostik “GST-п ELISA”) методом твердофазного ИФА; г) активность супероксиддисмутазы (СОД,

тест-системы производства CaymanChemical “SuperoxideDismutaseAssayKit”) на основе выявления супероксидных радикалов в образце сыворотки посредством фотометрического определения уровня тетразолиевой соли. Для оценки уровня внутрилабораторной нормы показателей антиоксидантной защиты сыворотки крови взяты ретроспективные данные 20 здоровых лиц. Показатели определялись в соответствии инструкциями фирм-производителей к тест-системам.

При оценке полученных результатов использовали непараметрический Т-критерий Вилкоксона для зависимых выборок и U-критерий Манна-Уитни для независимых выборок. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценивая динамику ОАС сыворотки крови у обследованных больных установлен рост показателя на 11,2 и 10,1 % у больных ОГ1 и 3 соответственно, при этом повышение ОАС у больных на фоне терапии ремаксолом (ОГ2) составило 47,4 % от исходной величины (таблица). Индивидуальная динамика роста показателя в данной группе превышала в 4,6 и 3 раза аналогичные показатели больных ОГ1 и 3 соответственно

Динамика показателей антиоксидантной системы сыворотки крови у обследованных пациентов

Показатель		ОГ1 (реамберин, n = 35)	ОГ2 (ремаксол, n = 35)	ОГ3 (адеметионин, n = 35)	ГС (глюкоза 5 %, n = 35)	Контроль (здоровые лица, n = 20)	p
		1	2	3	4	5	
Общая антиоксидантная способность, мМ	до начала терапии	0,089 ± 0,006	0,095 ± 0,008	0,099 ± 0,007	0,097 ± 0,08	0,97 ± 0,06	
	по окончании терапии / индивидуальная динамика	0,099 ± 0,007/ + 0,013	0,14 ± 0,01**/ + 0,06	0,10 ± 0,01*/ + 0,02	0,095 ± 0,09/ 0		$p_{1-2} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,01$
Общий антиоксидантный статус, мкмоль/л	до начала терапии	278,3 ± 15,9	282,9 ± 19,4	305,6 ± 19,4	294,1 ± 17,1	309,6 ± 15,2	
	по окончании терапии / индивидуальная динамика	310,8 ± 17,3/ + 37,6	339,1 ± 21,8**/ + 74,8	320,9 ± 22,7/ + 22,6	290,4 ± 19,8/ - 7,4		$p_{1-2} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,01$
Глутатионпероксидаза, нг/мл	до начала терапии	2,23 ± 0,21	2,11 ± 0,20	2,05 ± 0,19	2,18 ± 0,21	3,78 ± 0,35	
	по окончании терапии / индивидуальная динамика	2,25 ± 0,23/ + 0,03	2,55 ± 0,22/ + 0,48	2,15 ± 0,20/ + 0,13	1,99 ± ,18/ - 0,19		$p_{1-2} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$ $p_{1,3-4} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,01$
Глутатион-S-трансфераза, нг/мл	до начала терапии	159,6 ± 15,7	166,2 ± 15,4	162,1 ± 15,8	174,5 ± 16,5	187,6 ± 18,1	
	по окончании терапии / индивидуальная динамика	115,8 ± 10,9*/ - 46,7	149,4 ± 14,7/ - 18,3	121,8 ± 11,7*/ - 43,2	114,3 ± 10,4**/ - 63,6		$p_{1,3-2} < 0,05$ $p_{1,3-4} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,01$
Супероксиддисмутазы, Ед/мл	до начала терапии	0,016 ± 0,002	0,014 ± 0,001	0,015 ± 0,001	0,012 ± 0,001	0,057 ± 0,006	
	по окончании терапии / индивидуальная динамика	0,030 ± 0,003*/ + 0,016	0,032 ± 0,003**/ + 0,020	0,028 ± 0,002*/ + 0,014	0,018 ± 0,002/ + 0,007		$p_{1,2,3-4} < 0,05$

* — различия статистически значимы по сравнению с показателем до начала терапии, $p < 0,05$.

** — различия статистически значимы по сравнению с показателем до начала терапии, $p < 0,01$.

($p < 0,01$). Повышения ОАС у больных исследуемых групп регистрировалось в 13 (37,1 %) и 11 (31,4 %) случаев в ОГ1 и 3, в 26 (74,2 %) случаев больных ОГ2 и только в 7 (20 %) случаев больных ГС.

Исходный показатель ОАС_т у больных исследуемых групп статистически значимо не отличался от среднего уровня здоровых лиц (таблица). У больных основных групп показатель по окончании терапии превышал таковой у здоровых лиц, при этом индивидуальная динамика увеличения уровня ОАС_т на фоне терапии ремаксолом в 3,3 ($p < 0,01$) и 2 ($p < 0,05$) раза превышала аналогичный показатель в группах больных, получавших адеметионин и реамберин соответственно. Важно отметить, что у больных на фоне применения 5 % раствора глюкозы оба показателя (ОАС и ОАС_т) значимо не менялись, оставаясь, соответственно, в 1,5 раза и на 14,5 % ниже аналогичных у больных ОГ2 (получавших ремаксол). Частотные характеристики повышения ОАС_т у больных исследуемых групп соответствовали таковым по показателю ОАС: 15 (42,8 %) — ОГ1, 27 (77,1 %) — ОГ2, 12 (34,2) — ОГ3 и только у 6 (17,1 %) пациентов ГС.

Активность ГПО, сниженная до начала терапии, имела тенденцию к повышению у больных, получавших ремаксол и адеметионин (ОГ2 и 3), значимо не меняясь на фоне терапии реамберином и снижаясь у пациентов группы сравнения (таблица). Индивидуальная динамика роста показателя у больных, получавших ремаксол, превышала в 3,7 раза таковую больных на фоне терапии адеметионином ($p < 0,05$); при этом конечный показатель активности ГПО у больных ОГ2 среди обследованных групп был наибольшим, превышая аналогичный на 11,8 % (ОГ1), 15,7 % (ОГ3) и 22 % (ГС). Повышение активности фермента по окончании терапии регистрировалось у 15 (42,9 %) и 9 (25,7 %) больных ОГ2 и 3, соответственно, и только у 4 (11,4 %) и 2 (5,7 %) больных ОГ1 и ГС соответственно.

Активность GST статистически значимо снижалась у больных всех исследуемых групп за исключением пациентов, получавших ремаксол, где отмечалась лишь тенденция к уменьшению данного показателя (таблица). Индивидуальная динамика снижения активности фермента у пациентов ОГ2 была ниже таковой в 2,6, 2,4 ($p < 0,05$) и 3,5 ($p < 0,01$) больных ОГ1, ОГ3 и ГС соответственно, что позволяет говорить об относительной стабилизации активности GST на фоне применения ремаксола. Снижение активности фермента регистрировалось в 20 (57,1 %), 17 (48,6 %) и 25 (71,4 %) случаев больных ОГ1, ОГ3 и ГС соответственно против 10 (28,6 %) случаев пациентов ОГ2 (ремаксол). При этом конечная активность GST у пациентов ОГ2 превышала на 22,5 %, 18,5 % ($p < 0,05$) и 23,5 % ($p < 0,01$) аналогичные показатели в группах ОГ1, ОГ3 и ГС соответственно.

Активность СОД статистически значимо повышалась у пациентов всех трех основных групп, в то время как у больных ГС имела лишь тенденция к росту

данного показателя (таблица). Индивидуальная динамика повышения активности фермента у больных ОГ2 превышала на 20 и 30 % аналогичную больных ОГ1 и 3, соответственно ($p < 0,05$), по сравнению с пациентами ГС разница составила 65 % ($p < 0,01$). Активность СОД по окончании терапии у больных на фоне терапии раствором глюкозы 5 % оказалась ниже на 40, 43,8 и 35,7 % пациентов на фоне терапии реамберином, ремаксолом и адеметионином соответственно. Частота повышения активности СОД у больных основных групп составила 17 (48,6 %), 21 (60 %), 13 (37,1 %) и 8 (22,9 %) в ОГ1,2,3 и ГС соответственно.

Полученные данные указывают на влияние изучаемых препаратов — реамберина, ремаксола, адеметионина на один из ключевых механизмов повреждения печени противотуберкулезными препаратами, — оксидативный стресс с последующим свободнорадикальным окислением мембранных структур печеночных клеток [9]. Известно, что тиоловые соединения, способные к обратимой окислительной модификации сульфгидрильных SH-групп, являются компонентами внутриклеточных антиоксидантов — ферментов глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы, обезвреживающих (в отличие от каталазы) помимо перекиси водорода и экзо- и эндогенные липидные пероксиды [1]. Применение ремаксола и адеметионина на фоне лекарственной гепатотоксичности способствовало повышению активности ГПО, что связано с увеличением концентрации восстановленного глутатиона, являющегося конечным продуктом внутрипеченочного метаболизма метионина в реакциях транссульфурирования. Ремаксол вызывает у пациентов максимальный прирост уровня восстановленного глутатиона и ГПО, и это, по-видимому, обусловлено тем, что в состав ремаксола, наряду с метионином, входит и янтарная кислота, обеспечивающая приток энергии к клеткам в условиях гипоксии [8]. С этим же связана и относительная стабилизация активности GST на фоне терапии ремаксолом, где степень ее снижения была минимальной по сравнению с другими изучаемыми препаратами. Реамберин — комплекс янтарной кислоты с электролитами не вызывает значимой активации антиоксидантной системы клеток, что объясняется отсутствием в его составе предшественника трипептидаглутатиона — метионина.

Увеличение активности СОД сыворотки крови на фоне терапии данными препаратами объясняется двумя механизмами: а) восстановлением антиоксидантного потенциала клеток в условиях реализации антигипоксического действия экзогенного сукцината и б) активацией ферментов дыхательной цепи митохондрий посредством стимуляции сукцинатдегидрогеназного и сукцинатоксидазного окисления с последующим образованием субстрата СОД — супероксиданион-радикала [1].

Повышение интегральных показателей антиоксидантного потенциала клеток — ОАС и ОАС_т на фоне

применения сукцинат- и метионинсодержащих средств при лекарственных поражениях печени подтверждает наличие у них косвенного антиоксидантного эффекта. В основе этого лежит: а) восстановление концентрации АТФ, переключение метаболизма на аэробный с последующим увеличением синтеза антиоксидантов *de novo* (прежде всего за счет сукцината); б) увеличение синтеза глутатиона (за счет метионина и адеметионина, превращаемого в метионин); в) восстановление мембранных структур за счет регенерации фосфотидилхолина в реакции трансметилирования (за счет адеметионина и метионина, превращаемого в адеметионин в присутствии сукцината) [7]; г) активация ФАД-зависимых ферментов окисления янтарной кислоты с увеличением уровня субстратов антиоксидантов (супероксидный радикал и перекись водорода) и компенсаторным ростом активности антиоксидантных ферментов.

ВЫВОДЫ

1. Применение ремаксолола и адеметионина в сравнении с реамберином и раствором 5 % глюкозы у больных лекарственными поражениями печени статистически достоверно повышало интегральный показатель антиоксидантной защиты — ОАС, при этом только ремаксол способствовал статистически значимому повышению ОАС_т.

2. Активность глутатион-S-трансферазы во всех исследуемых группах за исключением пациентов, полу-

чавших ремаксол, статистически достоверно снижалась.

4. Реамберин, ремаксол и адеметионин статистически достоверно повышали активность СОД, в отличие от введения 5 % раствора глюкозы.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Ш. Зайчик, Л. П. Чурилов, *Общая патофизиология*, Элби-СПб, Санкт-Петербург (2008).
2. В. Б. Ларионова, Э. Г. Горожанская, *Возможности генетической коррекции нарушений механизмов антиоксидантной защиты у онкологических больных*, Москва (2010).
3. С. В. Оковитый, Д. С. Суханов, М. Г. Романцов, *Тер. архив*, № 2 (83), 62 – 69 (2012).
4. Т. В. Сологуб, М. Г. Романцов, А. А. Шульдяков, *Клин. медицина*, № 4 (88), 68 – 71 (2010).
5. Д. С. Суханов, Т. И. Виноградова, Н. В. Заболотных и др., *Антибиотики и химиотерапия*, № 1 – 2 (56), 13 – 17 (2011).
6. Д. С. Суханов, А. К. Иванов, М. Г. Романцов, А. Л. Коваленко, *Рос. мед. журн.*, № 6, 22 – 25 (2009).
7. Д. С. Суханов, А. Ю. Петров, А. Л. Коваленко, М. Г. Романцов, *Вестн. РАМН*, № 3, 86 – 90 (2012).
8. В. А. Хазанов, *Экспер. и клин. фармакол.*, 10(34), 61 – 64 (2009).
9. Юджин Р. Шифф, Майкл Ф. Соррел, Уиллис С. Мэддрей, *Алкогольные, лекарственные, генетические и метаболические заболевания*, Н. А. Мухин (ред.), пер. с англ., ГЭОТАР-Медиа, Москва (2011).
10. E. I. Saad, S. M. El-Glowilly, M. O. Sherhaa, A. E. Bistawroos, *Food Chem Toxicol.*, 48(7), 1869 – 75 (2010).
11. W. V. Senaratne, M. J. Pinidiyapathirage, G. A. Perera, et al., *Ceylon Med. J.*, 51(2), 9 – 14 (2006).

Поступила 14.01.13

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF REMAXOL, REAMBERIN, AND ADEMETIONINE IN PATIENTS WITH DRUG-INDUCED LIVER INJURY ON THE BACKGROUND OF ANTITUBERCULOUS THERAPY

D. S. Sukhanov

Mechnikov North-Western State Medical University, ul. Kirochnaya 41, St. Petersburg, 191015, Russia

The antioxidant properties of remaxol, reamberin and ademetionine have been studied in comparison to 5 % glucose solution in a group of 120 patients with drug-induced liver injury. It is established that the inclusion of these drugs in the composition of complex therapy contributed to restoration of the antioxidant potential of the cells, which was manifested by increased activity of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and integral indices of antioxidant protection (total antioxidant capacity and total antioxidant status) with a relative stabilization of the level of glutathione-S-transferase. Maximum pharmacotherapeutic effect with respect to all of the studied indices has been achieved by the use of remaxol.

Keywords: tuberculosis; antioxidants; remaxol; reamberin; ademetionine; drug-induced liver injury