

УДК 577.3; 612.123; 612.393.1

© Коллектив авторов

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Л.Ф. Панченко¹, Б.В. Давыдов^{2}, Н.Н. Теребилина²,
В.Ю. Баронец², А.С. Журавлева³*

¹Федеральное Государственное бюджетное учреждение
“Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии”
Российской академии медицинских наук, Москва

²Федеральное Государственное бюджетное учреждение “Национальный
Научный центр наркологии” Министерства здравоохранения РФ, 119002,
Москва, Мал. Могильцевский пер., 3; тел.: +7 499 2419446;
факс: +7 499 2419590; эл. почта: boris.davidov2@yandex.ru

³Федеральное Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования “Российский университет
дружбы народов” РУДН, Москва

У 37 пациентов с алкогольной болезнью печени (АБП) в плазме крови исследовано состояние окислительного стресса (ОС) при поступлении и через 2 недели от начала лечения. Пациенты были разделены на 3 группы: алкогольный гепатит (АГ), алкогольный цирроз печени декомпенсированный (группа С по Чайлд-Пью) и пациенты в терминальной стадии (впоследствии умершие). У всех пациентов наблюдалось достоверное увеличение в плазме крови продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов и малонового диальдегида) и снижение уровня церулоплазмينا. Коэффициент К ОС существенно превышал значения нормы как при поступлении, так и после проведения двухнедельного курса стандартного лечения, что указывает на важную роль ОС при АБП.

Ключевые слова: активные формы кислорода, окислительный стресс, алкогольная болезнь печени, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

* - адресат для переписки

ВВЕДЕНИЕ. Одним из значимых факторов развития патологии печени при алкогольной интоксикации являются свободнорадикальные процессы, проявляющиеся окислительным стрессом (ОС). Известно, что свободнорадикальные процессы сопровождаются усилением образования активных форм кислорода, перекисным окислением липидов (ПОЛ) и ослаблением антиоксидантной системы (АОС) [1, 2]. При алкогольной болезни печени (АБП) можно выделить несколько патогенетических механизмов, приводящих к усилению свободнорадикальных процессов. При поступлении в организм экзогенных токсикантов, в том числе этилового спирта, активируется монооксигеназный окислительный метаболизм на цитохроме Р450 (система CYP2E1) [3]. Принципиальной особенностью функционирования цитохром-Р450-зависимого электротранспортного пути является образование активных форм кислорода – супероксидного анион-радикала и перекиси водорода [4, 5]. В условиях хронической алкогольной интоксикации, сопровождающейся повышенной субстратной нагрузкой на ферменты детоксикации, продукция активных форм кислорода значительно возрастает [6]. Алкоголь и другие токсины в реакциях окисления индуцируют избыточную продукцию и накопление в гепатоците свободных радикалов (гидроксиэтиловый радикал, супероксид-анион и гидроксильный радикал) и других токсических биометаболитов [7]. В процессе ОС выявлена чрезмерная мобилизация свободных ионов железа из ферритина, что усиливает образование высокотоксичных гидроксильных радикалов [8]. Образующиеся при алкоголизации эндотоксины (липополисахариды грам-отрицательных бактерий) поступают из желудочно-кишечного тракта в портальную циркуляцию печени, где стимулируют клетки Купфера [9]. Активированные клетки Купфера продуцируют активные формы кислорода, включая оксид азота – NO [10]. NO при повышенной продукции супероксидного анион-радикала взаимодействует с ним с образованием высокотоксичного продукта пероксинитрита ONOO⁻. Пероксинитрит является сильным окислителем и вызывает повреждения широкого спектра молекул в клетке, в том числе липидов, белков, ДНК [11].

Хроническое употребление этанола приводит к уменьшению концентрации витаминов А и Е, а также глутатиона [12]. При дефиците витамина Е усиливается ПОЛ. Нехватка витамина А способствует повреждению лизосом, а снижение содержания глутатиона ведет к нарушению функции митохондрий и делает клетку более чувствительной к апоптозу [13, 14].

Хроническое употребление алкоголя вызывает гиперметаболическое состояние печени с повышенным потреблением кислорода клетками печени. При этом увеличивается porto-центральный кислородный градиент, оставляя периферические гепатоциты в состоянии относительной гипоксии. Всё это приводит к истощению уровня АТФ и повреждению печени [6]. Гипоксия, наряду с воспалением и стрессорной реакцией, является важнейшим патофизиологическим фактором усиления свободнорадикальных процессов в организме [15].

Ранее было показано увеличение содержания вторичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) в плазме крови больных, страдающих алкоголизмом [16, 17].

Для разработки наиболее эффективной патогенетической терапии этого заболевания необходимы углубленные исследования тонких молекулярно-клеточных механизмов развития повреждений органов и тканей, в том числе

на основе изучения взаимосвязи процессов ПОЛ и состояния эндогенной АОС в зависимости от степени алкогольного поражения печени.

В связи с этим целью работы явилось исследование состояния окислительного стресса в плазме крови больных на различных стадиях АБП.

МЕТОДИКА. У 37 пациентов с АБП исследовано в плазме крови состояние ОС при поступлении и через 2 недели от начала лечения. Получение плазмы крови проводилось в рамках стандартного забора крови на биохимический и вирусологический анализ с обязательным подписанием информированного согласия пациентов или его законным представителем. Лечение осуществлено в соответствии с Московскими городскими стандартами стационарной медицинской помощи (код стандарта: 71.070; шифр по МКБ: К76.6.) и включало следующие группы лекарственных средств: диуретики, гепатопротекторы, витамины группы В, ангиопротекторы минералосодержащие препараты. По показаниям назначались антибактериальные препараты, антиритмики, антиагреганты. Среди указанных препаратов известных антиоксидантов (токоферол, дибунол, мексикор, мексидол и др.) нет, но определенными антиоксидантными свойствами обладают лекарственные средства из группы гепатопротекторов и ангиопротектор аскорутин. Пациенты были разделены на 3 группы: в 1 группу включены 9 пациентов (из них 2 женщины) с алкогольным гепатитом (АГ), во 2 группу – 14 пациентов (из них 3 женщины) с алкогольным циррозом печени декомпенсированным (АЦП группа С по Чайлд-Пью [18]) и в 3 группу – 14 пациентов (из них 3 женщины) в терминальной стадии (ТС, впоследствии умершие). Средний возраст 1 группы составил $45,5 \pm 5,5$ лет, 2 группы – $49,5 \pm 5,6$ лет, 3 группы – $47,2 \pm 6,2$ лет. Контрольную группу (норма) составили 20 человек. Средний возраст $42,0 \pm 2,1$ года.

Оценку ОС осуществляли путем измерения в плазме крови показателей процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) [19, 20] и антиоксидантной системы (АОС) – α -токоферола (ТФ) и церулоплазмина (ЦП) [21, 22]. Коэффициент К ОС определяли по формуле [23]:

$$K = \left(\frac{ДК_i}{ДК_n} \times \frac{МДА_i}{МДА_n} \right) : \left(\frac{ТФ_i}{ТФ_n} \times \frac{ЦП_i}{ЦП_n} \right),$$

где показатели с индексом i соответствуют значениям у больных, а показатели с индексом n – нормальным значениям. При сохранении баланса ПОЛ/АОС коэффициент К ОС ≈ 1 . При усилении процессов ПОЛ значение коэффициента К ОС возрастает.

Полученные при исследовании результаты обработаны методами вариационной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Полученные в результате исследования данные представлены в таблице. Из них следует, что у пациентов всех обследованных групп при поступлении в клинику наблюдается достоверное увеличение уровня первичных продуктов ПОЛ – ДК: при АЦП “С” в 3,1 раза ($p < 0,05$), при АГ в 4,3 раза ($p < 0,05$) и у пациентов терминальной стадии в 5,9 раза ($p < 0,05$) по сравнению со значением нормы. Содержание МДА в плазме крови при поступлении у пациентов с АЦП “С” достоверно не отличалось от нормальных значений, у пациентов с АГ достоверно превышало норму в 1,25 раза ($p < 0,05$) и у пациентов терминальной стадии – 1,26 раза ($p < 0,05$).

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Таблица. Состояние окислительного стресса в плазме крови пациентов с алкогольной болезнью печени ($\bar{X} \pm m$).

Категория больных	Срок забора крови	Показатели				
		ДК, $\Delta D_{233}/\text{мг}$ липидов	МДА, ммоль/л	ТФ, мкг/мг липидов	ЦП, мг/100мл	Коеффициент К, усл.ед.
АГ	1	1,08 \pm 0,17*	6,09 \pm 0,45**	2,04 \pm 0,72	20,2 \pm 3,2*	6,22 \pm 0,49**
	2	1,26 \pm 0,22***	6,44 \pm 0,66*	2,71 \pm 0,94	16,3 \pm 4,6*	8,05 \pm 2,68***
АЦП «С»	1	0,78 \pm 0,17*	5,00 \pm 0,08	3,60 \pm 0,57	19,6 \pm 2,2*	1,80 \pm 0,28*
	2	0,58 \pm 0,09*	5,01 \pm 0,15	3,40 \pm 0,41	19,3 \pm 2,1*	1,58 \pm 0,35
Терминальная стадия	1	1,48 \pm 0,50*	6,17 \pm 0,24***	4,55 \pm 0,62*	20,3 \pm 3,2*	3,71 \pm 0,34***
	2	1,38 \pm 0,53*	5,47 \pm 0,42	5,54 \pm 0,67***	14,5 \pm 3,1*	3,84 \pm 1,00***
Норма		0,25 \pm 0,02	4,87 \pm 0,06	3,38 \pm 0,27	27,9 \pm 1,71	1,12 \pm 0,11

Примечание: *, **, *** - достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с нормой, между группами АГ и АЦП "С" и между группами АЦП "С" - терминальная стадия, соответственно; ДК - диеновые конъюгаты, МДА - малоновый диальдегид, ТФ - α -токоферол, ЦП - церулоплазмин; 1 - при поступлении в клинику, 2 - через 2-е недели от начала лечения.

При исследовании показателей АОС в плазме крови при поступлении не выявлено достоверных отличий по отношению к норме в уровне основного липидорастворимого мембранного антиоксиданта ТФ у больных с АГ и с АЦП "С", хотя у больных с АГ проявлялась тенденция к его снижению. У пациентов терминальной стадии концентрация ТФ при поступлении достоверно превышала значение нормы в 1,35 раза ($p < 0,05$).

В отличие от ТФ у больных всех групп содержание в плазме крови водорастворимого внеклеточного антиоксидантного фермента ЦП при поступлении было достоверно ($p < 0,05$) сниженным по сравнению с его нормальными значениями приблизительно в равной степени – в 1,37-1,42 раза.

При интегральной оценке состояния ПОЛ и АОС у пациентов с АБП с помощью расчетного коэффициента К ОС выявлено, что при поступлении у больных АЦП "С" его значение достоверно превышало значение нормы в 1,6 раза ($p < 0,05$), у больных АГ – в 5,6 раза ($p < 0,05$), у пациентов терминальной стадии – в 3,3 раза ($p < 0,05$).

Проводимая двухнедельная традиционная терапия не оказывала корригирующего влияния на уровень ДК в плазме крови при АГ, способствовала менее значимому, хотя и не достоверному по сравнению с исходом, понижению концентрации ДК при АЦП "С" и у пациентов терминальной стадии, но она оставалась выше нормы в 2,3 ($p < 0,05$) и в 5,5 ($p < 0,05$) раза, соответственно. Через 2 недели после начала лечения у больных АЦП "С" уровень МДА в плазме крови сохранялся в пределах нормы, у больных АГ превышал достоверно значение нормы в 1,3 раза ($p < 0,05$). У пациентов терминальной стадии концентрация МДА в плазме крови достоверно не отличалась по сравнению со значением при поступлении в клинику.

При исследовании показателей АОС через 2 недели после поступления установлено, что уровень ТФ достоверно не изменялся по сравнению с исходным значением и не отличался от уровня нормы у пациентов

АГ и АЦП “С”, а у пациентов терминальной стадии возрастал в ещё большей степени, чем при поступлении – в 1,6 раза ($p < 0,05$). У пациентов с АЦП “С” содержание ЦП в плазме крови оставалось достоверно сниженным так же как при поступлении в 1,4 раза ($p < 0,05$), у больных АГ и у пациентов терминальной стадии уровень ЦП снижался в ещё большей степени – в 1,7 и в 1,9 раза ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению со значением нормы.

Согласно приведённым данным, у больных АЦП “С” на фоне проводимой терапии значение коэффициента К ОС снижалось и достоверно не отличалось от значения нормы, а у больных АГ и у больных в терминальной стадии не изменялось и оставалось достоверно значимо выше нормы.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в патогенезе АБП существенное значение имеют нарушения в системе ПОЛ-АОС. Эти нарушения проявляются в увеличении в крови уровня продуктов ПОЛ, как первичных, так и вторичных. Повышенный уровень продуктов ПОЛ наблюдается при поступлении и сохраняется в течение 2 недель. При АБП у больных терминальной стадии наблюдается повышенный уровень ТФ как при поступлении больных в клинику, так и после проведения двухнедельной терапии, что можно рассматривать как компенсаторную реакцию в ответ на усиление свободнорадикальных процессов. В более ранней работе так же выявлено увеличение содержания ТФ в плазме крови больных наркоманиями и токсикоманиями, что авторы объясняют его выходом из органов резервирования при повреждении гепатоцитов [24]. При хронической алкоголизации наблюдается активация симпато-адреналовой системы, что проявляется увеличением в крови уровня катехоламинов и кортикостероидов [25]. Катехоламины и кортикостероиды играют важную роль в мобилизации ТФ из органов-депо (жировая ткань, печень) [26]. Повышение уровня катехоламинов при АБП, с одной стороны, способствует усилению образования активных форм кислорода при их превращении в адренохром, с другой – вызывает защитную реакцию в виде мобилизации ТФ в кровяное русло.

У всех обследованных больных АБП наблюдается значительное снижение содержания ЦП в крови как при поступлении, так и после двухнедельной терапии. Известно, что основным местом синтеза ЦП является печень [27]. Следовательно, именно нарушением синтеза ЦП в печени при АБП и может быть обусловлено выявленное нами уменьшение его содержания в плазме крови.

При оценке выраженности ОС при АБП установлено, что наиболее высокие значения коэффициента К наблюдались у пациентов с АГ, а наименьшие – пациентов с АЦП “С”. Исходя из способа расчёта коэффициента К, при АГ выявляются как высокие значения продуктов ПОЛ, так и низкие по сравнению с нормой значения показателей АОС. При АЦП “С” уровень первичных продуктов ПОЛ повышен в меньшей степени, чем при АГ, а концентрация вторичных продуктов ПОЛ не отличается от значений нормы. Эти данные по коэффициенту К свидетельствуют о большем сдвиге равновесия в системе ПОЛ-АОС в сторону ПОЛ при выраженном воспалительном процессе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В целом, полученные данные свидетельствуют о важной роли свободнорадикальных процессов в патогенезе АБП. Можно отметить, что при АБП в большей мере наблюдается повышение в плазме крови первичных продуктов ПОЛ – ДК, чем вторичных – МДА. Следует также подчеркнуть, что при АБП выявляется недостаточность эндогенной АОС,

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

проявляющаяся сдвигом равновесия в системе ПОЛ-АОС в сторону процессов ПОЛ. Принимая во внимание отсутствие достоверной коррекции состояния процессов ПОЛ и АОС на фоне двухнедельной стандартной терапии, при АБП можно рекомендовать применение препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами и непосредственно сами антиоксиданты при АБП. С учетом известных механизмов генерации активных форм кислорода и азота при алкогольной интоксикации представляется перспективным исследование взаимосвязи процессов ПОЛ и системы оксида азота при АБП для разработки методов наиболее эффективной фармакотерапии этого заболевания.

ВЫВОДЫ.

1. При алкогольной болезни печени в плазме крови наблюдается увеличение содержания первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов, сопровождающееся снижением концентрации церулоплазмينا и сохраняющееся на протяжении 2 недель наблюдения.
2. Уровень окислительного стресса в большей степени выражен при алкогольном гепатите.
3. У пациентов в терминальной стадии выявляется мобилизация эндогенного липидного антиоксиданта α -токоферола в кровяное русло.
4. Проводимая стандартная терапия оказывала корригирующее влияние на выраженность окислительного стресса только у пациентов с декомпенсированным алкогольным циррозом печени (группа С по Чайлд-Пью).
5. В патогенезе алкогольной болезни печени важную роль играет окислительный стресс и дальнейшая разработка патогенетической лекарственной терапии заболевания, прежде всего направленной на коррекцию состояния эндогенной АОС экзогенными антиоксидантами, является актуальной и перспективной социальной задачей.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А.* (2006) Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. "Слово", М.
2. *Caro A.A., Cererbum A.I.* (2004) *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **44**, 27-42.
3. *Albano E.* (2008) *Mol. Asp. Med.*, **29**, 9-16.
4. *Кузнецов Э.Э., Горохова В.Г., Горохов А.Г., Сергеева А.С., Курильская Т.Е., Пивоваров Ю.И., Рунович А.А.* (2007) Бюлл. ВСНЦ СО РАМН, **50**(4), 170-180.
5. *Choi D.W., Leninger-Muller B., Wellman M. et al.* (2004) *J. Toxicol. Environ. Health A.*, **67**, 2061-2071.
6. *Albano E.* (2006) *Proc. Nutr. Soc.*, **65**, 278-290.
7. *Loguercio C.* (2003) *Free Rad. Biol. Med.*, **34**(1), 1-10.
8. *Arosio P., Levi S.* (2002) *Free Rad. Biol. Med.*, **33** (4), 457-463.
9. *Rao R.K., Seth A., Sheth P.* (2004) *Am. J. Physiol.* **286**, G881-G884.
10. *Hines I.N., Wheeler M.D.* (2004) *Am. J. Physiol.* **287**, G310-G314.
11. *Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L.* (2007) *Physiol. Rev.*, **87** (1), 315-424.
12. *Reed D.J.* (2004) *Drug Metab. Rev.*, **36** (3-4), 569-582.
13. *Feldman M., Friedman L.S., Sleisenger M.H.* (2002) *Gastrointestinal and liver disease*. Saunders, 1375-1391.
14. *Kono H., Bradford B.U., Yin M.* (1999) *Am. J. Physiol.*, **277**, G1259-G1267.

15. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. (2006) Современные наукоёмкие технологии, №6, 21-26.
16. Панченко Л.Ф., Пирожков С.В., Дудко Т.Н., Баронец В.Ю., Алябьева Т.Н., Перегуд Д.И. (2008) Вопр. наркологии, №6, 42-47.
17. Пирожков С.В., Панченко Л.Ф., Дудко Т.Н., Баронец В.Ю., Алябьева Т.А., Перегуд Д.И. (2005) Наркология, №6, 32-37.
18. Броневец И.Н., Гончарик И.И., Демидчик Е.П., Сакович М.Н. (1997) Справочник по гастроэнтерологии. Минск.
19. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. (1987) Вопр. мед. химии, **33**(1), 118-122.
20. Каган В.Е., Орлов В.Н., Прилипко Л.И. (1986) Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов. Наука, М.
21. Duggan D.E. (1959) Arch. Biochem. Biophys. **84**(1), 116-122.
22. Ravin H.A. (1961) J. Lab. Clin. Med., **58**(1), 161-168.
23. Давыдов Б.В., Полумисков В.Ю., Голиков П.П., Голиков А.П. (1991) В кн.: Клиническая лабораторная диагностика. Тез. докл. 4 Всесоюзного съезда специалистов по клинической лабораторной диагностике. М., 48-49.
24. Jeffrey G.P., Muller D.P.R., Burroughs A.K., Matthews S., Kemp C., Epstein O., Metcalfe T.A. et al (1987) J. Hepatol., **4**, 307-117.
25. Билибин Д.П., Дворников В.Е. (1990) Патология физиология алкогольной болезни и наркоманий. Университет Дружбы народов, М.
26. Голиков П.П., Давыдов Б.В., Матвеев С.Б. (1987) Вопр. мед. химии, **33**(1), 47-50.
27. Ващенко В.И., Ващенко Т.Н. (2006) Психофармакол. биол. наркол., **6**(3), 1245-1269.

Поступила: 11. 12. 2012.

OXIDATIVE STRESS IN THE OF ALCOHOLIC LIVER DISEASE

L.F. Panchenko¹, B.V. Davydov², N.N. Terebilina², V.Yu. Baronets², A.S. Zhuravleva³

¹Institute of General Pathology and Pathophysiology of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

²National Scientific Center of Drug Addiction, M. Mogillsevskii per. 3, Moscow, 119002 Russia; tel.: +7 499 2419446; fax. +7 499 2419590; e-mail: boris.davidov2@yandex.ru

³Russian University of Peoples Friendship, Moscow, Russia

Parameters reflecting oxidative stress (OS) have been studied in 37 patients with alcoholic liver disease (ALD) during admission to the hospital and 2 weeks after the beginning of therapy. The patients were divided into 3 groups: alcoholic hepatitis (AH), alcoholic cirrhosis with hepatic insufficiency (the group C with Child-Paquet) and terminal stage patients (they subsequently died). All patients were characterized by a significant increase in plasma products of lipid peroxidation (conjugated diene and malondialdehyde) and decrease of the ceruloplasmin level. The coefficient K OS significantly exceeded normal values both on admission and after the 2-week course of traditional treatment. This suggests an important role of the OS with ALD.

Key words: oxidative stress, alcoholic liver disease, lipid peroxidation, antioxidant system.