

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 577.17:615.036
©Коллектив авторов

АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ТИРЕОТОКСИКОЗА ПРИ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ С ЭПИФАМИНОМ

С.С. Попов¹, А.Н. Пашков¹, В.И. Золоедов¹, Т.Н. Попова^{2}, Т.И. Рахманова²*

¹Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко

²Воронежский государственный университет, 394006, Воронеж,
Университетская пл., 1; тел.: (4732)208278; факс: (4732)208755;
эл. почта: tpopova@bio.vsu.ru

Целью работы явилось исследование степени интенсивности свободнорадикальных процессов и активности каталазы в сыворотке крови больных с синдромом тиреотоксикоза при традиционном лечении и комбинированной терапии с эпифамином. Больные (n=25) были поделены на 2 группы: первая группа пациентов – 12 человек, находящихся на традиционном лечении (антигипертиреозные препараты, β-адреноблокаторы); вторая группа – 13 человек, дополнительно к базисной терапии получала эпифамин по 1 таблетке (10 мг) 3 раза в день за 10–15 минут до еды в течение 7 дней. У больных с синдромом тиреотоксикоза происходила интенсификация свободнорадикального окисления, что прослеживалось при измерении параметров биохемилюминесценции в сыворотке крови. При комбинированной терапии с эпифамином наблюдалась менее выраженная интенсивность свободнорадикальных процессов, а также возрастание общей антиоксидантной активности организма, чего не происходило при традиционном лечении. На фоне проведения стандартной терапии синдрома тиреотоксикоза, включающей применение тиреостатиков и β-адреноблокаторов, активность каталазы уменьшалась, что неблагоприятно сказывалось на антиоксидантном потенциале организма. При комбинированной терапии с эпифамином уровень активности каталазы, напротив, возрастал, что могло позитивно влиять на антиоксидантную защиту организма.

Ключевые слова: тиреотоксикоз, свободнорадикальное окисление, каталаза, эпифамин.

* - адресат для переписки

ВВЕДЕНИЕ. Тиреотоксикоз – синдром, обусловленный избыточным образованием тиреоидных гормонов и повышенным их уровнем в крови, является одним из самых распространенных эндокринных заболеваний. При синдроме тиреотоксикоза нарушения функционирования ряда систем организма обусловлены действием избытка тиреоидных гормонов на различные виды обмена веществ, органы и ткани. В последнее время отводится большая роль процессам свободнорадикального окисления (СРО) в патогенезе различных заболеваний. Однако значимость данных процессов при гиперфункции щитовидной железы изучена не достаточно. В одних источниках говорится, что тиреоидные гормоны могут инициировать СРО, в других, напротив, что они обладают антиоксидантными свойствами [1, 2]. Следует также отметить, что антитиреоидные препараты, являющиеся основным звеном в терапии данного заболевания, относятся к классу ксенобиотиков, которые могут ослаблять антиоксидантную систему (АОС) организма и этим самым активизировать СРО в различных субклеточных компартментах, повреждая ДНК, белки и другие биомолекулы [4]. Система антиоксидантной защиты (АОЗ), регулирующая генерирование активных форм кислорода (АФК), делиться на два звена: ферментативное и неферментативное. К ферментативному звену АОС относится каталаза (КФ 1.11.1.6), которая предотвращает накопление в клетке пероксида водорода. Она относится к ферментам, которые наиболее длительно сохраняют высокую активность, а скорость реакции разложения H_2O_2 лимитируется лишь скоростью диффузии субстрата к активному центру каталазы [4]. В наших предыдущих экспериментальных работах на животных с индуцированным гипертиреозом было показано, что для коррекции оксидативного стресса, сопровождающего развитие данного заболевания, может быть использован мелатонин [5]. Было выявлено, что при введении данного гормона происходило уменьшение интенсивности СРО и сопутствующее снижение степени мобилизации АОС. В настоящей работе мы использовали на фоне проведения традиционной терапии у больных с синдромом тиреотоксикоза эпифамин. Эпифамин является пептидным биорегулятором, тропным к эпителио-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 [6, 7].

Таким образом, целью настоящей работы явилось исследование степени интенсивности свободнорадикальных процессов и активности каталазы в сыворотке крови больных с синдромом тиреотоксикоза при традиционном лечении и комбинированной терапии с эпифамином.

МЕТОДИКА. В клиническом исследовании использовали сыворотку крови 25 пациентов с синдромом тиреотоксикоза. Возраст пациентов составлял от 27 до 69 лет. Синдром тиреотоксикоза наблюдался при диффузном токсическом зобе – 12 пациентов (52%), смешанном токсическом зобе – 4 пациента (17%), узловым токсическом зобе – 4 пациента (17%), хроническом аутоиммунном тиреоидите – 3 пациента (14%). По степени тяжести к субклиническому тиреотоксикозу было отнесено 2 пациента (9%), манифестному – 18 пациентов (78%), осложнённого – 3 пациента (13%). Диагнозы были поставлены на основании клинических признаков заболевания, гормонального исследования крови, данных ультразвукового исследования щитовидной железы. Средняя продолжительность заболевания составляла $4,2 \pm 0,7$ месяца. Из сопутствующих заболеваний наиболее часто встречались гипертоническая болезнь – у 12 больных, хронический гастрит в стадии ремиссии – у 4 больных, хронический криптогенный панкреатит в стадии ремиссии – у 3 больных.

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

Больные были поделены на 2 группы. Первая группа пациентов – 12 человек, находящихся на традиционном лечении (анти тиреоидные препараты: мерказолил, тирозол (суточная доза 30-40 мг); β -адреноблокаторы: анаприлин, атенолол, метопролол). Вторая группа пациентов – 13 человек, 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) по 1 таблетке (10 мг) 3 раза в день за 10-15 минут до еды в течение 7 дней. Сыворотку получали из венозной крови стандартными методами.

Параметры биохемилюминесценции определяли с помощью биохемилюминометра БХЛ – 06М с программным обеспечением. Кинетическую кривую биохемилюминесценции регистрировали в течение 30 с (времени наибольшей информации об интенсивности протекающего свободнорадикального процесса). Определяли следующие параметры: светосумму хемилюминесценции (S), интенсивность вспышки (I_{\max}) и тангенс угла наклона кинетической кривой ($\text{tg}\alpha_2$). Активность каталазы определяли на спектрофотометре СФ-56 при 410 нм с помощью метода, основанном на способности пероксида водорода образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс. Активность ферментов выражали в ферментативных единицах в расчете на мл сыворотки, а также в виде удельной активности (в расчете на мг белка). За ферментативную единицу (Е) принимали количество фермента, катализирующее превращение микромоля субстрата за 1 мин при 25°C. Общий белок определяли по методу Лоури [8]. Статистическая обработка материала включала в себя использование стандартных методов вариационной статистики (расчет средних значений (M), ошибка 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 ОБСУЖДЕНИЕ. Было установлено, что параметры биохемилюминесценции: S и I_{\max} , характеризующие интенсивность СРО, возрастали при синдроме тиреотоксикоза. Так, в 1-ой группе больных при поступлении в стационар наблюдалась тенденция к увеличению S и I_{\max} в сыворотке крови на 16% и 10% соответственно. Полученные результаты согласуются с данными о том, что тиреоидные гормоны в больших концентрациях могут индуцировать окислительный стресс [9]. Величина $\text{tg}\alpha_2$, характеризующая общую антиоксидантную активность, была выше в сыворотке крови на 11%, чем соответствующий параметр в условиях нормы (рис. 1). Полученные результаты согласуются с нашими данными о возрастании интенсивности свободнорадикальных процессов и мобилизации АОС организма в эксперименте на лабораторных животных [10]. Однако изменения показателей были менее выражены, чем в эксперименте. Параметры биохемилюминесценции свидетельствуют об активизации АОС организма больных с синдромом тиреотоксикоза, что, по-видимому, является адаптивной реакцией организма на интенсификацию СРО. После проведения традиционного лечения наблюдалось увеличение S и I_{\max} в крови в 1,3 раза ($p < 0,05$) и 1,2 раза соответственно. Очевидно, это связано с тем, что метаболизм ксенобиотиков, включая лекарственные препараты, обладающие анти тиреоидными свойствами, сопряжён с генерацией АФК [3]. Возможно, это происходило в результате активации микросомального окисления с участием системы цитохрома P – 450 2E1 [11]. В то же время величина $\text{tg}\alpha_2$ уменьшалась в 1,2 раза по сравнению с результатами, полученными до лечения. Это может быть связано с тем, что при приёме тиреостатиков происходит ослабление АОС организма, что, в свою очередь ведёт еще к большей активизации СРО.

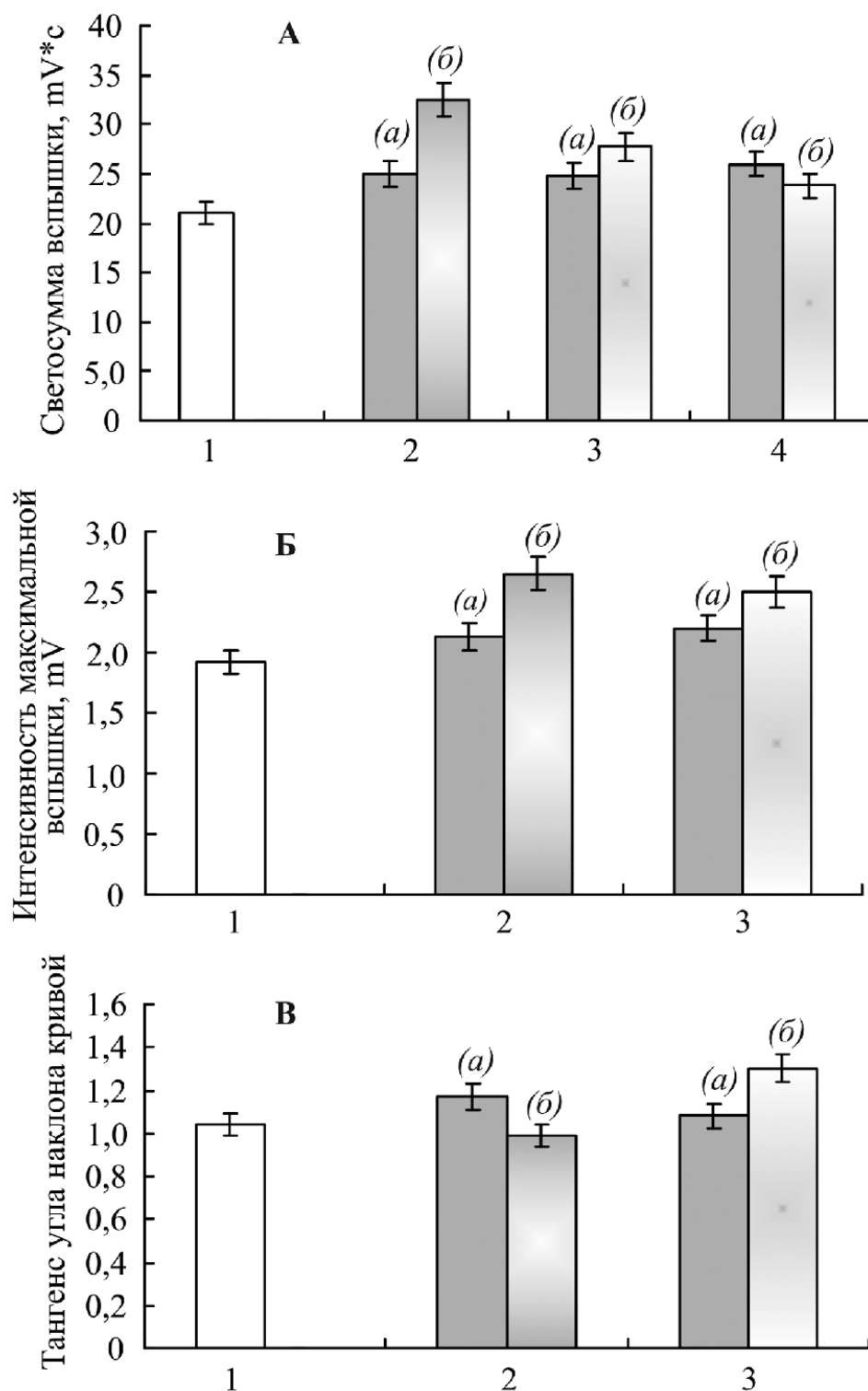


Рисунок 1.

Параметры биохемилюминесценции: светосумма вспышки (А), интенсивность максимальной вспышки (Б), тангенс угла наклона кривой (В), в сыворотке крови в норме (1), у больных с синдромом тиреотоксикоза при традиционном лечении (2) и при применении эпифамина (3): до лечения (а) и после лечения (б). *Примечание:* 4 – группа больных, у которых происходило уменьшение светосуммы вспышки биохемилюминесценции при приеме эпифамина на фоне традиционного лечения

Во 2-ой группе больных с синдромом тиреотоксикоза при поступлении в стационар S и I_{\max} в крови были также выше (на 16% ($p<0,05$) и 12% соответственно). Величина $tg\alpha_2$ также незначительно повышалась. После приёма эпифамина на фоне базисной терапии у 60% больных происходило возрастание S , но в меньшей степени, чем в группе, не получавшей эпифамин (в среднем на 11%), а у 40% ($p<0,05$) пациентов S даже снижалась (в среднем на 15%). При приёме эпифамина, такой показатель, как I_{\max} также возрастал в меньшей степени – на 12% по сравнению с данным параметром до лечения. Характерно, что величина $tg\alpha_2$ увеличивалась более чем в 1,2 ($p<0,05$) раза. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что, по-видимому, под действием эпифамина происходило торможение активизации СРО у больных, и снижалась степень выраженности окислительного стресса. Положительным эффектом приема эпифамина можно также считать возрастание антиоксидантного потенциала организма больных с синдромом тиреотоксикоза.

У больных 1-ой и 2-ой групп с синдромом тиреотоксикоза, поступивших в стационар, активность каталазы превышала значение нормы. Так, активность фермента, выраженная в Е на мл, имела тенденцию к увеличению в сыворотке крови в среднем в 1,2 раза по сравнению с данными, полученными в контрольной группе (рис. 2А). Удельная активность фермента не изменялась. Возрастание активности каталазы было отмечено и в наших экспериментах с животными [5]. По-видимому, уровень активности каталазы сопряжен с адаптивной реакцией организма в ответ на повышенное образование АФК при окислительном стрессе, сопровождающем развитие патологического состояния. Известно, что при тиреотоксикозе в эритроцитах крови возрастает активность супероксиддисмутазы, превращающей особо опасный супероксиданионрадикал в менее активный пероксид водорода [12]. Таким образом, по-видимому, увеличение активности каталазы у больных с синдромом тиреотоксикоза может быть направлено на расщепление пероксида водорода до воды и кислорода, что снижает вероятность образования гидроксильного радикала, обладающего самым высоким окислительным потенциалом среди АФК.

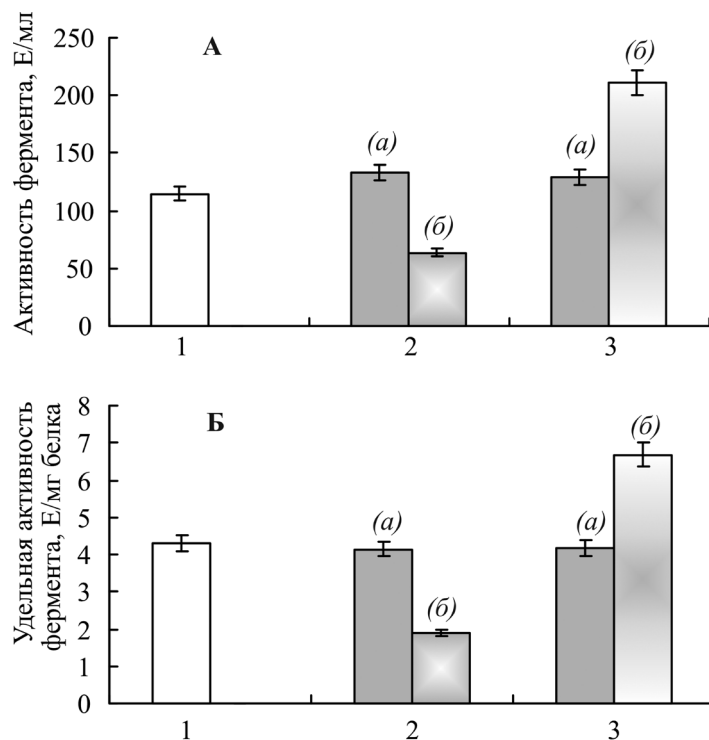


Рисунок 2.

Активность каталазы, выраженная в Е/мл (А), и удельная активность (Б) в сыворотке крови в норме (1), у больных с синдромом тиреотоксикоза при традиционном лечении (2) и при применении эпифамина (3): до лечения (а) и после лечения (б).

После проведённой базисной терапии активность каталазы, выраженная в Е на мл, уменьшалась в 2,1 ($p<0,05$) раза, а удельная активность в 2,2 ($p<0,05$) раза, по сравнению с показателями до лечения в стационаре. Это согласуется с полученными нами параметрами биохемилюминесценции, свидетельствующими о снижении антиоксидантного статуса у больных, связанного, возможно, с усиленным метаболизмом ксенобиотиков.

После проведения комбинированной терапии с эпифамином наблюдалось увеличение активности каталазы, выраженной в Е на мл, в 1,6 раза ($p<0,05$) по сравнению с результатами до лечения. Удельная активность фермента также повышалась (рис. 2Б). Из литературных данных известно, что под действием мелатонина при окислительном стрессе, вызванном дегидрохлоридом, происходит защита молекулы каталазы от АФК [13]. Очевидно, эпифамин, способствовал защите молекулы каталазы от действия АФК, и этим самым повышал функциональную активность фермента, что могло отражаться на общем антиоксидантном потенциале и иметь положительное значение для снижения темпов СРО.

Следует отметить, что при приеме эпифамина в группе больных с синдромом тиреотоксикоза, находящихся на базисной терапии, побочных эффектов на показатели биохимического, гормонального и общего анализов крови выявлено не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ. Полученные данные свидетельствуют о том, что при синдроме тиреотоксикоза происходила инициация СРО, что прослеживалось при измерении параметров биохемилюминесценции в сыворотке крови. При комбинированной терапии с эпифамином наблюдалась менее выраженная интенсивность СРО, а также возрастание общей антиоксидантной активности организма, чего не происходило при стандартной терапии. На фоне проведения стандартной терапии синдрома тиреотоксикоза, включающей применение тиреостатиков, активность каталазы уменьшалась, что неблагоприятно сказывалось на антиоксидантном потенциале организма. При комбинированной терапии с эпифамином уровень активности каталазы, напротив, возрос, что могло позитивно влиять на антиоксидантную защиту организма.

Работа поддержана грантом РФФИ №08-04-99018 р-офи, аналитической ведомственной целевой программой “Развитие научного потенциала высшей школы (2009-2010 гг)”, код проекта 2.1.1/492 и программой “Участник молодежного научно-инновационного конкурса 2008” № проекта 8838.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Rodriguez-Gomez I., Wangenstein R., Moreno J.M.* (2005) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **288**(6), E1252–E1257.
2. *Fernandes V., Videla L.A.* (1989) in: *Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine* (J. Miquel, A.T. Quintanilha, H. Weber. eds) Boca Raton, FL: CRC Press Inc, pp. 105-115.
3. *Куценко С.А.* (2002) *Основы токсикологии.* – СПб.
4. *Mayo J.C., Tan D.X., Sainz R.M.* (2003) *Free Radic. Res.*, **37**(5), 543–553.
5. *Попов С.С., Пашиков А.Н., Попова Т.Н., Золотов В.И., Семенихина А.В., Рахманова Т.И.* (2008) *Биомедицинская химия*, **54**(1), 83-87.
6. *Бондаренко Л.А., Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х.* (1996) в: *Межд. симп. “Геронтологические аспекты пептидной регуляции функций организма”*: Тез. докл. – СПб, с. 27–28.
7. *Хавинсон В.Х., Шутак Т.С.* (2000) *Применение эпифамина при инсулиннезависимом сахарном диабете.* – СПб: ИКФ “Фолиант”.
8. *Lowry O.H., Rosebrought N., Farr A., Randall R.* (1951) *J. Biol. Chem.* **194**, 265-271.

9. *Castilho R.F., Kowaltowski A.J., Vercesi A.E.* (1998) Arch. Biochem. Biophys., **354**(1), 151–157.
10. *Попов С.С., Пашков А.Н., Попова Т.Н., Золоедов В.И., Семенихина А.В., Рахманова Т.И.* (2007) Бюл. эксп. биол. мед., **8**, 170–173.
11. *Ивашкин В.Т., Маевская М.В.* (2007) Алкогольно-вирусные заболевания печени. – М.: Литтерра.
12. *Seymen O., Seven A., Hatemi S.* (1995) Medical Science Research., **23**, 695–696.
13. *Pang S.F., Ayre E.A., Pang C.S.* (1998) J. Chem. Neuroanat., **14**(3-4), 157–166.

Поступила: 18. 07. 2008.

THE ANTIOXIDANT STATUS AT PATIENTS WITH A THYREOTOXICOSIS SYNDROME AT THE COMBINED THERAPY WITH EPIFAMIN

S.S. Popov¹, A.N. Pashkov¹, V.I. Zoloedov¹, T.N. Popova², T.I. Rakhmanova²

¹Voronezh State Medical Academy of N.N. Burdenko

²Voronezh State University, Universitetskaya sq., 1; Voronezh, 394006 Russia; tel.: (4732)208278;
fax: (4732)208755; e-mail: tpopova@bio.vsu.ru

The work purpose was research of degree of free-radical processes intensity and catalase activity in blood serum of patients with a thyreotoxicosis syndrome at traditional treatment and the combined therapy with epifamin. Patients (n=25) have been divided into 2 groups: the first group of patients - 12 persons who are on traditional treatment (antithyreoid drugs, β -adrenoblockers); the second group - 13 persons, are padding to basic therapy received epifamin on 1 tablet (10 mg) 3 times a day 10-15 minutes prior to meal within 7 days. Patients with thyreotoxicosis syndrome had an intensification of free-radical oxidation that was traced at measurement of biochemiluminescence parameters in blood serum. At the combined therapy with epifamin less expressed intensity of free-radical processes, and also increasing of the general antioxidant activity of an organism that did not descend at traditional treatment was observed. At carrying out of standard therapy of thyreotoxicosis syndrome, including application of antithyreoid drugs and β -adrenoblockers, catalase activity decreased, that unfavorable affected antioxidant potential of an organism. At the combined therapy with epifamin level of catalase activity, on the contrary, increased, that could influence positively on antioxidant protection of an organism.

Key words: thyreotoxicosis, free-radical oxidation, catalase, epifamin.