

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЛУТАТИОНОВОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ТИРЕОТОКСИКОЗА ПРИ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ С МЕЛАКСЕНОМ

М. В. Горбенко¹, С. С. Попов², К. К. Шульгин¹, Т. Н. Попова¹, О. Ю. Душечкина²

¹Воронежский государственный университет

²Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко

Поступила в редакцию 6.05.2013 г.

Аннотация. Проведено исследование активности глутатионовой антиоксидантной системы у больных тиреотоксикозом на фоне стандартного лечения и комбинированной терапии с мелаксеном. Установлено, что в сыворотке крови пациентов до лечения наблюдается снижение уровня восстановленного глутатиона (GSH) и возрастание активностей глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР) относительно контроля. При комбинированной терапии с мелаксеном происходило изменение уровня GSH в сторону нормальных значений. Лечение с мелаксеном способствовало снижению активностей ГП и ГР, что, очевидно, сопряжено с антиоксидантным действием мелаксена.

Ключевые слова: тиреотоксикоз, свободнорадикальное окисление, глутатионовая антиоксидантная система, мелаксен.

Abstract. Investigation of glutathione antioxidant system activity at patients with thyreotoxicosis at base therapy and the combined treatment with melaxen has been conducted. It is established that in blood serum of patient before treatment decrease of reduced glutathione (GSH) level and increase of glutathione peroxidase (GP) and glutathione reductase (GR) activities in respect to control took place. At the combined treatment with melaxen there was a change of the GSH level to the side of norm. Treatment with melaxen promoted decreasing of GP and GR activities, that appears, is associated with antioxidant action of melatonin.

Keywords: thyreotoxicosis, free-radical oxidation, glutathione antioxidant system, melaxsen.

ВВЕДЕНИЕ

В ряде исследований показано, что избыточная генерация активных форм кислорода (АФК) является важнейшим патогенетическим фактором развития эндокринных заболеваний. Имеются противоречивые данные о вовлечении тиреоидных гормонов (ТГ) в процесс регуляции свободнорадикального окисления (СО). Ряд авторов указывает на то, что данные метаболиты проявляют антиоксидантные свойства и обезвреживают АФК. Другие работы свидетельствуют об интенсификации процессов пероксидного окисления липидов (ПОЛ) под воздействием тироксина и трийодтиронина [1]. Известно, что при избытке ТГ происходит нарушение функционирования большинства органов и систем организма. АФК выполняющие в организме ряд важных функций, при чрезмерном образовании способны приводить

к нарушению клеточного метаболизма. Защита от действия свободных радикалов (СР) осуществляется ферментативным и неферментативными звеньями антиоксидантной системы (АОС), важное место в которой принадлежит глутатионовому звену. Антиоксидантные свойства GSH определяются непосредственным взаимодействием его со СР и гидропероксидами. Этот тиол может также служить субстратом для ферментов, участвующих в детоксикации АФК. Реакция восстановления окисленного глутатиона (GSSG) до GSH катализируется ГР, использующей НАДФН как источник восстановленных эквивалентов. ГР функционирует вместе с ГП, катализирующей разложение гидроперекисей без образования СР, используя в качестве донора водорода GSH [2].

За последние годы в медицинской науке резко возрос интерес к изучению лечебной роли мелатонина. В настоящее время экспериментально обоснованы его уникальные терапевтические свойства в практике борьбы со многими заболе-

© Горбенко М. В., Попов С. С., Шульгин К. К., Попова Т. Н., Душечкина О. Ю., 2013

ваниями [3]. Мелатонин – эволюционно консервативная молекула, принимающая участие в передаче фотопериодической информации у разных организмов. Антиоксидантная активность наблюдается во всех клеточных структурах, включая ядро клетки. Следует отметить, что в последнее время появились исследования, направленные на изучение антиоксидантной активности синтетического аналога мелатонина – мелаксена.

В связи с вышесказанным целью данной работы явилось исследование активностей ГП, ГР, а также содержания GSH в сыворотке крови больных тиреотоксикозом при стандартном лечении и комбинированной терапии с мелаксеном.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В клиническое исследование было включено 33 человека с синдромом тиреотоксикоза, в том числе 12 мужчин (43%) и 21 женщина (57%). Синдром тиреотоксикоза возникал при диффузном токсическом зобе – 12 пациентов (67%), узловом токсическом зобе – 5 пациентов (15%), тиреотоксической фазе при аутоиммунном тиреоидите – 6 пациентов (18%). Диагнозы были поставлены на основании клинических признаков заболевания, гормонального исследования крови, данных ультразвукового исследования щитовидной железы, печени. Для коррекции нарушений, связанных с развитием синдрома тиреотоксикоза, больные получали анти тиреоидные препараты: мерказолил, тирозол и β – адреноблокаторы: анаприлин, атенолол, метопролол. Контрольную группу составили 65 практически здоровых лиц с нормальными показателями общего, биохимического анализ крови и содержания ТТГ и Т4 свободного.

Больные были разделены на 2 группы. Первая группа пациентов (35 человек) находилась на традиционном лечении. Вторая группа пациентов (53 человека) дополнительно к анти тиреоидным препаратам и β - адреноблокаторам получали мелаксен (Юнифарм, США) по 1 таблетке, содержащей 3 мг мелатонина, 1 раз в день за 30-40 минут перед сном в течении 10 дней.

Активность ГП, ГР определяли на спектрофотометре Hitachi U-1900 при длине волны 340 нм [4]. Активность ферментов выражали в ферментативных единицах в расчете на мл сыворотки. Концентрацию восстановленного глутатиона определяли с помощью реакции с 5,5-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой [5]. Содержание белка определяли унифицированным методом по биуретовой реакции.

Опыты проводили как минимум в 8-кратной биологической и 2-кратной аналитической повторностях. Результаты опытов сравнивали с контролем. Данные обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента с вычислением среднего значения, стандартного отклонения, различия считали достоверными при $p \leq 0,05$ [6].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При поступлении в стационар больных с синдромом тиреотоксикоза происходило уменьшение содержания GSH в сыворотке крови в среднем в 2,0 раза относительно контрольного уровня [7]. По-видимому, это связано со значительным возрастанием расходования GSH при интенсификации СО. Так, глутатион в восстановленной форме, может функционировать как антиоксидант многими способами: химически взаимодействовать с синглетным кислородом, супероксид – анион радикалом (O_2^-) и гидроксильным радикалом или на прямую разрушать СР; стабилизировать мембранную структуру перемещением ацилпероксидов, образующихся путем ПОЛ. Кроме того, GSH является коферментом ряда ферментов, активность которых основана на изменении редокс-потенциала глутатиона [8]. После проведения традиционного лечения наблюдалось незначительное уменьшение уровня GSH (на 8%), что, вероятно, было связано со снижением активности АОС у больных, в результате усиленного метаболизма ксенобиотиков.

Во второй группе пациентов, находящихся на комбинированном лечении с мелаксеном, уровень GSH возрастал на 15% (рис. 1). Очевидно, мелатонин, входящий в состав данного препарата, проявлял антиоксидантные свойства, что приводило к снижению степени активности СО и в свою очередь, к уменьшению расходования GSH.

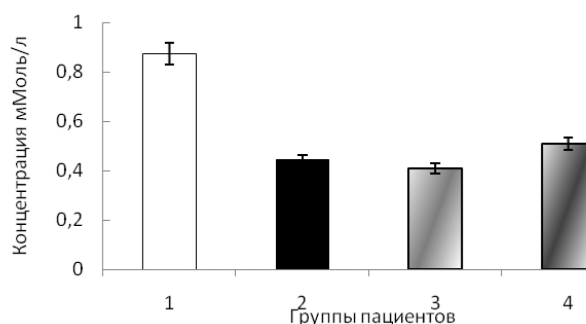


Рис. 1. Концентрация глутатиона в сыворотке крови в норме (1); у больных с тиреотоксикозом (2); при традиционном лечении (3); комбинированной терапии с мелаксеном (4).

Антиоксидантные свойства мелатонина связаны, прежде всего, с его способностью связывать образующийся при ПОЛ наиболее токсичный гидроксильный радикал, а также пероксинитрит и оксид азота. Вероятны два механизма тушения мелатином СР. Первый – передача электрона от молекулы мелатонина к активному радикалу с образованием катион – радикала мелатонина и аниона и последующей транспортировкой протона от катион – радикала к аниону с образованием мелатонил – радикала и R – H; второй – прямой перенос атома водорода между мелатином и свободным радикалом. Кроме того, известно, синергичное действие мелатонина по отношению к GSH. Имеются данные, указывающие на то, что данный гормон способствует восстановлению GSSG [9].

При проведении базисной терапии с мелаксеном, отмечается снижение активностей ГП и ГР в сыворотке пациентов с тиреотоксикозом, значительно возрастающих при патологии. Актив-

ность ГП и ГР, увеличивающаяся при синдроме тиреотоксикоза в 1,6 и 1,4 раза соответственно, снижалась на 34,9 и 43,4 % при проведении комбинированной терапии с мелаксеном (рис. 2,3). В сыворотке пациентов при поступлении в стационар удельная активность ГП и ГР, возрастающая при синдроме тиреотоксикоза на 24 и 12%, уменьшалась в 1,4 и 1,5 раза после приема мелаксена (рис. 2). Очевидно, наблюдаемые изменения активности ГП и ГР при патологии являются защитной реакцией организма при развитии тиреотоксикоза. Полученные результаты при традиционном лечении с мелаксеном, по всей видимости, отражают уменьшение функциональной нагрузки на глутатионовую антиоксидантную систему, сопряженное с антиоксидантным действием мелатонина, входящего в состав мелаксена. Установлено, что индольная часть молекулы мелатонина является активным центром взаимодействия со СР, благодаря своей высокой резонансной стабильно-

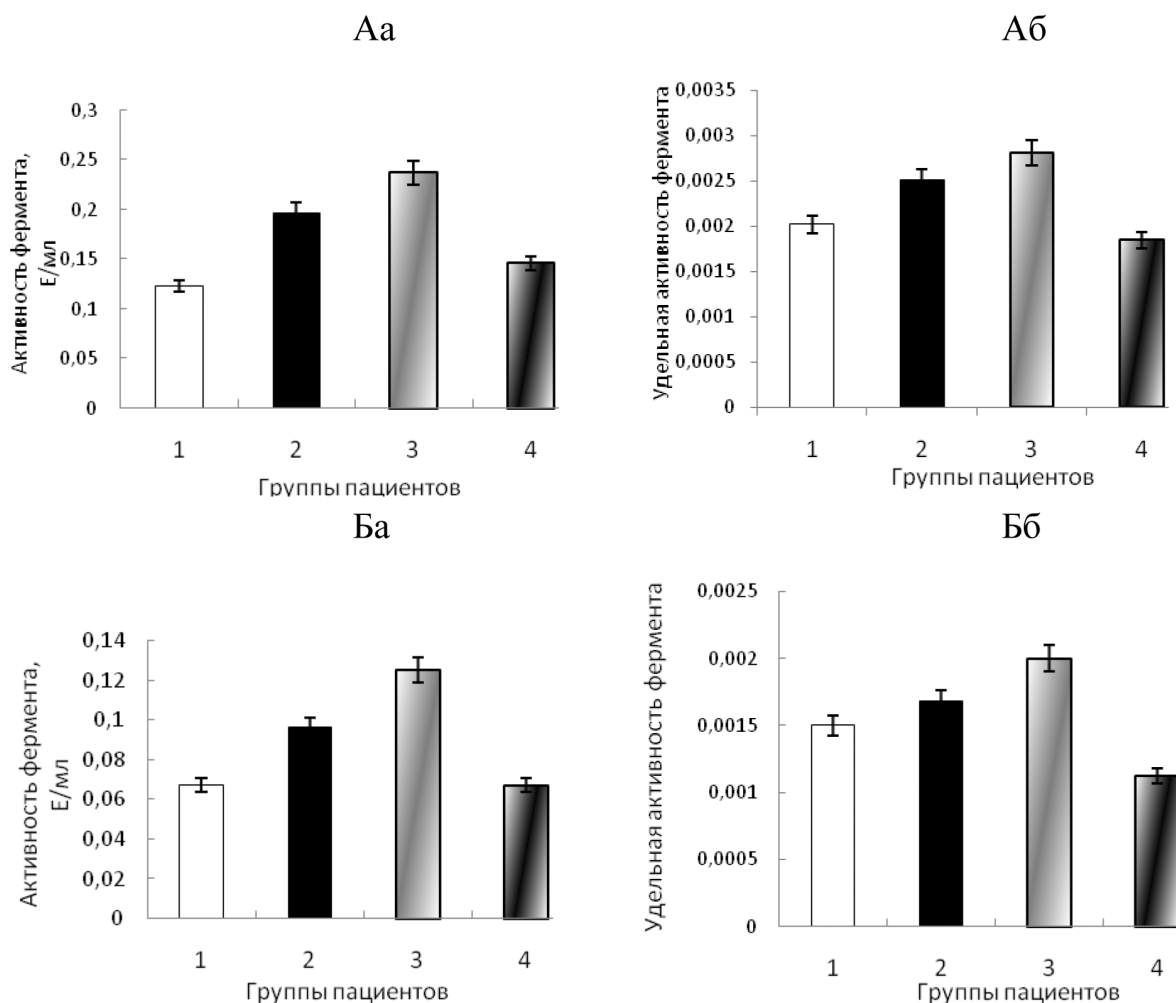


Рис. 2. Активность ГП (А) и ГР (Б), выраженная в Е/мл (а) и Е/мг белка (б) в сыворотке крови в норме (1); у больных с тиреотоксикозом (2); при традиционном лечении (3); комбинированной терапии с мелаксеном (4)

сти и очень низкому барьеру энергии активации к СР. Кроме того, установлено, что метаболиты мелатонина также обладают антиоксидантной активностью. Так, N – ацетил – N [2] – формил – 5 – метоксикинурамин способен уменьшать повреждение ДНК и липидов СР. Таким образом, не только мелатонин, но и его продукты, могут также нейтрализовать СР [9].

После проведения стандартной терапии происходило увеличение активностей ГП и ГР, выраженных в Е/мл, в 1,2 и 1,3 ($p < 0,05$) раза соответственно. Изменения удельной активности ГП и ГР ($p < 0,05$) имели сходные тенденции (рис. 2, 3). Вероятно, после базисной терапии происходила еще большая мобилизация глутатионового звена АОС, направленного на детоксикацию ксенобиотиков в связи с приемом тиреостатиков, что могло быть связано с генерацией АФК. В процессе биотрансформации ксенобиотиков при функционировании цитохрома P450, который катализирует окисление липофильных ксенобиотиков молекулярным кислородом, часть активированных молекул не реагирует с субстратом, а освобождается из комплекса с ферментом с образованием $O_2^{\cdot -}$ и пероксида водорода. Это связано с тем, что в ряде случаев происходит взаимодействие субстрата с неспецифичными к нему изоформами фермента, которые катализируют реакцию с низкой степенью соединения. $O_2^{\cdot -}$ является высокотоксичным и относительно стабильным радикалом. Он взаимодействует с молекулами белка, липопротеинов, вызывает разрыв спиралей ДНК, окисление тиоловых групп, инициирует ПОЛ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно результатам проведенного исследования, выявлено, что при комбинированной терапии с мелаксеном происходит снижение активности ГП, ГР, а также содержания GSH в сыворотке больных тиреотоксикозом, возрастающих при патологии. По-видимому, при терапии с мелаксеном, происходит торможение свободнорадикальных процессов и снижение нагрузки на АОС, что и приводит к меньшей степени активации ее глутатионового звена. Резюмируя данные, получен-

ные в настоящей работе, следует констатировать, что, очевидно, мелатонин обладает выраженной антиоксидантной способностью непосредственно поглощать СР, нейтрализуя их вредное воздействие на клетки и ткани организма.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Venditti P. Thyroid hormone-induced oxidative stress / P. Venditti, S. D. Meo // Cell. Mol. Life Sci. — 2006. — V. 63. — P. 414–434.
2. Толпыгина О. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты (обзор) / О.А. Толпыгина // Бюллетен Восточно – сибирского научного центра. — 2012. — 2 (84), Часть 2. — С. 178-181
3. Арушанян Э.Б. Гормон эпифиза и его лечебные возможности / Э.Б. Арушанян // Русский медицинский журнал. — 2005. — Т. 13, №26. — С. 1755-1760.
4. Сафонова О.А. Функционирование глутатионпероксидазной/ глутатионредуктазной системы в тканях крыс при действии цитрата на фоне развития тиреотоксикоза / О.А. Сафонова, Т.Н. Попова, Л. Саиди // Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация. — 2011. — №1. — С. 144-148.
5. Anderson M.E. Glutathione monoesters / M.E. Anderson, A. Meister // Analytic biochemistry. — 1989. — V.183. — P. 16-20.
6. Ллойд Э. Справочник по прикладной статистике / Э. Ллойд, У. Ледерман. — М.: Финансы и статистика, 1990. — 525 с.
7. Попов С.С. Функционирование глутатионовой антиоксидантной системы у больных с синдромом тиреотоксикоза при базисной терапии и комбинированном лечении с эпифамином / С.С. Попов [и др.] // Молекулярная медицина. — 2010. — №2. — С. 14-17.
8. Коржов В.И. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты (обзор литературы) / В.И. Коржов, В.Н. Жадан, М.В. Коржов // Журн. АМН України. — 2007. — Т. 13, № 1. — С. 3–19.
9. Беспятовых А.Ю. Мелатонин как антиоксидант: основные функции и свойства / А.Ю. Беспятовых, О.В. Бурлакова, В.А. Голиченков // Успехи современной биологии. — 2010. — Т. 130, №5. — С. 487-496.

Горбенко Марина Владимировна — аспирант кафедры медицинской биохимии и микробиологии, Воронежский государственный университет; e-mail: marinagorbenko87@mail.ru

Горбенко Марина В. — postgraduate student, Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Voronezh State University; e-mail: marinagorbenko87@mail.ru

Попов Сергей Сергеевич — канд. мед. наук, доцент кафедры эндокринологии, Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко; e-mail: popov-endo@mail.ru

Шульгин Константин Константинович — канд. биол. наук, ассистент кафедры медицинской биохимии и микробиологии, Воронежский государственный университет; e-mail: kkshulgin@mail.ru

Попова Татьяна Николаевна — профессор, д.б.н., зав. кафедрой Медицинской биохимии и микробиологии, Воронежский государственный университет; e-mail: tpopova@bio.vsu.ru

Душечкина Ольга Юрьевна — Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко; e-mail: ostapenk2009@rambler.ru

Popov Sergey S. — Candidate of Medical Science Associate Professor, Department of Endocrinology, Voronezh State Medical Academy named after NN Burdenko; e-mail: popov-endo@mail.ru

Shulgin Konstantin K. — Candidate of Biological Sciences, Assistant Professor of Medical Biochemistry and Microbiology Department, Voronezh State University; e-mail: kkshulgin@mail.ru

Popova Tatiana N. — PhD, Full Professor, Head of the Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Voronezh State University; e-mail: tpopova@bio.vsu.ru

Dushechkina Olga U. — Voronezh State Medical Academy named after NN Burdenko; e-mail: ostapenk2009@rambler.ru