

Гепатоцитопротекторы в лечении больных псориазом и их влияние на тиол-дисульфидный обмен

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Резюме. Изучено влияние ремаксола и гептрала на течение распространённых форм псориаза и обмен тиолов. Тяжесть болезни оценивалась по индексу площади и тяжести псориатических поражений. Исследование тиол-дисульфидного обмена в эритроцитах больных проводилось в начале периода наблюдения и в конце каждой недели в течение месяца. Установлено снижение концентраций сульфгидрильных групп белков и восстановленного глутатиона, угнетение активности ферментов, обеспечивающих функционирование системы тиолов и дисульфидов: глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, особенно в начале периода наблюдений. В группах пациентов, получавших гепатопротекторы, отмечена достоверно более выраженная динамика регресса псориатических высыпаний. Установлено, что ремаксол по сравнению с гептралом обладает более выраженным влиянием на тиол-дисульфидный обмен. Концентрации восстановленного глутатиона, сульфгидрильных групп белков, активность глутатионпероксидазы являются информативными критериями оценки тяжести течения и эффективности проводимой терапии распространённых форм псориаза.

Ключевые слова: тиоловый обмен, псориаз, свободнорадикальное окисление, глутатион, малоновый диальдегид, глутатионпероксидаза, глутатион-S-трансфераза, ремаксол, гептрал.

Введение. В последние годы появилось достаточно много публикаций, посвящённых изучению про- и антиокислительной систем, их регуляции и роли в патогенезе псориаза [1, 3, 4, 17–21]. Ряд работ [1, 3, 11, 14–17, 19] посвящён взаимосвязи свободнорадикальных процессов с клинической картиной заболевания. Установлено, что функционирование клеток зависит в том числе от их окислительно-восстановительного потенциала, в формировании и поддержании которого ведущую роль играет обмен тиолов и дисульфидов [5–7, 8]. Нормальные метаболические процессы приводят к образованию 40–80 ммоль ионов водорода в сутки, главным образом за счёт окисления серосодержащих аминокислот [8]. При усилении окислительных процессов это количество значительно возрастает. Центральное место в обмене тиолов принадлежит глутатиону, так как за счёт превращения восстановленной формы глутатиона в окисленную поддерживается тиол-дисульфидное равновесие в тканях, тем самым, обеспечивая нормальное соотношение окислительно-восстановительных процессов в клетках [5–9]. При этом глутатионовая составляющая, наряду с тиоредоксиновой, является ведущей, так как в различных тканях она обеспечивает восстановление до 74–88% низкомолекулярных и 88% белковых дисульфидов, а также все смешанные дисульфиды глутатиона с белками [8, 13]. Традиционно функционирование показателей обмена глутатиона рассматривается в рамках антиокислительной системы (АОС) клетки и организма в целом. Накопленные данные по системам свободнорадикального окисления (СРО) и антиокислительной защиты позволяют утверждать, что определение их параметров даёт возможность

проводить оценку тяжести состояния больных, осуществлять контроль за лечением, что наиболее актуально в группах больных с распространёнными формами псориаза.

Цель исследования. Изучить влияние гепатоцитопротекторов на течение распространённого псориаза и состояние тиол-дисульфидного обмена в эритроцитах больных.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 53 больных с распространёнными формами псориаза. Тяжесть болезни оценивалась по индексу площади и тяжести псориатических поражений PASI. На первом этапе работы проводилось определение в эритроцитах больных (n=24) малонового диальдегида (МДА), восстановленного глутатиона (ВГ), сульфгидрильных групп белков (СГ), ферментов обмена глутатиона: глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГП), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Гл-6ф-ДГ) и глутатион-S-трансферазы (ГСТ) общепринятыми биохимическими методами [10], получавших базовую терапию. Базовая терапия включала в себя: «венгерскую схему» + кальция глюконат внутримышечно + 2% салициловая мазь наружно на очаги поражения. На втором этапе исследования в комплекс лечебных мероприятий на фоне базовой терапии были включены гепатопротекторы: ремаксол и гептрал, обладающие антиоксидантным, детоксикационным и гепатопротекторным эффектами в виде внутривенных инфузий [12]. 15 пациентов получали ремаксол, 14 – гептрал. Таким образом, все лица, находящиеся под наблюдением, были разделены на 3 группы: 1-я группа

– базовая терапия, 2-я – базовая терапия + ремаксол, 3-я – базовая терапия + гептрал. Контрольную группу составили 20 здоровых доноров. Ремаксол и гептрал вводились пациентам с распространёнными формами псориаза с индексом PASI не ниже 20. Ремаксол – внутривенно капельно по 400 мл в сутки через день в течение 14 дней; гептрал – внутривенно капельно по 400 мг в сутки в физиологическом растворе через день в течение 14 дней.

Определение показателей обмена глутатиона проводилось общепринятыми методами при поступлении и в конце каждой недели наблюдения в течение месяца.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ «Microsoft Excel». В каждой группе рассчитывали средние значения и ошибку среднего. Достоверность различий с соответствующей контрольной группой оценивали по критерию t-Стьюдента. Приведенные в тексте и таблицах значения представляли в виде $X_{\text{ср}} \times m_x$.

Результаты и их обсуждение. У больных 1-й группы при поступлении и к концу второй недели концентрация СГ была ниже контроля на 60 и 55% соответственно. В конце периода наблюдения этот показатель оставался достоверно низким по отношению к контролю, несмотря на то, что наблюдался отчётливый регресс псориатических бляшек – PASI 24,2±3,2 при поступлении и 10,3±5,2 через месяц наблюдения.

При применении ремаксола был отмечен более выраженный рост этого показателя по сравнению с группой базовой терапии, начиная со 2 недели, и далее в течение всего периода наблюдения. Так, к концу 4 недели концентрация СГ у больных, получавших ремаксол, была в 1,37 раза выше, чем в группе базовой терапии, и не отличалась от показаний контроля. В группе больных, получавших гептрал, нам не удалось выявить значимых отличий от показаний 1-й группы.

Учитывая что СГ белков являются индикатором тиолдисульфидного равновесия, который показывает состоятельность глутатиона по восстановлению СГ, данный показатель представляется важным не только как маркер тяжести течения заболевания, но и возможного прогноза течения псориаза, так как соотношение окисленных и восстановленных форм СГ белков характеризует активность ферментов и чувствительность рецепторного аппарата клеток. Падение концентраций СГ у больных в группе базовой терапии указывают на выраженную недостаточность системы глутатиона и значимые нарушения тиолдисульфидного статуса в эритроцитах больных.

Установлено, что распространённые формы псориаза характеризуются выраженными изменениями содержания МДА (табл.). Так, в течение первых двух недель наблюдения концентрация МДА в группе больных, получавших базовую терапию, была выше на 50% (9,372±0,568 нмоль/г гемоглобина), по сравнению с группой здоровых лиц: 4,857±0,327 нмоль/г Hb. При

этом к концу 4-й недели уровень МДА, несмотря на снижение, продолжал оставаться значимо высоким (6,361±0,853 нмоль/г Hb).

Применение ремаксола вызвало снижение концентрации МДА к концу 4 недели наблюдения до уровня контрольной группы, тогда как в 3-й группе этот показатель всё ещё продолжал оставаться значимо высоким, несмотря на проводимую терапию. Полученные результаты свидетельствуют о высокой интенсивности свободнорадикальных процессов у больных с распространёнными формами заболевания и о возможности их эффективной нормализации при применении ремаксола.

В начале периода наблюдения, наряду с высокими значениями МДА, у больных 1-й группы отмечена значимо низкая концентрация ВГ – на 65% (4,125±0,213 мкмоль/г Hb) по сравнению с группой здоровых лиц – 6,327±0,427 мкмоль/г Hb. Однако, несмотря на высокие концентрации ТБК-активных продуктов в конце периода наблюдения, содержание восстановленного глутатиона к концу 4-й недели практически достигло значений контрольной группы (5,763±0,251 мкмоль/г Hb). При введении в схему терапии ремаксола динамика увеличения концентрации ВГ была более интенсивной. Так, в конце второй недели концентрация ВГ составила 4,988±0,186 мкмоль/г гемоглобина, превышая его содержание на 12% относительно 1-й группы в этот период. В группе больных, где в схеме лечения присутствовал гептрал, изменения концентраций ВГ, по сравнению с группой базовой терапии, значимых различий не имели, за исключением того, что в конце третьей недели ещё не достигали значений контрольной группы, но к концу периода наблюдения не отличались от неё.

Исследования основных ферментов редокс-циклирования глутатиона показали, что уже в ранние сроки активности Гл-6ф-ДГ и ГР на 32 и 21% были, соответственно, снижены по сравнению со здоровыми донорами, продолжая оставаться значимо низкими и на второй неделе наблюдения (см. табл.). В течение последующего периода в эритроцитах больных отмечалась отчетливая динамика к восстановлению активности ферментов до значений контрольной группы. К концу 3-й недели активность обоих энзимов у больных 1-й группы не отличалась от группы контроля. При введении в схему лечения гепатопротекторов отмечено, что в обеих группах, начиная со 2 недели, глутатионредуктазная активность не отличалась от таковой у здоровых лиц (см. табл.). Что касается Гл-6ф-ДГ, то восстановление её активности происходило лишь к 3-й неделе, однако в группе ремаксола к концу периода наблюдения значения данного показателя превышали контрольные величины на 16%, что может свидетельствовать о выраженном положительном влиянии этого препарата на скорость генерации восстановленных форм НАДФ и, следовательно, более быстрому приведению тиолов в восстановленное состояние, чем у больных, получавших базовую терапию.

Динамика показателей индекса PASI и тиол-дисульфидного обмена в эритроцитах больных с распространёнными формами псориаза в ходе терапии

Группа	Сроки исследования / индекс PASI	Показатель						
		МДА, нмоль/г Hb	СГ, мкмоль/г Hb	ВГ, мкмоль/г Hb	ГР, мкмоль/мин×г Hb	Гл-6ф-ДГ, мкмоль/мин×г Hb	ГП, мкмоль/мин×г Hb	GST, мкмоль/мин×г Hb
Контрольная		4,857±0,327	5,782±0,557	6,327±0,427	211,21±19,21	5,938±0,361	5,297±0,411	212,13±9,31
1	1 неделя / 24,2±3,2	9,372±0,568*	2,354±0,287*	4,125±0,213*	166,28±13,61*	4,031±0,334*	7,533±0,238*	162,31±7,33*
	2 неделя / 22,8±2,7	9,759±0,924*	2,587±0,331*	4,378±0,314*	169,22±12,93*	4,222±0,416*	7,627±0,244*	171,29±12,24*
	3 неделя / 15,2±3,2*	8,742±1,306*	3,366±0,637*	5,682±0,225	194,57±23,07	5,396±0,521	6,633±0,251*	184,13±11,59*
	4 неделя / 10,3±5,2*	6,361±0,853*	3,567±0,624*	5,763±0,251	203,18±23,31	6,308±0,246	7,138±0,246*	188,22±12,18*
2	1 неделя / 23,6±2,2	9,684±0,321*	2,425±0,156*	4,267±0,181*	154,22±11,28*	4,004±0,303*	7,467±0,318*	164,88±11,33*
	2 неделя / 20,3±3,1	8,458±0,262*	3,378±0,243**	4,988±0,186**	189,12±12,34	4,698±0,453*	6,259±0,256**	179,88±9,24*
	3 неделя / 11,6±3,5*	7,159±0,315*	4,566±0,365**	5,566±0,258	192,25±15,72	5,681±0,289	6,091±0,224	197,31±8,13
	4 неделя / 8,7±4,2*	5,573±0,467	4,897±0,312**	6,197±0,314	224,38±14,93	6,877±0,421*	5,871±0,188**	206,28±7,74
3	1 неделя / 23,6±2,2	9,423±0,267*	2,367±0,137*	4,362±0,137*	161,72±13,21*	3,978±0,229*	7,594±0,371*	159,72±13,35*
	2 неделя / 20,3±3,1	8,471±0,385*	2,967±0,243*	4,367±0,239*	196,54±14,79	4,721±0,435*	7,164±0,266*	163,62±11,28*
	3 неделя / 11,6±3,5*	7,264±0,294*	3,769±0,265*	5,163±0,317*	189,47±12,11	5,488±0,384	6,548±0,198*	186,13±12,22*
	4 неделя / 8,7±4,2*	6,129±0,377*	4,547±0,365*	5,639±0,344	212,64±12,67	6,568±0,477	6,011±0,206**	189,54±11,61*

Примечание: * – различия с показателями группы здоровых доноров; ** – с показателями групп, получавших базовую терапию, + ремаксол и гептрал в один и тот же период наблюдения, $p < 0,05$.

С самого начала наблюдения была отмечена статистически значимо высокая активность ГП у больных – на 42% больше, чем у здоровых лиц. При этом цифры оставались устойчиво высокими в течение месяца, несмотря на значительный регресс заболевания, выражавшийся в разрешении элементов кожной сыпи, стабилизации показателей метаболизма и улучшении самочувствия больных. Отмечено, что у пациентов с индексом PASI 10,3±5,2 в конце периода наблюдения активность этого фермента на 34% превышала таковую у здоровых людей, что свидетельствует о достаточной активности свободнорадикальных процессов и выраженной адаптивной напряжённости системы антиоксидантной защиты.

При применении ремаксола уже на 2-й неделе наблюдения активность фермента была достоверно ниже, чем у больных, получавших базовую терапию в этот же период, а в конце периода наблюдения активность ГП не отличалась от показателей контроля и при

этом была на 17,7% ниже, чем у больных 1-й группы в это же время.

В группе больных, где в схему лечения был введён гептрал, активность ГП снизилась только к 4-й неделе и составила 6,011±0,206 мкмоль/мин×г Hb, что ниже на 15,7%, чем в 1-й группе в этот же период, но достоверно выше уровня активности фермента у здоровых лиц. При этом следует подчеркнуть, что статистическая разница между группами ремаксола и гептрала была отмечена только на второй неделе наблюдения – в период значительного снижения активности фермента у больных, получавших ремаксол. Учитывая, что основная функция ГП заключается в обезвреживании различных типов гидроперекисей в цитоплазме, митохондриях и ядре клеток, полученные результаты активности этого фермента подтверждают высокую степень выраженности оксидативного стресса у больных распространёнными формами псориаза. В 1-й группе активность ГП компенсаторно высока в течение всего

периода наблюдения, а при применении антиоксидантов она уменьшается, приходя к нормальным значениям наряду со снижением концентрации МДА и ростом содержания ВГ в эритроцитах пациентов. Активность ГП эритроцитов прямо пропорционально связана с выраженностью воспаления (количеством нейтрофилов, концентрациями С-реактивного белка и интерлейкина-6) [2]. Доказано, что в эритроцитах дефицит ГП очень быстро приводит к гемолизу, то есть при недостаточности ГП любой вариант оксидативного стресса опасен. Вероятно, в этом заключается диагностическая значимость этого фермента [6].

Анализ значений глутатион-S-трансферазы показал, что активность GST в целом угнетена. Данный факт может свидетельствовать о выраженной недостаточности конъюгирующей активности глутатиона. Так, активность GST в 1-й группе в первую неделю наблюдения снижена на 23,4% по сравнению со здоровыми людьми. Несмотря на последующий рост даже к концу 4-й недели активность фермента ($188,22 \pm 12,18$ мкмоль/(мин·г гемоглобина)) всё ещё значимо отлична от показателей контрольной группы ($212,13 \pm 9,31$ мкмоль/(мин·г гемоглобина)). Такое поведение данного энзима свидетельствует о необходимости коррекции состояния обмена тиолов у больных с тяжёлым течением заболевания.

Известно, что активность GST увеличивается мужскими половыми гормонами, катехоламинами, цАМФ, а ингибируется продуктами реакции с ее участием и другими веществами. Этими веществами являются как эндогенные, так и экзогенные субстраты – гидроперекиси полиненасыщенных жирных кислот – линолевой и арахидоновой, различные кетоны, эфиры и многое другое. Вероятно, их повышенное образование, свидетельствующее о интоксикации, и приводит к угнетению активности GST [5, 6, 8].

Применение цитопротекторов показало нормализацию активности GST уже к концу 3-й недели наблюдения в группе, где использовался ремаксол ($197,31 \times 8,13$ мкмоль/мин г гемоглобина), при этом при использовании гептрала в течение всего периода наблюдения показатели активности не отличались от группы базовой терапии и к концу 4-й недели составили $189,54 \times 11,61$ мкмоль/мин г гемоглобина. При этом значимых различий уровня активности GST между группами в один и тот же период наблюдения отметить не удалось.

Заключение. Нарушения в обмене тиолов вероятно вызваны тем, что псориаз – источник продуктов эндогенной интоксикации, в том числе и липофильной природы. Различные токсиканты в избытке генерирующиеся в результате изменённого метаболизма кератиноцитов и активированных цитококлических лимфоцитов, поддерживают воспаление в области бляшек, а при распространённых формах заболевания – на больших участках кожного покрова. В генерации липофильных токсикантов эндогенной природы ведущая роль принадлежит активированным процессам СРО.

Основным местом детоксикации данных соединений является печень, а в ней – система цитохрома P450, активно работающая в гепатоцитах. Образующиеся в ходе детоксикации гидрофильные метаболиты могут быть ещё более токсичными, чем их липофильные предшественники. И если при относительно низком уровне токсического воздействия, то есть при ограниченных формах заболевания, метаболиты вступают в реакции конъюгации и обезвреживаются, то увеличение его интенсивности может приводить к истощению возможностей системы конъюгации, накоплению метаболитов в тканях и взаимодействию их с молекулами белка дезокси- и рибонуклеиновых кислот [1, 3, 10, 12]. Тиолы и восстановленный глутатион в частности обеспечивают успешную конъюгацию. Недостаточность данного механизма в печени неизбежно приведёт к ухудшению метаболизма в коже и, как следствие, – увеличению индекса PASI, удлинению сроков лечения, развитию осложнений. Это во многом объясняет положительный эффект использованных гепатоцитопротекторов, в первую очередь, ремаксола в обмене тиолов и в лечении больных с распространёнными формами псориаза, особенно в резистентных к базовой терапии форм. Концентрации ВГ, СГ, активность ГП являются информативными критериями оценки тяжести состояния и эффективности проводимой терапии распространённых форм псориаза.

Литература

1. Алеид, Р. Антиоксидантный статус больных псориазом после курса внутривенного лазерного облучения крови / Р. Алеид [и др.] // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2010. – № 4. – С. 59–61.
2. Архипенкова, А.А. Роль белков острой фазы воспаления при псориазе / А.А. Архипенкова [и др.] // Росс. журн. кожных и венер. болезней. – 2003. – № 3. – С. 23–24.
3. Гострова, С.В. Активность антиоксидантной системы крови больных псориазом / С.В. Гострова, Л.Ф. Кульдагова, З.Ф. Хараева // Успехи современного естествознания. – 2003. – № 12. – С. 42.
4. Дашук, А.М. Влияние антиоксидантов на окислительно-восстановительные процессы и свободные радикалы в коже больных псориазом / А.М. Дашук, Н.Н. Питенько // Врачебное дело. – 1987. – № 6. – С. 99–100.
5. Колесниченко, Л.С. Глутатионтрансферазы / Л.С. Колесниченко, В.И. Кулинский // Успехи современной биологии. – 1989. – Т. 107. – № 2. – С. 179–194.
6. Колесниченко, Л.С. Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатионпероксидазы / Л.С. Колесниченко, В.И. Кулинский // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113. – № 1. – С. 107–121.
7. Кулинский, В.И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита / В.И. Кулинский // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 1. – С. 2–7.
8. Кулинский, В.И. Система глутатиона. II. Другие ферменты, тиол-дисульфидный обмен, воспаление и иммунитет, функции / В.И. Кулинский Л.С., Колесниченко // Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55. – Вып. 4. – С. 365–379.
9. Мальцев, Г.Ю. Методы определения содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / Г.Ю. Мальцев, Н.В. Тышко // Гигиена и санитария. – 2002. – № 2. – С. 69–72.

10. Методы клинической биохимии: Медицинские лабораторные технологии и диагностика; под ред. А.И. Карпищенко, СПб: Интермедика, 2002. – С. 11–150.
11. Нагоев, Б.С. Свободно-радикальный статус крови и патологически измененного эпидермиса больных псориазом / Б.С. Нагоев, С.В. Гострова, З.Ф. Захараева // Вестн. новых мед. технолог. – 2008 – Т. XV, № 2 – С. 195–196.
12. Новиков, В.Е. Фармакология гепатопротекторов / В.Е. Новиков, Е.И. Климкина // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2005. – Т. 4. – № 1. – С. 2–20.
13. Соколовский, В.В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифических реакций организма на экстремальные воздействия / Соколовский В.В. // Вопр. мед. химии. – 1988. – Т.34. – № 6. – С. 2–4.
14. Фоменко, С. Е. Коррекция нарушений липидного обмена и антиоксидантной активности у больных псориазом / С. Е. Фоменко, Н.Ф. Кушнерова, В.Г. Спрыгин // Тихоокеанский мед. журн. – 2006. – № 4. – С. 74–77.
15. Шилов, В.Н. Новые подходы к изучению патогенеза и лечению псориаза / В.Н Шилов, В.И. Сергиенко // Вестн. дерматологии и венерологии. – 1998. – № 3 – С. 49–52.
16. Шилов, В.Н. Окислительный стресс кератиноцитов – этиопатогенетический фактор псориаза / В.Н. Шилов, В.И. Сергиенко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – Т. 129. – № 4. – С. 364–369.
17. Dipali, P. Kadam. Role of oxidative stress in various stages of psoriasis / P. K. Dipali [et al.] / Indian journal of clinical biochemistry. – 2010. – Vol. 25. – № 4. – P. 388–392.
18. Filomeni, G. Activation of c-jun-N-terminal kinase is required for apoptosis triggered by glutathione disulfide in neuroblastoma cells / G. Filomeni [et al.] // Free rad. biol. med. – 2005. – № 39. – P. 345–354.
19. Kokcam, I. Antioxidants and lipid peroxidation status in the blood of patients with psoriasis / I. Kokcam, M. Naziroglu // Clin. chim. acta. – 1999. – Vol. 289. – № 1–2. – P. 23–31.
20. Yildirim, M. The role of oxidants and antioxidants in psoriasis / M. Yildirim [et al.] // JEADV. – 2003. – Vol. 17. – № 1. – P. 34–36.
21. Zhou, Q. Oxidative stress in the pathogenesis of psoriasis / Q. Zhou, U. Mrowietz, M. Rustami-Yazdi // Free radical. Boil. med. – 2009. – Vol. 47. – № 7 – P. 891–905.

R.A. Grashin, A.V. Polyakova, I.N. Telichko

Hepatoprotective medicines for treatment patients with psoriasis and their influence on thiol-disulfidic metabolism

Abstract. We have researched the influence of remaxolum and heptralum on the course of spreaded forms of psoriasis and thiolic metabolism. The severity of disease was estimated by Psoriasis area and severity index. The researchment of thiosulfidic metabolism in patient's erythrocytes was made in the beginning of observation and then every week during the hole month. The results were: the decreased level of sulfhydrylic groups of proteins and reduced glutation concentration, depressing of glutation reductase, glutation-s-transferase and glucous-6-phosfate degidrogenase enzymes activity, especially in the beginning of research. Among the patients, given hepatoprotective medicines, there was noticed more intensive reducing of psoriatic rush. Remaxolum in comparison with geptralum have more noticeable affect on thiol-disulfidic metabolism. The concentrations of reduced glutation, sulfhydrylic groups of proteins, the activity glutationperoxydase are the markers to estimate the severity of disease and the effectiveness of treatment of spreaded forms of psoriasis.

Key words: thiol metabolism, psoriasis, free radicals oxidation, glutation, malonic dialdigid, glutationperixydase, glutation-s-transferase, remaxolum, geptralum.

Контактный телефон: +7-9219277236; e-mail: grashin62@mail.ru