

Биохимические особенности инсомнии больных алкоголизмом*

ФАТТАХОВА А.Н.
ФАТТАХОВ Ф.З.

к.б.н., доцент кафедры биохимии, Казанский государственный университет
главный врач Республиканского наркологического диспансера, Казань

Анализ суточной динамики микробемидзависимой моноаминоксидазы А (МАО А) в слюне пациентов мужчин (n=106) в возрасте 34,5±11,5 лет с диагнозом F10.242 "синдром зависимости, вызванный употреблением алкоголя", страдающих инсомнией, показал, что активность МАО мелатонина возрастала в вечерние часы и достигала максимума к 24 часам. В контрольной группе скорость окисления мелатонина оставалась постоянной. Анализ окисления серотонина и норадреналина у испытуемых обеих групп показал, что у пациентов алкоголиков, страдающих тяжелым нарушением сна, активность МАО серотонина и МАО норадреналина превышает нормальный уровень соответственно в 4 и 5 раз. Предполагается, что причиной алкогольной инсомнии является истощение пула мелатонина, норадреналина и серотонина вследствие патологического повышения активности МАО А в вечерние часы.

Введение

Инсомния является мультифакторным заболеванием, обусловленным в некоторых случаях нарушением метаболизма мелатонина в организме. Мелатонин, гормон сна, выполняет в организме разнообразные функции, оказывает омолаживающий и антиоксидантный эффект [10, 14, 16]. Известно, что мелатонин является также нейропротекторным эндогенным фактором [9]. По-видимому, мелатонин является важным гомеостатическим гормоном, и секреция его в организме зависит от физиологического состояния человека. Показано, что концентрация мелатонина в слюне и плазме коррелировала с содержанием тиреоидных гормонов, а также ФСГ и ЛГ у женщин предменопаузного и менопаузного возраста [3]. Известно, что секреция мелатонина снижена при наследственной мигрени [4] вследствие приема амфетаминов [5], морфина [15] и при инсомнии, особенно у пожилых людей [6, 13], у которых постоянный прием экзогенного мелатонина приводит к снижению артериального давления [17].

Известно, что секреция мелатонина у человека повышена в зимние месяцы и снижена при ярком освещении [8]. При нормальном циркадном ритме секреция мелатонина возрастает в вечерние часы и достигает пика к 1 часу ночи [11, 19]. Показано, что при алкогольной интоксикации секреция мелатонина снижена. Так, концентрация 6-сульфатоксимелатонина в моче здоровых женщин после приема алкоголя снижалась в значительной степени по сравнению с контролем [18], что является, по мнению авторов, косвенным свидетельством снижения секреции мелатонина в организме. 6-сульфатоксимелатонин является продуктом гидроксилирования в реакциях с участием Р450 и конъюгации оксипроизводного мелатонина с сульфатом в реакции, катализируемой сульфотрансферазой [2].

Однако, по мнению ряда авторов, основная часть мелатонина и серотонина подвергается окислительному дезаминированию под воздействием МАО А [12, 16]. Можно предположить, что повышение активности МАО А приводит к истощению пула мелатонина, что влияет на циркадный ритм и приводит к тяжелой инсомнии.

Целью нашего исследования было изучение суточной динамики окисления мелатонина под воздействием МАО А в слюне пациентов, страдающих алкоголизмом и инсомнией.

Материал и методы исследования

В эксперименте принимали участие 106 пациентов мужчин с диагнозом F10.242 (синдром зависимости, вызванный употреблением алкоголя) в стадии ремиссии, страдающих тяжелой формой инсомнии, и 28 пациентов мужчин с диагнозом F10.242, не страдающих инсомнией. Все пациенты находились в условиях стационара, принадлежали к категории "семейных алкоголиков", когда один или оба родителя или мужские родственники по женской линии страдали алкоголизмом. Возраст пациентов опытной группы составил 23—46 лет (34,5±11,5). Алкогольный стаж находился в пределах от 8 до 22 лет. У всех пациентов с инсомнией (n=106) наблюдали нарушение циркадного ритма, затруднение засыпания и отсутствие нормального физиологического сна.

В контрольную группу включили 58 условно здоровых некурящих и не употреблявших алкоголь мужчин в возрасте от 22 до 35 лет (28,5±6,5), ведущих спортивный образ жизни и не имеющих близких родственников алкоголиков. Эксперимент проводили в зимние месяцы, когда секреция мелатонина у человека повышена [8]. У каждого испытуемого забирали 4 мл слюны с 6 ч утра до 23 ч ночи (у пациентов опытной группы) и с 6 ч утра до 2 ч ночи (у испытуемых контрольной группы) через каждые 2 ч по методике, описанной ранее [19]. Суточный эксперимент повторяли 4—5 раз.

Аликвоты слюны центрифугировали 10 мин при 1200 g для удаления клеток и твердых частиц. Супернатант использовали в качестве ферментного препарата. Активность МАО А измеряли спектрофотометрическим методом при 37 °C в реакционных смесях объемом 0,25 мл, содержащих 50 мМ фосфатного буфера (pH 7,0), 4,55 мМ 2,4-динитрофенилгидразина (Sigma), 100 мкг белка слюны и 1,5 мМ N-ацетил-5-гидрокситриптамина HCl (ICN Pharmaceuticals) или 2 мМ 5-гидрокси-триптамин креатин сульфата (Sigma) или 2 мМ норадреналина HCl (ICN Pharmaceuticals) [1]. В вариантах с позитивным контролем для доказательства участия МАО А в окислении мелатонина реакционные смеси содержали селективный ингибитор МАО А миклобенмид (4-хлор-N-(2-морфолиноэтил)-бензамид, ICN Pharmaceuticals) до конечной концентрации 10⁻⁵ М. Концентрацию белка в аликвотах слюны определяли спектрофотометрическим методом [1].

Статистическую обработку результатов проводили при помощи стандартного пакета программы EXCEL.

*Работа поддержана грантом № 03-3.2-161/2003 Академии наук Республики Татарстан

Результаты и их обсуждение

Концентрация мелатонина в слюне здоровых мужчин возрастала к 19 ч и достигала максимума в 1 ч ночи [19]. Можно предположить, что метаболизм гормона под воздействием MAO A и частично под воздействием P450 печени должен обеспечивать накопление повышенного пула мелатонина в вечерние часы. У обследованных здоровых некурящих и не принимавших алкоголь мужчин 22—35 лет активность MAO A мелатонина оставалась постоянной на протяжении суток. По уровню активности все испытуемые были разделены на две фенотипические группы MAO A со средними активностями 0,025 и 0,06 ед/мг/мин (рис. 1). Существование двух фенотипических групп MAO A обусловлено генетическими факторами [12]. Постоянный характер динамики окисления мелатонина сохранялся в течение 4—5 суток.

Напротив, активность MAO мелатонина в слюне пациентов алкоголиков, страдающих инсомнией (n=106) в возрасте $34,5 \pm 11,5$, возрастала в вечерние часы и достигала максимума к 24 ч в обеих фенотипических группах (рис. 2). Скорость окисления мелатонина между показателями в 6 ч утра и в 24 ч ночи возрастала в 7,5 раза. По-видимому, патологическое увеличение активности MAO A приводит к истощению пула мелатонина не только в слюне, но и в плазме, поскольку содержание гормона в слюне коррелирует с концентрацией мелатонина в плазме [5]. Следует отметить, что испытуемые как опытной, так и контрольной групп не принимали ингибиторы MAO A, а также риталин или кетансерин, поэтому повышение активности вследствие лекарственной нагрузки можно исключить. В группу отрицательного контроля были включены пациенты с алкогольной зависимостью, не страдающие инсомнией (n=28). Интересно отметить, что суточная динамика MAO A мелатонина имела непостоянный характер и не повторялась в течение эксперимента у каждого испытуемого, но показатели скорости окисления мелатонина в 6 ч и 23 ч не отличались.

Известно, что алкогольная интоксикация приводит к нарушению обмена серотонина и норадреналина [12]. Анализ

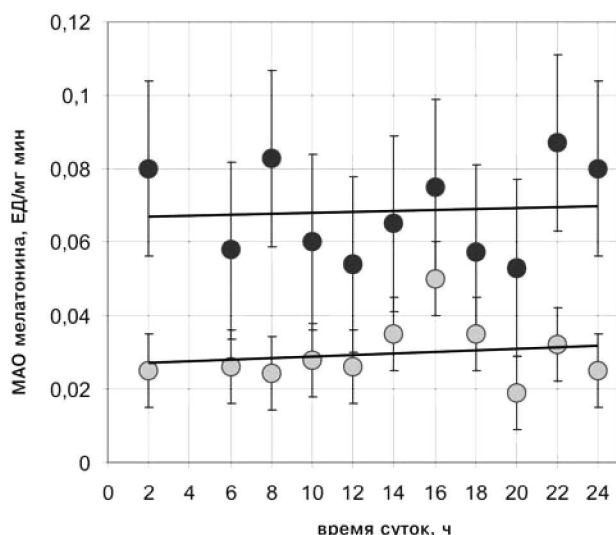


Рис. 1 Динамика окисления мелатонина в слюне условно здоровых, некурящих и не употреблявших алкоголь мужчин $28,5 \pm 6,5$ лет (n=58): светлые символы обозначают фенотип MAO A «нормальный низкий»; темные символы обозначают фенотип MAO A «нормальный высокий». ($P < 0,1$)

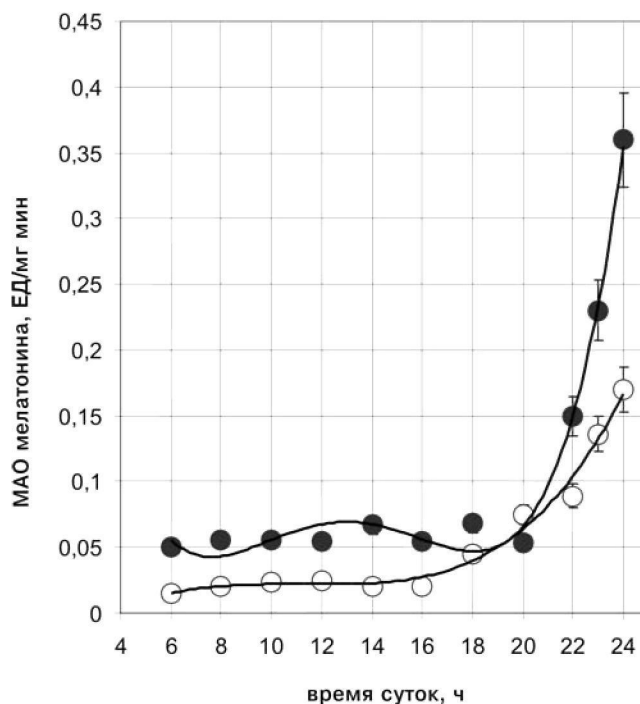


Рис. 2. Динамика окисления мелатонина в слюне пациентов мужчин (n=106) с диагнозом F10.242 (алкоголизм) в состоянии ремиссии в возрасте $34,5 \pm 11,5$, страдающих инсомнией: светлые символы обозначают показатели «патологической низкой» фенотипической группы MAO A; темные символы обозначают показатели «патологической высокой» группы MAO A ($P < 0,05$)

окисления серотонина и норадреналина у испытуемых обеих групп показал, что у зависимых от алкоголя пациентов, страдающих тяжелым нарушением сна, активность меклобемид зависимой MAO серотонина и MAO норадреналина превышает нормальный уровень соответственно в 4 и 5 раз (рис. 3).

Заключение

Можно заключить, что одной из вероятных причин алкогольной инсомнии является истощение пула мелатонина в вечерние часы вследствие повышения активности MAO A,

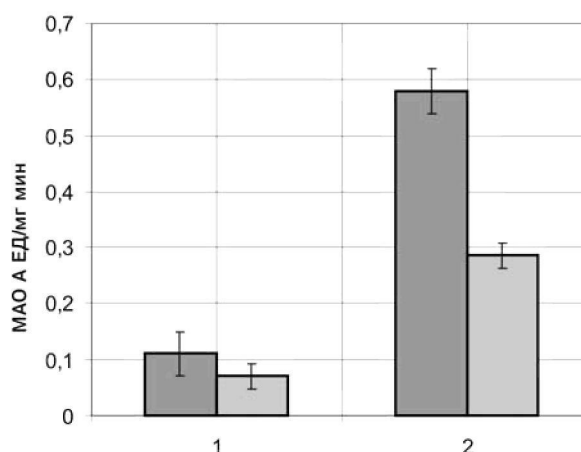


Рис. 3 Активность MAO A в слюне условно здоровых некурящих и не употреблявших алкоголь мужчин (n=58) в возрасте $28,5 \pm 6,5$ лет (1) ($P < 0,1$) и в слюне пациентов мужчин (n=106) с диагнозом F10.242 (алкоголизм) в состоянии ремиссии в возрасте $34,5 \pm 11,5$ лет, страдающих инсомнией (2) ($P < 0,05$). Темные столбики обозначают активность MAO норадреналина, светлые столбики — MAO серотонина

катализирующей окислительное дезаминирование гормона. Снижение уровня серотонина, предшественника N-ацетилсеротонина, и норадреналина, основного медиатора в области супрахизматического ядра [2] вследствие повышения активности МАО А, по нашему мнению, вносит свой вклад в нарушение метаболизма мелатонина у больных алкоголизмом. Вероятно, вследствие алкогольной интоксикации нарушается метаболизм стероидных гормонов, что приводит к снижению секреции эндогенного ингибитора МАО А в слюне и повышению активности главного фермента обмена катехоламинов и мелатонина. [7].

Список литературы

1. Фаттахова А.Н. Методы молекулярной фармакологии. — Казань, КГУ, 2002 — 31 с.
2. Клиническая эндокринология. — М.: Медицина, 1991. — С. 170—177.
3. Bellipanni G., Bianchi P., Pierpaoli W., Bulian D., Ilyia E. Effects of melatonin in perimenopausal and menopausal women: a randomized and placebo controlled study // *Experimental Gerontology*. — 2001. — Т. 36, №3. — P. 297—310.
4. Claustat B., Brun J., Chiquet C., Chazot G., Borson-Chazot F. Melatonin secretion is supersensitive to light in migraine // *Cephalalgia*. — 2004. — Vol. 24, №2. — P. 128—33.
5. Manzana J.P., Wei-Jung A. Chen, Champney T. Acute melatonin and para-chloroamphetamine interactions on pineal, brain and serum serotonin levels as well as stress hormone levels // *Brain Research*. — 2001. — Vol. 909, №2. — P. 127—137.
6. Girotti L., Lago M., Ianovsky O., Elizari M.V., Dini A., Lloret S.P., Albornoz L.E., Cardinali D.P. Low urinary 6-sulfatoxymelatonin levels in patients with severe congestive heart failure. // *Endocrine*. — 2003. — Vol. 22, №3. — P. 245—248.
7. Hucklebridge F.S., Evans P.D., Clow A. The relationship between circadian patterns of salivary cortisol and endogenous inhibitor of monoamine oxidase A // *Life Sci*. — 1998. — Vol. 62, №25. — P. 2321—2328.
8. Juoto J., Sikkilä K., Benno V., Rochow M., Hassi J. Low melatonin secretion associates with albedo in circumpolar environments // *J. Pineal Research*. — 2003. — Vol. 35, №1. — P. 158—162.
9. Kostrzewa R., Segura-Aguilar J. Novel mechanisms and approaches in the study of neurodegeneration and neuroprotection. A review // *Neurotox Research*. — 2003. — Vol. 5, №6. — P. 375—383.
10. Kunz D., Mahlberg R., Müller C., Tilmann A., Bes F. Melatonin in patients with reduced REM sleep duration: two randomized controlled trials // *J. Clin Endocrinol Metab*. — 2004. — Vol. 89, №1. — P. 128—134.
11. Leger D., Laudon M., Zisapel N. Nocturnal 6-sulfatoxymelatonin excretion in insomnia and its relation to the response to melatonin replacement therapy // *American J Medicine*. — 2004. — Vol. 116, №2. — P. 91—95.
12. Mega B., Sheppard K., Williams H., McMillen B. On the role of monoamine oxidase-A for the maintenance of the volitional consumption of ethanol in two different rat models // *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. — 2002. — Vol. 366, №4. — P. 319—326.
13. Nir I. Melatonin for the treatment of disorders in circadian rhythm and sleep: could it form a basis for medication? // *Receptors Channels*. — 2003. — Vol. 9, №6. — P. 379—385.
14. Nowak J., Zawilska J. Melatonin and its physiological and therapeutic properties // *Pharm World Science*. — 1998. — Vol. 20, №1. — P. 18—27.
15. Raghavendra V., Shrinivas K., Kulkarni. Reversal of morphine tolerance and dependence by melatonin: possible role of central and peripheral benzodiazepine receptors // *Brain Research*. — 1999. — Vol. 834, №2. — P. 178—181.
16. Reiter R., Tan D., Mayo J., Sainz R., Leon J., Czarnecki Z. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans // *Acta Biochim Polonica*. — 2003. — Vol. 50, №4. — P. 1129—1146.
17. Scheer F., Van Montfrans G., van Someren E., Mairuhu G., Buijs R. Daily nighttime melatonin reduces blood pressure in male patients with essential hypertension // *Hypertension*. — 2004. — Vol. 43, №2. — P. 192—197.
18. Stevens R., Davis S., Mirick D., Kheifets L., Kaune W. Alcohol consumption and urinary concentration of 6-sulfatoxymelatonin in healthy women // *Epidemiology*. — 2000. — Vol. 11, №6. — P. 660—665.
19. Voultsion A., Kennaway D., Dawson D. Salivary melatonin as a circadian phase marker: validation and comparison to plasma melatonin // *J. Biol. Rhythms*. — 1997. — Vol. 12, №5. — P. 457—466.

INSOMNIA BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS IN ALCOHOL ABUSE PATIENTS

FATTAKHOVA A.N. cand.biol.sci, Associate Professor in Department of Biochemistry, the Kazan State University
 FATTAKHOV F.Z. Head of The Republic narcological hospital, Kazan

The melatonin MAO A activity was shown to increase in saliva of only alcohol abuse syndrome male patients (n=106, 34,5±11,5 ages) with insomnia at midnight time. Moclobemide sensitive noradrenaline and serotonin oxidation rates were as 4 and 5 times higher respectively then in control group. The abnormal MAO A activity can be the reason of melatonin concentrations decrease at night time.