

Концентрация металлогликопротеида церулоплазмينا при болезнях зависимости различной этиологии

СКВОРЦОВ Ю.И.

ПАНЧЕНКО Л.Ф.

ОЛЕНКО Е.С.

зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней ГОУ ВПО «Саратовский медуниверситет», Саратов

д.м.н., профессор, академик РАМН, зав. лабораторией биохимии ННЦ наркологии, Москва

ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней ГОУ ВПО «Саратовский медуниверситет», Саратов

Изучалась концентрация медьсодержащего гликопротеида церулоплазмينا (ЦП) в сыворотке крови 185 мужчин, страдающих алкоголизмом, в возрасте 35,7 года, 47 мужчин, злоупотребляющих опиатами (средний возраст 29,15 года). Все обследованные находились в стадии ремиссии. Длительность алкоголизма составила $9,4 \pm 1,7$ года, опиатной зависимости $3,2 \pm 0,5$ года. Контролем служили показатели 50 здоровых мужчин (призывники, доноры крови). Полученные результаты показывают, что в целом по группе больных алкоголизмом концентрация ЦП была достоверно угнетена, тогда как у опиных наркоманов средний показатель концентрации не отличался от уровня контрольных данных. Проанализирована динамика концентрации ЦП в ее связи с длительностью ремиссии. У опиных наркоманов уровень энзима растет и существенно превышает показатели здоровых лиц при ремиссии от 6 и более 12 мес. При алкогольной зависимости менее 12 лет и при ремиссии концентрация фермента повышается, хотя и не достигает уровня контроля, а после 12 лет злоупотребления показывает тенденцию к дальнейшему угнетению. Разнонаправленность результатов авторы объясняют различием патогенеза каждой из болезней зависимости.

Экспериментальные работы отечественных и зарубежных исследователей, проводившиеся в 70–80-х годах, показали пути влияния опиатов на ключевые пункты метаболизма. Установлено, что опиаты ингибируют окислительное фосфорилирование в митохондриях в результате торможения активности переносчика адениннуклеотидов, а также индукции калиевой проницаемости мембран митохондрий, что приводит к снижению энергетического потенциала клетки. Существенным моментом являются гидрофобность молекулы наркотика, наличие фенантренового ядра, а также существование положительного заряда при физиологических pH [3, 26].

При введении наркотического вещества нарушается трансмембранная диффузия электролитов, в частности ионов натрия, калия, кальция [10, 33]. Нарушаются процессы межнейронной передачи болевых стимулов на различных уровнях центральной нервной системы, при этом страдают все ее отделы, но в первую очередь кора головного мозга, гипоталамус, лимбическая система [15]. Механизм подобных изменений частично связывают с нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера вследствие активации свободно-радикального перекисного окисления липидов (ПОЛ), что вызывает нарушение проницаемости клеточных мембран, повреждение самих клеток и их органелл [11, 12, 13, 14]. Было показано, что морфин обладает способностью инициировать процессы ПОЛ у человека, угнетать систему антиоксидантной защиты, изменять фосфолипидный состав мембран клеток мозга и вызывать деструкцию мембран гепатоцитов [8, 12, 13]. Это позволило авторам данных исследований отнести опиаты к категории соединений, способных запускать универсальный патологический процесс, лежащий в основе развития целого круга заболеваний.

При исследовании интенсивности ПОЛ и состояния антиоксидантной защиты на крысах при интоксикации морфинсодержащими препаратами обнаружены 3 механизма активации ПОЛ [21].

Первый из них состоит в непосредственном прооксидантном действии молекул морфина и героина.

В основе второго механизма лежит угнетение системы антиоксидантной защиты. На изолированных гепатоци-

тах показано, что морфинон, образующийся в процессе метаболизма морфина, вызывает истощение запасов восстановленного глутатиона GSH, используемого в реакциях детоксикации [21].

Третий механизм активации ПОЛ при введении морфина или промедола определяется способностью наркотических анальгетиков стимулировать выброс катехоламинов в систему циркуляции. Показано, что введение адреналина intactным животным через 2 ч сопровождалось увеличением на 47% уровня в плазме диеновых конъюгатов, а инъекция гидрокортизона — повышением концентрации как вторичных (на 30%), так и третичных (на 90%) продуктов ПОЛ [21].

Все описанные нарушения наблюдались в экспериментальных условиях и при действии этилового алкоголя [13, 14, 24, 28, 31].

В последние годы большое значение придается обсуждению свойств сывороточного антиоксидантного фермента — церулоплазмينا (ЦП), который обладает способностью ингибировать активированные процессы ПОЛ, предотвращать окисление липидов клеточных мембран, выступает как «перехватчик» свободных кислородных радикалов, являясь одним из энзимов антиоксидантной системы крови в норме и в условиях патологии [6, 7, 18, 20, 27, 30]. Обладая оксидазной активностью, ЦП опосредованно участвует в удалении токсических свободных радикалов супероксиданиона, препятствует образованию чрезвычайно реакционноспособных гипогалоидов [7].

Высокая реакционная способность ЦП по отношению к активным формам кислорода, возможно, является причиной увеличения его оксидазной активности при различных патологических состояниях, что может рассматриваться как адаптационная реакция, направленная на увеличение общего пула антиоксидантов [18].

С целью усиления антиоксидантной защиты ЦП применяют в комплексном лечении ревматоидного артрита, хронического бронхита, алкогольного поражения миокарда, неврологической патологии [1, 5, 20].

Описаны изменения активности медьоксидазы при длительном воздействии на организм человека токсических ксенобиотиков, в частности сероуглерода, органических

цианидов [17, 19, 23]. Несмотря на разнонаправленность изменений активности ЦП, авторами эти сдвиги трактовались как следствие преморбидной стадии поражения печени у лиц, работающих с различными профессиональными вредностями. Описана роль меди и ЦП в развитии гепатолентикулярной дегенерации (болезнь Вильсона—Коновалова), основными проявлениями которой являются психовегетативные симптомы и которые характерны также для абстинентного синдрома при алкоголизме и опийной наркомании: эмоциональная напряженность, озноб, сменяющийся чувством жара, парестезии конечностей, слезотечение, “гусиная кожа” и др. [15].

В свете имеющихся данных логично предположить участие главного переносчика меди — церулоплазмينا в течении абстиненции при болезнях зависимости и его влияние на отдаленные психовегетативные проявления в постабстинентном периоде. Этот вопрос в клинической наркологии недостаточно изучен. Между тем, исследование изменений обмена меди представляется особенно важным, так как дает возможность наметить пути патогенетического лечения посредством коррекции выявленных сдвигов, в частности в виде заместительной терапии.

Материал и методы исследования

Обследованы 185 мужчин, страдающих алкоголизмом (средний возраст 35,7 лет, длительность заболевания от 3 до 15 лет), и группа из 47 мужчин, злоупотребляющих опиатами (средний возраст 23,15 года), длительность зависимости 3,2–0,5 года.

Все обследованные находились в состоянии ремиссии. Больные алкоголизмом страдали предзастойной стадией кардиомиопатии, проявляющейся в клинике функциональными нарушениями ритма сердца, а больные наркоманией не имели клинических проявлений внутренней патологии.

Церулоплазмин [Fe II: кислородоксидоредуктаза, КФ 1.16.3.1.] в сыворотке крови определяли по реакции окисления *p*-фенилендиамина Ravin в модификации Г.А. Бабенко, 1963 [2].

Ход реакции: в обычные химические пробирки вносят по 0,1 мл сыворотки крови без следов гемолиза. В одну из пробирок добавляют 2 мл 3%-ного раствора фтористого натрия (с целью инактивации ферментативной активности церулоплазмينا — контроль). Затем во все пробирки помещают по 1 мл 0,4М ацетатного буфера с pH 5,5 и по 1 мл 0,5%-ного водного раствора *p*-фенилендиамина. Пробирки встряхивают и ставят на 1 ч в водяную баню с температурой +37 °С. После инкубации во все пробирки, за исключением контрольной, доливают по 2 мл 3%-ного раствора фтористого натрия. Содержимое пробирок перемешивают и переносят в холодильник на 30 мин при температуре +4 °С. По истечении положенного времени пробы колориметрируют на ФЭКе с зеленым светофильтром

(530 нм) в кюветах с шириной слоя 10 мм. Результаты сравнивают с данными контрольной пробы (бледно-розовое окрашивание). Умножая значения оптической плотности на коэффициент пересчета 875, получают величину концентрации сывороточного церулоплазмينا в мкмоль/л (в норме 1,88—2,38).

В качестве контроля использовали показатели концентрации энзима в сыворотке крови 50 здоровых мужчин (призывники, доноры крови).

Результаты исследования и их обсуждение

Данные, приведенные в таблице, свидетельствуют, что у больных алкоголизмом концентрация церулоплазмينا существенно угнетена, тогда как усредненный показатель концентрации фермента в группе наркоманов находится на уровне данных контрольной группы. Вместе с тем, если проанализировать показатели в зависимости от длительности ремиссии, то в группе опийных наркоманов концентрация энзима растет в прямой зависимости от длительности воздержания и начинает существенно превышать показатели здоровых лиц (при ремиссии от 6 до 12 мес. — $2,35 \pm 0,13$ мкмоль/л, $p < 0,05$; более 12 мес. — $2,43 \pm 0,10$, $p < 0,05$). Концентрация церулоплазмينا, исследованная в группе больных алкоголизмом, также динамично меняется, однако разнонаправленно, в сравнении с показателями, выявленными у наркоманов. Динамичность зависит как от длительности алкоголизации, так и от сроков ремиссии. Так, при длительности алкоголизации менее 12 лет и при ремиссии 6 мес. концентрация фермента повышается, хотя и не достигает контрольного уровня $1,62 \pm 0,8$ ($p < 0,05$), а при продолжительности болезни свыше 12 лет она демонстрирует тенденцию к дальнейшему угнетению ($1,44 \pm 0,76$, $p > 0,05$).

Разнонаправленные результаты, полученные в группах лиц, страдающих приведенными болезнями зависимости, можно объяснить как особенностями патогенеза каждой из них, так и полифункциональностью изученного металлогликопротеида. Известно, что поражения центральной и периферической нервной системы характерны для алкоголизма и опийной наркомании. Описано также, что деструкция миелиновых оболочек, содержащих медь, при полиневритах сопровождается увеличением сывороточного церулоплазмينا [1]. Основываясь на этом, можно допустить, что полинейропатия при опийной наркомании несет в патогенезе появление очагов воспалительного характера, что продолжается при ремиссии и может быть основой соматически направленного патогенетического лечения одного из проявлений опийной наркомании.

И с другой стороны, результаты, полученные у алкоголиков, могут говорить о превалировании угнетения системы антиоксидантной защиты в патогенезе алкоголизма, что проявилось в группе обследованных больных функциональными нарушениями деятельности сердца.

Таблица

Показатели концентрации церулоплазмينا у больных алкоголизмом и опийной наркоманией

Показатель	Контрольная группа n = 50	Больные алкоголизмом n = 185	p	Больные опийной наркоманией n = 47	p
Концентрация церулоплазмينا, мкмоль/л	$2,0 \pm 0,12$	$1,51 \pm 0,4$	$<0,05$	$2,26 \pm 0,15$	$> 0,05$

Список литературы

1. Абрамова И.Э. Нарушение обмена гликозаминогликанов при неврологической патологии и его коррекция церулоплазмином: Автореф. дисс. на соискание учен. степени к.м.н. — Уфа, 1999. — 23 с.
2. Бабенко Г.А. Определение активности церулоплазмина в 0,2 мл крови. Диагностика, клиника и лечение туберкулеза/ Сб. науч. работ. — Ивано-Франковск, 1963. — С. 43—45.
3. Майский А.Н., Ведерникова Н.Н., Чистяков В.В., Лакин В.В. Биологические аспекты наркомании. — М.: Медицина, 1982. — 704 с.
4. Голубкова В.Н. Влияние церулоплазмина на ишемию миокарда, центральную и внутрисердечную гемодинамику, перекисное окисление липидов при стенокардии различной тяжести: Автореф. дисс. на соискание учен. степени к.м.н. — Уфа, 1998. — 154 с.
5. Горячев В.И. Церулоплазмин в комплексном лечении больных ревматоидным артритом: Автореф. дисс. на соискание учен. степени к.м.н. — Саратов, 1999. — 167 с.
6. Зборовская И.А. Клинико-патогенетическое значение антиоксидантной системы крови при воспалительных ревматических заболеваниях: Автореф. дисс. на соискание учен. степени д.м.н. — Волгоград, 1995. — 40 с.
7. Зенков Н.К. Активированные кислородные метаболиты в биологических системах// Успехи современной биологии. — 1993. — Т. 113, № 3. — С. 286—296.
8. Панченко Л.Ф., Врублевский А.Г., Брюн Е.А., Немоловский А.В. Иммунохимическое изучение состояния гемато-энцефалического барьера в наркологической клинике// Вопросы наркологии. — 1994. — №3. — С. 41—44.
9. Корсаков С.С. Об алкогольном параличе: Дисс. на соискание учен. степени д.м.н. — М., 1904. — 367 с.
10. Крылов Б.В., Дербенев А.В., Подзорова С.А., Людино М.И., Кузьмин А.В., Изварина Н.А. Морфин уменьшает чувствительность к потенциалу медленных натриевых каналов// Рос. физиол. ж. — 1999. — Т. 85, №2. — С. 225—236.
11. Панченко Л.Ф. Опиатные системы мозга// Биологические основы алкоголизма. — М.: МЗ РСФСР. — 1984. — С. 31—39.
12. Панченко Л.Ф., Пирожков С.П., Соловьева А.Г. Перекисное окисление липидов и состояние системы антипероксидной защиты при хронической интоксикации крыс морфином// Пятая конф. биохимиков респ. Сред. Азии и Казахстана: Сб науч. тр. — Ташкент, 1991. — С. 79.
13. Панченко Л.Ф., Пирожков С.В., Немоловский А.В., Алябьева Т.Н., Усманова Н.Н. Перекисное окисление липидов состояние системы антипероксидной защиты плазмы крови у подростков, злоупотребляющих психоактивными веществами// Вопр. наркол. — 1998. — №1. — С. 50—53.
14. Пирожков С.В., Панченко Л.Ф. Молекулярные механизмы цитотоксичности наркотических лекарств// Вопр. мед. химии. — 1991. — Т. 37, №2. — С. 2—10.
15. Пятницкая И.Н. Наркомании: руководство для врачей. — М.: Медицина, 1994. — 544 с.
16. Серов В.В., Лебедев С.П. Клиническая морфология висцерального алкоголизма// Вестн. АМН СССР. — 1988. — №3. — С. 48—53.
17. Пирожкая Э.Н. Некоторые показатели функционального состояния печени у работающих с сероуглеродом (по данным аминокислотного и ферментативного обменов): Автореф. дисс. на соискание учен. степени к.м.н. — Киев, 1975. — 180 с.
18. Санина О.Л., Бердинских Н.К. Биологическая роль церулоплазмина и возможности его клинического применения (обзор)// Вопросы мед. химии. — 1986. — Т. 32, №5. — С. 7—14.
19. Скворцов Ю.И. Изменение аминокислотного спектра сыроворотки крови у работающих на производствах капрона и акрилонитрила и возможности их коррекции с помощью рационального питания: Автореф. дисс. на соискание учен. степени к.м.н. — Саратов, 1981. — 209 с.
20. Трубников Г.А., Журавлев Ю.И. Антиоксиданты в комплексной терапии больных хроническим бронхитом// Рос. мед. журн. — 1998. — № 2. — С. 38—40.
21. Усманова Н.Н. Соматические осложнения опийной наркомании в подростковом возрасте и роль свободно-радикальных процессов в их патогенезе: Автореф. дисс. на соискание учен. степени к.м.н. — М., 2000. — 20 с.
22. Характер Ж.С., Скорая Р.И., Платонова И.Л. Показатели церулоплазмина и перекисного окисления липидов у больных туберкулезом// Врач. дело. — 1989. — №10. — С. 55—57.
23. Цимбаревич Т.К. О влиянии сероуглерода и свинца на активность церулоплазмина// Научная сессия, посвященная итогам работы ленинградского НИИ гигиены труда и профессиональных заболеваний за 1968—1969 гг.: Сб науч. тр. — Л., 1970. — С. 183—184.
24. Sarma J.S., Ikeda S., Fisher R. et al. Biochemical and contractile properties of heart muscle after prolonged alcohol administration// J.Mol.Cell.Cardiol. 1976. — Vol. 8. — P. 951—972.
25. Ohno Y., Nagamatsu K., Kawanishi T., Ikebuchi H., Terao T., Tanaka A. Comparative evaluation of different pathways for the liver toxicity of morphine using freshly isolated hepatocytes// Biochem. Pharmacol. — 1988. — Vol. 37. — P. 2862—2863.
26. Johnson J., White J., Walovitch R., London E. Effects of morphine on rat kidney glomerular podocytes: a scanning electron microscopic study// Drug and Alcohol depend. — 1987. — Vol. 19, №3. — P. 249—257.
27. Friden E. Ceruloplasmin: a multifunctional metalloprotein of vertebrate plasma// Metal ions in Biological Systems. — 1981. — Vol. 13. — P. 117—121.
28. Friden E. Antioxidants in biological systems// Metallons in Biological systems. — 1987. — Vol. 13. — P. 117—142.
29. Friedman A.S. The consequences of drug use/abuse for vocational career: a longitudinal study of a male urban African-American sample// Am. J. Drug Alc. Abuse. — 1996. — Vol. 22, №1. — P. 57—73.
30. Glass G., Stark A. Promotion of glutathione-gammaglutamyl transpeptidase — dependent lipid peroxidation by copper and ceruloplasmin: the requirement for iron and the effects of antioxidants and antioxidant enzymes// Environ. Mol. Mutagen. — 1997. — Vol.29, №1. — P. 73—80.
31. Chida K., Tacasu T., Mori N. et al. Sympathetic dysfunction mediating cardiovascular regulation in alcoholic neuropathy// Funct. Neurol. — 1994. — Vol. 9. — P. 65—73.
32. Hecken E., Friedly W.G. Plexus lesionen, Phabdomyolyse und Heroin// Schweiz. med. Wschz. — 1988. — Vol. 118, №52. — P. 1980—1990.
33. Kiely P.D.W. Opiate abuse manifesting as hyperkalaemic cardiac arrest// J. Roy Soc. Med. — 1993. — Vol.86, №2. — P. 114—115.
34. Tori Aquilera J. Complicacions organiques associades a l'addicció a drogues per via parenteral// Drog dependencies: exper. d'interv. a catalunya. Diput. de Barcelona. — Barcelona, 1992. — P. 353—372.
35. Vreugdenhil G. Rabdomyolyse, diffuse Intravasale stolling en multi — orgaantalen bij een patiënt met cocaine en heroine intoxicatie// Nied. tijdschr. — 1992. — Vol. 136, №25. — P.1213—1215.

Concentration of the copper-contained glycoprotein ceruloplasmin (CP) in two groups of abusers was studied. First group consisted of 185 patients — alcoholics aged 35,7 yrs. The second one included 47 opiate abusers aged 23,15. All patients observed were men in remission 6—12 mnth. long. The longitude of alcoholism was $9,4 \pm 1,7$ yrs, of opiate dependence — $3,2 \pm 0,5$ yrs. Control group included 50 healthy men (GI, and blood donors). Data obtained showed in alcoholics in a whole the significant inhibition of CP concentration, whilst group of opiate abusers demonstrated normal results. The next study of this work was analysis of data in its connection with longitude of remission. In opiate abusers activity of CP upraised in a straight dependence of remission longitude and in abstinence 6 - 12 mnth overrated the control's level statistically verified. Alcoholics with dependence less than 12 years and in 6 mnts remission demonstrated increased concentration of the enzyme studied and with alcoholism during more than 12 yrs these results tended to further inhibition. Authors interpret these results as a serious difference of disease's pathogenesis.