

Окислительный стресс при алкоголизме: возможности метаболической коррекции на этапе формирования ремиссии

БОХАН Н.А.
ИВАНОВА С.А.

д.м.н., профессор, руководитель отделения аддитивных состояний, зам. директора по НИР НИИПЗ СО РАМН, Томск
д.м.н., профессор, руководитель лаборатории клеточных и молекулярно-биологических исследований
НИИПЗ СО РАМН, Томск
Учреждение Российской академии медицинских наук НИИ психического здоровья Сибирского отделения РАМН,
634014, Томск, ул. Алеутская, 4, тел.: (382-2) 72-43-79, факс: (382-2) 72-44-25, e-mail: redo@mail.tomsknet.ru

Комплексное клинико-биологическое исследование проведено у 25 больных алкоголизмом в состоянии алкогольного постабстинентного синдрома и 30 психически и соматически здоровых лиц. Исследовано влияние метаболического нейропротектора кортексина на показатели оксидативного стресса в динамике фармакотерапии. Показана высокая клиническая эффективность кортексина при купировании основных проявлений постабстинентного синдрома. Терапевтические эффекты развиваются на фоне нормализации биохимических процессов в организме.

Ключевые слова: алкоголизм, окислительный стресс, кортексин

Введение

В патологический процесс формирования алкогольной зависимости вовлечены различные механизмы, связанные с нарушением функционирования в основных гомеостатических системах организма [1, 14, 16, 18]. Многочисленными исследованиями показаны метаболические, гормональные, нейромедиаторные и иммунные нарушения под влиянием хронической алкогольной интоксикации [6, 9, 10]. Важное значение при алкогольной аддикции придается роли перекисного окисления липидов (ПОЛ) и формированию состояния, называемого *оксидативным стрессом* [4, 17]. В нормальной ткани постоянно протекает процесс липидной перекисидации, его интенсивность находится в обратной зависимости от активности естественных антиоксидантных систем. Избыточное образование активных форм кислорода может быть причиной повреждения и гибели клетки. Антиоксидантные системы необходимы для сохранения активности ПОЛ на стационарном уровне в условиях значительных изменений активности образования радикалов. Действие внешних прооксидантов, недостаток поступления облигатных антиоксидантов и активация эндогенной генерации активных форм кислорода приводят к напряжению механизмов антиоксидантной защиты и развитию окислительного стресса, который может проявляться на клеточном, тканевом и организменном уровне [3].

Несовершенство лекарственной терапии аддитивных расстройств делает необходимым изыскание и разработку новых, более эффективных фармакологических средств их профилактики и лечения. В последние годы показана перспективность использования

препаратов, обладающих разносторонними спектрами действия [2, 5, 8, 19].

Одним из возможных таких препаратов является нейропротектор кортексин (полипептидный препарат, выделенный из мозга телят), который обладает тканеспецифическим действием на кору головного мозга, оказывает церебропротекторное, ноотропное и противосудорожное действие, снижает токсические эффекты нейротропных веществ, улучшает процессы обучения и памяти, стимулирует репаративные процессы в головном мозге, ускоряет восстановление функций головного мозга после стрессорных воздействий [7]. Данные клинические эффекты кортексина связаны с его метаболическими эффектами: препарат регулирует соотношение тормозных и возбуждающих аминокислот, уровень серотонина и дофамина, оказывает ГАМКергическое действие, обладает антиоксидантной активностью и способностью восстанавливать биоэлектрическую активность головного мозга [13].

При оценке эффективности лекарственных препаратов, реабилитационных программ, применяемых в терапии аддикций, изучение параметров основных гомеостатических систем несет важную биологическую информацию и является целесообразным для более полной характеристики лекарственных средств. Изучение влияния исследуемых препаратов на основные биологические системы организма в процессе терапии необходимо для обоснования возможности их воздействия на патогенетические механизмы формирования и развития алкогольной зависимости.

Целью настоящего исследования было изучение влияния кортексина на некоторые показатели окислительного стресса в процессе комплексной терапии больных алкоголизмом.

Объект и методы исследования

Группу обследованных составили 25 больных алкоголизмом II стадии (12 пациентов — основная группа и 13 пациентов — группа сравнения) в возрасте 25—56 лет, обратившихся по поводу абстинентного расстройства в отделение аддиктивных состояний клиники НИИ психического здоровья СО РАМН. Включение больных в основную группу и в группу сравнения осуществлялось с помощью таблицы случайных чисел. Проводилась стандартизация основной и контрольной групп по полу, возрасту, стадии и длительности заболевания, тяжести актуального состояния и коморбидной патологии. Критерием включения больных в обе группы служило добровольное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения из исследования: возраст старше 56 лет; наличие эндогенных заболеваний, эпилепсии, декомпенсированных форм психопатий, заболеваний, передающихся половым путем, коморбидных неврологических и соматических заболеваний, затрудняющих объективную оценку клинического состояния, вызванного основным заболеванием, отказ больного от участия в исследовании.

У наблюдаемых пациентов полностью сформировались первичное патологическое влечение к алкоголю, утрата количественного контроля, максимальная толерантность к алкоголю (составлявшая на момент обследования от 0,5 до 1,0 л водки в сутки), развернутый абстинентный синдром. Отрицательные социальные последствия характеризовались нарушением семейных отношений, снижением профессиональных навыков. Длительность заболевания у обследуемых пациентов составила от 5 до 25 лет. Алкогольный абстинентный синдром протекал с соматовегетативными, неврологическими, психопатологическими симптомами.

На этапе постабстинентных расстройств основная исследуемая группа получала кортексин в составе комплексной программы терапии. Кортексин вводили внутримышечно однократно ежедневно по 10 мг в течение 10 дней, начиная с 4-го дня госпитализации. Группа сравнения получала традиционную медикаментозную терапию, включающую в себя дифференцированное назначение следующих основных групп препаратов: транквилизаторы, антидепрессанты, корректоры поведения, гипнотики, ноотропы, вегетостабилизаторы и витамины. Комплексная оценка клинических и биологических показателей больных алкоголизмом проводилась в динамике: до назначения лечения и через 10 дней после начала терапии.

Эффективность терапии оценивалась с учетом динамики картины постабстинентного состояния, клинические проявления которого выражались в виде астенического (психическая истощаемость, эмоциональная неустойчивость, раздражительность), психовегетативного (вегетососудистые нарушения, лабильность

аффекта, диссомнические расстройства), гипотимического (депрессивные реакции, снижение эмоционального фона, дисфорические эпизоды) симптомокомплексов, когнитивных нарушений (использовались следующие психологические методики: исследование памяти — запоминание 10 слов по методике А.Р. Лурия (1962 г.), исследование внимания — таблицы Шульте и определение степени выраженности болезненного состояния — НПА).

Контрольную группу для биологического обследования составили 30 психически и соматически здоровых лиц, соответствующих по полу и возрасту обследуемым группам больных. У больных алкоголизмом и в контрольной группе здоровых лиц кровь для биологических исследований брали из локтевой вены, утром, натощак.

Свободнорадикальное окисление оценивали по состоянию ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой (концентрации малонового диальдегида — МДА) и активности каталазы в сыворотке крови и эритроцитах спектрофотометрическим методом [11] на спектрофотометре UV-1201, «Shimadzu» (Япония). Интегральную оценку антиоксидантных свойств сыворотки крови определяли в тесте индуцированной хемилюминесценции. Хемилюминесценцию сыворотки крови оценивали на сцинтилляционном счетчике RackBeta 1211 фирмы LKB (Финляндия). Уровень эндогенной интоксикации — по спектру среднемолекулярных пептидов в сыворотке крови спектрофотометрическим методом [11] на спектрофотометре UV-1201, «Shimadzu» (Япония).

Статистический анализ и обработку данных проводили с использованием пакета STATISTICA, версия 6.0 для Windows. Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента для независимых выборок и с использованием непараметрического критерия Краскела—Уоллиса.

Результаты и обсуждение

Клиническая характеристика алкогольного постабстинентного синдрома в основной группе и в группе сравнения включала в себя соматовегетативные, аффективные, поведенческие, диссомнические расстройства, идеаторные проявления первичного патологического влечения к алкоголю.

Терапия кортексином в сочетании с традиционными методами лечения постабстинентного состояния способствует быстрой и полной редукции астенического, психовегетативного, гипотимического симптомокомплексов.

До применения препарата возможности оперативной памяти пациентов были снижены, воспроизведение было неполным. После предъявления испытуемым 10 слов до начала терапии усредненная кривая запоми-

нения носила следующий характер: 5,67; 6,67; 7,78; 8,44; 9,33 — т.е. воспроизведение 10 слов происходило лишь к 5-му повторению. После проведения лечения при повторном обследовании динамика воспроизведения 10 слов изменилась, воспроизведение 10 слов в среднем происходило к 4-му повторению: 5,9; 6,8; 8,2; 9,6; 9,8. В основной группе «кривая запоминания» в 88,2% случаев приобретала нарастающий характер, в группе сравнения у больных, принимающих традиционную терапию, график воспроизведения имел форму «плато» — медленное нарастание запоминания слов после их повторения свидетельствовало об эмоциональной вялости, астенизации.

Перед началом приема препарата испытуемые показали усредненный темп выполнения задания по отысканию чисел по таблицам Шульте: 44; 57,89; 43,78; 51,78; 54,11, что свидетельствует о замедлении подвижности нервных процессов. Повторное исследование показало более равномерный темп выполнения задания: 45,11; 42,69; 43,78; 51,33; 50,89.

Тест исследования нервно-психической адаптации выявил неравномерность показателей. Пять испытуемых, которые имели оптимальный уровень адаптации и непатологическую психическую дезадаптацию (результаты от 10 до 24) после курса лечения сохранили такую же степень оценки результатов. Лица, проявившие в начале исследования уровень адаптации выше, чем 25 баллов — шкала вероятно болезненного состояния (7 чел.), после проведения обследования дали меньшее количество ответов по этой шкале (в начале исследования в среднем имели 70 баллов, к концу исследования — 40).

Таким образом, психолого-диагностическое исследование эффективности препарата «кортексин» выявляет улучшение темпа психической деятельности пациентов после его применения и улучшение симптоматики заболевания у данной группы больных.

Клинически значимые побочные явления в период времени наблюдения за пациентами как в основной группе, так и в группе сравнения не наблюдались.

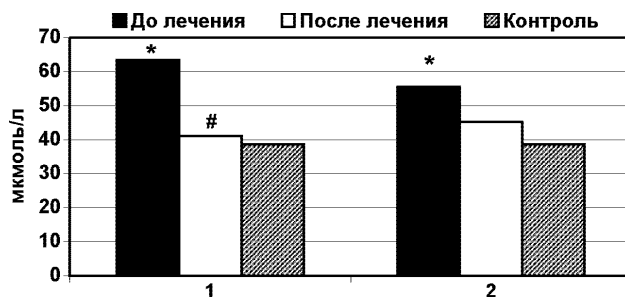


Рис. 1. Содержание МДА в эритроцитах у больных алкоголизмом и здоровых лиц: 1 — основная группа; 2 — группа сравнения; * — достоверные изменения на уровне $p < 0,05$ по сравнению с контролем; # — между группами пациентов до и после лечения

Биохимические показатели

В эритроцитах больных алкоголизмом в состоянии постабстинентного синдрома обнаружено увеличение концентрации ТБК-активных продуктов (МДА) по сравнению с контрольной группой. В процессе используемых схем терапии выявлено достоверное снижение МДА в эритроцитах пациентов: в группе с применением кортексина содержание МДА до терапии составило $63,44 \pm 3,23$ мкмоль/л, после терапии — $41,21 \pm 1,94$ мкмоль/л (в контроле — $38,71 \pm 1,17$ мкмоль/л), в группе сравнения отмечено снижение уровня МДА с $55,59 \pm 4,09$ мкмоль/л до $45,30 \pm 5,62$ мкмоль/л (рис. 1).

Концентрация МДА в сыворотке крови больных алкоголизмом была также выше по сравнению с контрольной группой. Динамика содержания МДА в сыворотке крови пациентов в процессе терапии представлена на рис. 2.

Каталазная активность сыворотки крови была повышена $101,66 \pm 11,23$ мкат/л в основной группе и $94,21 \pm 11,69$ мкат/л в группе сравнения, в норме $56,61 \pm 3,63$ мкат/л ($p < 0,01$). После лечения в группе больных, получающих кортексин, активность каталазы в сыворотке крови снизилась до $61,79 \pm 6,89$ мкат/л ($p < 0,05$), в группе сравнения — до $69,83 \pm 5,12$ мкат/л ($p > 0,05$), различий с показателями контрольной группы у обеих групп пациентов после лечения не выявлено.

Динамика концентрации МДА в сыворотке как показателя ПОЛ и каталазной активности в исследуемых группах имеет одинаковую направленность и не зависит от применяемых схем терапии. Данные показатели отражают снижение активности свободнорадикального окисления на момент выхода пациентов из состояния абстинентного синдрома и формирования ремиссии.

В качестве критерия оценки степени эндогенной интоксикации проводили определения спектра молекул средней массы (МСМ) — один из общепринятых маркеров эндогенной интоксикации, распространенного неспецифического синдрома, возникающего

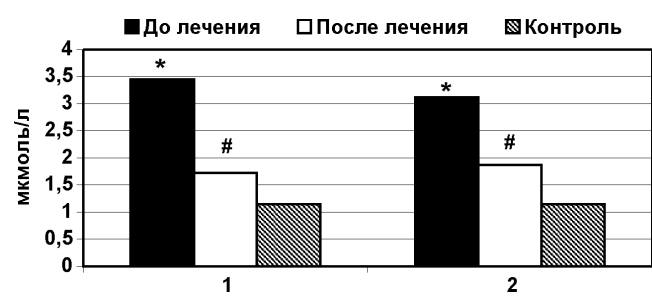


Рис. 2. Содержание МДА в сыворотке крови у больных алкоголизмом и здоровых лиц: 1 — основная группа; 2 — группа сравнения; * — достоверные изменения на уровне $p < 0,05$ по сравнению с контролем; # — между группами пациентов до и после лечения

при различных заболеваниях. Накопление МСМ в дальнейшем усугубляет течение патологического процесса в связи с тем, что они приобретают роль вторичных токсинов и оказывают влияние на жизнедеятельность всех систем и органов. Определение уровня МСМ позволяет достаточно точно оценить интегральное состояние метаболического гомеостаза [15].

Благодаря наличию в структуре пептидных связей и циклических аминокислот содержание МСМ может быть установлено по регистрации вызываемого им эффекта поглощения монохроматического ультрафиолетового светового потока. При этом возможно выделение нескольких фракций среднемoleкулярных пептидов, определяемых при различных длинах волн. При длине волны 254 нм определяется токсическая фракция, которая состоит из гидрофобных токсинов, обладающих высоким сродством к биологическим структурам. При длине волны 230 нм выявляется нуклеарная фракция, представленная эндогенными патогенами в виде белков-гистонов, продуктов разрушения ДНК, вышедших из цитозоля в межклеточную среду и кровь при нарушении целостности мембран клеток вследствие истощения пула АТФ. Ароматическая фракция, содержащая в большей части ароматические аминокислоты — нетоксические (медиаторы, гормоны), — определяется при длине волны 280 нм.

При исследовании спектра МСМ на фоне выраженного постабстинентного синдрома отмечено увеличение токсической фракции (выявляемой при длине волны E 254): экстинкция в основной группе составила $0,399 \pm 0,024$ усл.ед., в группе сравнения $0,382 \pm 0,021$ усл.ед. (в контрольной группе здоровых лиц — $0,311 \pm 0,008$ усл.ед., $p < 0,05$ в сравнении с обеими группами). После терапии зафиксирована тенденция к снижению уровня токсической фракции (до $0,348 \pm 0,015$ в основной группе и до $0,353 \pm 0,011$ в группе сравнения) в обеих исследуемых группах и увеличение ароматической фракции (выявляемой при длине волны E 280).

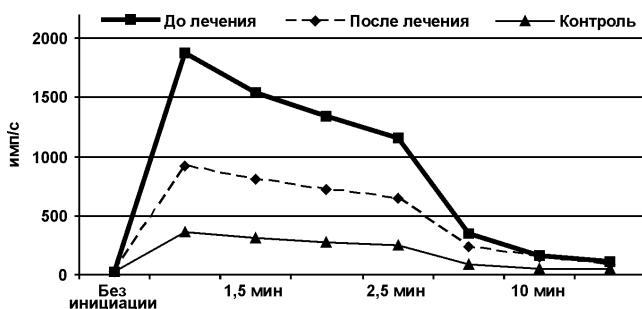


Рис. 3. Способность сыворотки крови снижать индуцированную хемилюминесценцию у больных алкоголизмом в динамике терапии кортексином

Интегральная оценка состояния антиоксидантных систем сыворотки крови оценивалась в тесте индуцированной низкоуровневой хемилюминесценции. Индукция образования активных форм кислорода проводилась добавлением перекиси водорода в сыворотку крови. Интенсивность хемилюминесценции обратно пропорциональна активности антиоксидантных систем. На рис. 3 и 4 показаны среднестатистические графики двух точек больных алкоголизмом и здоровых доноров. Интенсивность люминесценции сыворотки при индукции перекисью значительно выше, что свидетельствует о низких антиокислительных свойствах сыворотки крови у больных алкоголизмом до начала терапии в сравнении с нормальными значениями здоровых лиц ($p < 0,01$). После терапии кортексином антиоксидантные свойства сыворотки пациентов достоверно улучшились, в группе сравнения наблюдалась лишь тенденция улучшения антиоксидантных свойств сыворотки после проведенной терапии.

Заключение

Проведенные исследования показали наличие следующих биохимических изменений, связанных с окислительным стрессом при состоянии длительной алкоголизации с развитием абстинентного и постабстинентного синдромов: повышение содержания МДА в эритроцитах и в сыворотке; снижение антиоксидантных свойств сыворотки крови и повышение уровня эндотоксикоза (E 254). Усиление каталазной активности сыворотки крови, возможно, свидетельствует, с одной стороны, о гемолизе эритроцитов или деструкции клеток печени, с другой, — об активации окислительного стресса, так как излишняя наработка каталазы является компенсаторным эффектом при повышении концентрации активных форм кислорода.

В процессе терапии процессы ПОЛ снижаются как в эритроцитах, так и в сыворотке, до одного и того же уровня в основной группе и в группе сравнения. Уровень эндотоксикоза снижается, и в обеих группах больных достоверно повышается индекс ароматично-

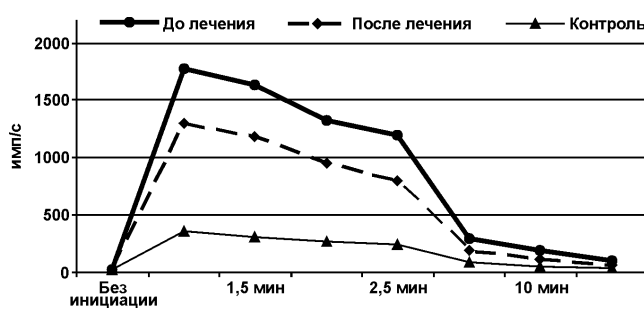


Рис. 4. Способность сыворотки крови снижать индуцированную низкоуровневую хемилюминесценцию у больных алкоголизмом в динамике традиционной медикаментозной терапии

сти (Е 280/Е 254). Снижение каталазной активности сыворотки крови является однонаправленным, несколько более выраженным в группе пациентов, получающих кортексин, что, вероятно, связано с действием препарата, направленным на снижение уровня ПОЛ внутри клеток и укрепление клеточных мембран. Антиоксидантные свойства сыворотки крови существенно улучшаются только в основной группе, в группе сравнения наблюдается лишь тенденция к улучшению.

В целом, проводимая терапия дает положительные результаты по исследуемым параметрам в обеих группах пациентов с более выраженной эффективностью по ряду показателей в группе пациентов, получающих в дополнение кортексин.

Учитывая высокую эффективность препарата в клинической практике и его биологическую активность в отношении стабилизации окислительных процессов и антиоксидантной защиты препарат может быть рекомендован для использования в терапии постабстинентных расстройств.

Список литературы

1. Анохина И.П., Иванец Н.Н., Дробышева В.Я. Основные достижения в области наркологии, токсикомании, алкоголизма // Вестник РАМН. — 1998. — Т. 7. — С. 29—37.
2. Бишева И.В., Гамалея Н.Б., Дмитриева И.Г. и др. Динамика показателей оксидантного стресса, системы антиоксидантной защиты, эндогенной интоксикации и биохимических маркеров поражения печени у больных алкоголизмом при лечении иммуномодулятором полиоксидонием // Наркология. — 2007. — №7.
3. Болдырев А.А. Окислительный стресс и мозг // Соровский образовательный журнал. — 2001. — Т. 7, №4. — С. 21—28.
4. Бохан В.А., Прокопьева В.Д. Молекулярные механизмы влияния этанола и его метаболитов на эритроциты *in vitro* и *in vivo*. — Томск: Изд-во Томск. ун-та, 2004. — 166 с.
5. Беленичев И.Ф., Павлов С.В., Соколик Е.П. и др. Новые возможности лечения алкогольной болезни. Перспективы применения цереброкурина // Международный неврологический журнал. — 2009. — №1(23). — С. 166—180.
6. Буко В.У., Лукивская О.Я., Хоха А.М. Метаболические последствия алкогольной интоксикации. — Минск: Белорусская наука, 2005. — 208 с.

7. Бурчинский С.Г. Регуляторные нейропептиды — новый этап развития проблемы нейропротекции // Судин. Захворования Гол. Мозку. — 2007. — №2. — С. 61—64.

8. Ветлугина Т.П., Бохан Н.А., Невидимова Т.И. и др. Иммуноterapia и экстраиммуноterapia в клинической наркологии: Пособие для врачей. — Томск, 2006. — 42 с.

9. Гамалея Н.Б., Даренский И.Д. Особенности клеточного и гуморального иммунитета у больных алкоголизмом в абстинентном состоянии и в ремиссии // Вопросы наркологии. — 1994. — №3. — С. 45—48.

10. Иванова С.А., Вялова Н.М., Жернова Е.В., Бохан Н.А. Спонтанный и индуцированный *in vitro* апоптоз лимфоцитов и нейтрофилов у лиц с алкогольной зависимостью // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2010. — №2. — С. 209—212.

11. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. — МН.: Беларусь, 2000. — 953 с.

12. Кортексин — пятилетний опыт отечественной неврологии / Под ред. А.А. Скоромца, М.М. Дьяконова. — СПб.: Наука, 2005.

13. Кондратьев А.Н., Кондратьева Е.А. Возможности кортексина в интенсивной терапии пациентов в вегетативном состоянии // Тера Medica. — Кортексин. — 2004. — №1. — С. 19—20.

14. Панченко Л.Ф., Пирожков С.В., Наумова Т.А. и др. Иммуноклеточный статус и выраженность эндотоксинемии у больных алкоголизмом с различной степенью алкогольного поражения печени // Наркология. — 2008. — №10. — С. 42—48.

15. Узбеков М.Г. Эндотоксикоз как интегральный компонент патогенеза психических расстройств // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. — 2008. — №. — С. 26—30.

16. Adinoff B., Iranmanesh A., Veldhuis J., Fisher L. Disturbances of the stress response: the role of the HPA axis during alcohol withdrawal and abstinence // Alcohol Health Res. World. — 1998. — №22(1). — P. 67—72.

17. Huang M.C., Chen C.H., Peng F.C., Tang S.H., Chen C.C. Alterations in oxidative stress status during early alcohol withdrawal in alcoholic patients // J. Formos. Med. Assoc. — 2009. — Jul. — Vol. 108(7). — P. 560—569.

18. Fernandez-Sola J., Preedy V.R., Lang C.H. et al. Molecular and cellular events in alcohol-induced muscle disease // Alcohol Clin. Exp. Res. — 2007. — Dec. — Vol. 31(12). — P. 1953—1962.

19. Prokopieva V.D., Bohan N.A., Johnson P. et al. Effects of carnosine and related compounds on the stability and morphology of erythrocytes from alcoholics // Alcohol & Alcoholism. — 2000. — Vol. 35, №1. — P. 44—48.

20. Ward R.J., Lallemand F., de Witte Ph. Biochemical and Neurotransmitter Changes Implicated in Alcohol-Induced Brain Damage in Chronic or 'Binge Drinking' Alcohol Abuse // Alcohol & Alcoholism. — 2009. — Vol. 44, №2. — P. 128—135.

OXIDATIVE STRESS IN ALCOHOLISM: OPPORTUNITIES OF METABOLIC CORRECTION ON THE STAGE OF REMISSION'S FORMATION

BOKHAN N.A. Dr. Med. Sci., Professor, Head of Addiction Department, Mental Health Research Institute, Russian Academy of Medical Sciences, Russia, 634014, Tomsk, Aleytskaj, 4, tel.: (382-2) 72-43-79, fax: (382-2) 72-44-25, e-mail: redo@mail.tomsknet.ru

IVANOVA S.A. Dr. Med. Sci., Professor, Head of Cellular and molecular biology Laboratory, Mental Health Research Institute, Russian Academy of Medical Sciences, Russia, 634014, Tomsk, Aleytskaj, 4, tel.: (382-2) 72-43-79, fax: (382-2) 72-44-25, e-mail: redo@mail.tomsknet.ru

Complex clinical-biological investigation has been conducted in 25 alcoholics under condition of the alcohol postwithdrawal syndrome and 30 mentally and physically healthy persons. Influence of the metabolic neuroprotector cortixin on indices of oxidative stress in dynamic of the pharmacotherapy has been investigated. The high clinical efficacy of cortixin has been shown during stopping of basic manifestations of the postwithdrawal syndrome. Therapeutic effects develop against a background of normalization of biochemical processes in the organism.

Key words: alcoholism, oxidative stress, cortixin