Влияние копаксона на механизмы окислительного стресса при рассеянном склерозе

Рейхерт Л.И.¹, Кичерова О.А.¹, Соколова А.А.², Молчанова Ж.И.²

The basis of membrane stabilized effect of kopaxon in multiple sclerosis

Reikhert L.I., Kicherova O.A., Sokolova A.A., Molchanova Zsh.I.

¹ Тюменская государственная медицинская академия, г. Тюмень

² Ханты-Мансийский государственный медицинский институт, г. Ханты-Мансийск

© Рейхерт Л.И., Кичерова О.А., Соколова А.А., Молчанова Ж.И.

Изучено влияние копаксона на структуру липидной фазы клеточных мембран эритроцитов, состояние процессов перекисного окисления липидов и систему антиоксидантной защиты у 58 больных ремиттирующей формой рассеянного склероза. На основании анализа динамики лабораторных показателей доказано мембранопротективное действие препарата.

Ключевые слова: ремиттирующий рассеянный склероз, копаксон, мембраностабилизирующее действие.

We have studied the influence of kopaxon on the structure of lipid phase of cellular membranes of red corpuscles, the condition of process of peroxide lipids oxidation and the system of antioxidative defence of 58 people with remittent form of multiple sclerosis. On the grounds of analysis of dynamics of laboratory index, membrane stabilized effect of this preparation was proved.

Key words: remittent form of multiple sclerosis, kopaxon, membrane stabilized effect.

УДК 616.832-004.2-08:615.37:577.152.1

Введение

Лечение рассеянного склероза (РС) по-прежнему остается сложной задачей, несмотря на почти 150-летнюю историю изучения этого тяжелого заболевания. Это связано и с недостатком знаний о патогенезе, и с нерешенной загадкой о вызывающих его причинах. В настоящее время ведутся активные работы по изучению патогенеза РС, уже известно, что не только и не столько иммунологические механизмы провоцируют массу своеобразных патологических изменений у лиц, страдающих этим заболеванием. Внедрение в лечебную практику на рубеже XX и XXI вв. препаратов для превентивного лечения РС, которые в настоящее время доказали свою эффективность, позволило расширить возможности помощи данной категории больных.

Модифицирующая терапия при рассеянном склерозе является наиболее обнадеживающим направлением в лечении этого заболевания [6].

В качестве средств, способных изменить течение патологии, первыми стали применяться интерфероны, которые наряду с доказанной эффективностью обладают всеми недостатками данной группы лекарственных веществ.

В связи с вышеизложенным перспективным является поиск новых лекарственных препаратов неинтерфероновой природы, обладающих клинической эффективностью, замедляющих прогрессирование РС, при этом не оказывающих глобального воздействия на иммунную систему больного. Практически единственным представителем такой группы является копаксон [3, 6, 14].

Копаксон был синтезирован в 1967 г. профессорами М. Селой, Р. Арноном, доктором Д. Тейтельбаум с сотрудниками в Вейцмановском

институте науки в Израиле [14]. Действующим веществом копаксона является синтетический полимер, образованный четырьмя природными аминокислотами: L-глутаминовой кислотой, L-аланином, L-тирозином и L-лизиним. Образование полимера происходит при случайной полимеризации, и его молекулярный вес колеблется от 14 до 23 кДа [5]. Копаксон подавляет аутоиммунный ответ на основной белок миелина, опосредованно способен влиять на выработку противовоспалительных цитокинов, участвует в апоптозе активированных Т-лимфоцитов, при этом общими иммуносупрессорными свойствами не обладает.

В результате ряда исследований в нашей стране и за рубежом установлено, что копаксон достоверно снижает число обострений и замедляет прогрессирование инвалидизации при рассеянном склерозе. У пациентов не возникает гриппоподобных симптомов, утомляемости, изменения лабораторных показателей [6]. Механизм действия копаксона в настоящее время недостаточно изучен. Установлены три основных направления действия препарата.

1. Известно, что препарат в месте инъекции связывается с тримолекулярной структурой основного комплекса гистосовместимости класса I. Предполагается, что он обладает большим сродством к данной структуре, чем ОБМ и другие энцефалитогены, и способен конкурентно их вытеснять. Таким образом, копаксон играет роль ложной мишени, при взаимодействии с которой запускается пролиферация супрессорных Т-лимфоцитов, тормозится выработка воспалительных цитокинов, что сдерживает развитие аутоиммунной реакции против ОБМ [5].

2. Под действием копаксона активируются клоны Т-лимфоцитов, способные проникать через гематоэнцефалический барьер и вырабатывающие противовоспалительные цитокины [14].

3. Копаксон участвует в апоптозе активированных Т-лимфоцитов, при этом общими иммуносупрессорными свойствами не обладает [6, 14].

Цель исследования – изучить влияние копаксона на стратегические направления в патогенезе рассеянного склероза, к которым, несо-

мненно, относятся мембранодестабилизирующие механизмы.

Материал и методы

Для решения поставленной цели изучалось влияние копаксона на клинические проявления и ряд биохимических показателей у 58 больных (43 женщины и 15 мужчин) ремиттирующим рассеянным склерозом (РС). Группу сравнения составили 23 пациента с РС, сопоставимые по исходным данным с пациентами группы наблюдения, получавшие стандартный комплекс лечения. Контрольную группу составили 20 практически здоровых доноров аналогичного возраста.

В качестве модели для биохимических исследований выбран эритроцит периферической крови. Эритроциты получали из крови локтевой вены. Мембранный комплекс (тени эритроцитов) получали методом осмотического гемолиза. Для приготовления липидных экстрактов использовали 0,1 мл теней эритроцитов. Конечные результаты пересчитывали на 1 мг липидов, для чего в одном из экстрактов у каждого больного рассеянным склерозом определяли общее содержание липидов с помощью стандартных наборов «Био-Ла-Тест».

Исследовали следующие биохимические параметры:

1. Уровень антиоксидантной защиты оценивали на основании определения содержания α -токоферола – жирорастворимого антиоксиданта [10]; исследования активности супероксиддисмутазы – фермента антирадикальной защиты [12]; активности каталазы – фермента антиперекисной защиты [4]; активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) [1].

2. Структуру липидной фазы эритроцитарных мембран оценивали на основании определения содержания фосфолипидов в мембранах эритроцитов методом тонкослойной хроматографии на силикагеле [7] и определения холестерина методом, основанным на реакции Златкиса [9].

3. Активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали на основании изучения содержания продуктов ПОЛ в мембранах эритроцитов: определения концентрации

диеновых конъюгатов (ДК) полиненасыщенных жирных кислот фосфолипидов [11] и концентрации шиффовых оснований (ШО) [8].

Специальные исследования проведены у каждого больного группы сравнения дважды (перед началом исследований и по их завершении – через 2 года); у каждого больного группы наблюдения первые 6 мес исследования – один раз в месяц, в дальнейшем – каждые 3 мес (всего 11 исследований у каждого больного в течение 2 лет). Представители контрольной группы исследованы однократно.

В качестве критериев для определения активности мембранодестабилизирующих процессов изучали уровень функциональной активности эндогенных фосфолипаз и динамику накопления продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов и шиффовых оснований (табл. 1).

Результаты и обсуждение

Установлена прогрессивная тенденция к снижению исходно повышенного уровня актив-

ности фосфолипазы А₂ (ФЛА₂) и уменьшению содержания продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов и шиффовых оснований) в мембранах эритроцитов у пациентов на фоне лечения ко-паксоном, наиболее выраженная к концу 2-го года наблюдения. У больных в группе сравнения, не получавших лечения копаксоном, сохранялись довольно высокие показатели активности фосфолипазы и содержания продуктов ПОЛ, достоверно отличные от параметров нормы. Данное положение свидетельствует о сохраняющейся дестабилизации клеточных мембран на фоне проводимой стандартной терапии и о способности копаксона нивелировать данные изменения.

Анализ состояния отдельных звеньев системы антиоксидантной защиты у больных ремитирующей формой РС позволил выявить положительные тенденции в результате применения копаксона в комплексе лечебных мероприятий (табл. 2).

Таблица 1

Активность фосфолипазы А₂ и содержание липоперекисей в мембранах эритроцитов у больных РРС (М ± m)

Анализируемый период и клиническая группа		Показатель		
		ФЛА ₂ , % гемолиза	ДК, нмоль/мл	ШО, усл. ед. флуор.
Контрольная группа		(4,43 ± 0,21)	(48,4 ± 3,5)	(18,3 ± 1,02)
Группа РРС при первичном обследовании (46 человек)		19,10 ± 0,21*	125,37 ± 4,10*	28,5 ± 3,5*
Основная группа в процессе лечения копаксоном (58 человек)	через 1 мес	9,83 ± 0,60**	107,2 ± 5,1**	20,33 ± 1,80**
	через 2 мес	5,65 ± 0,10**	105,8 ± 6,3 **	19,21 ± 1,10**
	через 3 мес	5,57 ± 0,30**	106,2 ± 3,5**	21,7 ± 1,3**
	через 4 мес	5,65 ± 0,20**	106,7 ± 3,6**	18,7 ± 1,2**
	через 5 мес	6,8 ± 0,1**	95,48 ± 8,10**	21,3 ± 1,0**
	через 6 мес	6,14 ± 0,10**	100,1 ± 4,3**	19,0 ± 1,3**
	через 9 мес	5,35 ± 0,20**	112,2 ± 3,3**	19,1 ± 1,0**
	через 12 мес	6,6 ± 0,1**	76,4 ± 2,8**	20,3 ± 1,1**
	через 15 мес	7,4 ± 0,2**	86,2 ± 3,1**	19,6 ± 1,2**
	через 18 мес	5,62 ± 0,16**	100,1 ± 2,3**	20,0 ± 1,4**
	через 21 мес	5,35 ± 0,20**	98,3 ± 3,2**	19,40 ± 1,04**
	через 24 мес	6,11 ± 0,17**	96,6 ± 3,4**	18,80 ± 1,01**
Группа сравнения через 2 года наблюдения (23 человека)		18,90 ± 0,22*	128,4 ± 3,8*	29,9 ± 2,1*

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – достоверность статистических различий между показателями у здоровых и больных РРС; ** – достоверность статистических различий между показателями до назначения копаксона и на фоне применения копаксона в разные периоды наблюдения.

Таблица 2

Активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание α -токоферола в мембранах эритроцитов у больных РС на фоне лечения копаксоном в динамике наблюдения ($M \pm m$)

Группа и период наблюдения	Г-6-ФДГ, му мл	СОД, % торм.	Каталаза, ммоль мин. мл	α -Токоферол, нмоль мл
Контрольная группа	662,9 $\pm$ 29,9	45,3 $\pm$ 2,9	3,9 $\pm$ 0,1	5,8 $\pm$ 0,28
Группа РС				
до назначения копаксона	485,3 $\pm$ 15,6*	42,6 $\pm$ 1,3	3,16 $\pm$ 0,09*	4,4 $\pm$ 0,17*
через 1 мес	607,13 $\pm$ 14,8* **	48,36 $\pm$ 1,2**	3,19 $\pm$ 0,09*	4,0 $\pm$ 0,18*
через 2 мес	822,25 $\pm$ 15,6* **	59,1 $\pm$ 1,6* **	3,99 $\pm$ 0,1**	4,02 $\pm$ 0,19*
через 3 мес	547,2 $\pm$ 19,6* **	56,4 $\pm$ 2,0* **	3,70 $\pm$ 0,08**	5,21 $\pm$ 0,2**
через 4 мес	440,8 $\pm$ 18,2*	52,6 $\pm$ 2,1* **	3,61 $\pm$ 0,1* **	4,35 $\pm$ 0,19*
через 5 мес	646,5 $\pm$ 12,4 **	64,0 $\pm$ 1,7* **	4,14 $\pm$ 0,09**	4,16 $\pm$ 0,21*
через 6 мес	706,25 $\pm$ 21,4**	40,6 $\pm$ 1,9	3,85 $\pm$ 0,1**	4,95 $\pm$ 0,2**
через 9 мес	749,2 $\pm$ 21,6* **	54,9 $\pm$ 2,8* **	3,82 $\pm$ 0,08**	4,8 $\pm$ 0,2*
через 12 мес	623,8 $\pm$ 18,5**	68,3 $\pm$ 2,0* **	3,7 $\pm$ 0,09**	4,4 $\pm$ 0,17*
через 15 мес	783,2 $\pm$ 24,3* **	55,6 $\pm$ 2,3* **	3,8 $\pm$ 0,1**	4,77 $\pm$ 0,21*
через 18 мес	843,1 $\pm$ 18,9* **	59,9 $\pm$ 1,8* **	3,25 $\pm$ 0,09*	5,5 $\pm$ 0,21**
через 21 мес	940,1 $\pm$ 27,9* **	58,3 $\pm$ 1,9* **	4,61 $\pm$ 0,1* **	6,1 $\pm$ 0,12**
через 24 мес	847,9 $\pm$ 19,6* **	62,3 $\pm$ 1,2* **	4,52 $\pm$ 0,08* **	6,0 $\pm$ 0,14**
Группа сравнения через 2 года наблюдения	476, 2 $\pm$ 13,5*	43,4 $\pm$ 1,2*	3,21 $\pm$ 0,07*	4,0 $\pm$ 0,16*

Так, при исходно сниженном уровне активности ферментов антиоксидантной защиты и истощении пула α -токоферола в мембранах эритроцитов у больных РС на фоне применения копаксона установлено повышение активности Г-6-ФДГ, супероксиддисмутазы, каталазы начиная с конца 1-2-го мес от начала лечения и далее стабильно в процессе двухлетнего наблюдения. Имело место также постепенное повышение содержания α -токоферола в мембранах эритроцитов больных РС на фоне применения копаксона в комплексе лечебных мероприятий. В то же время в группе сравнения обнаружен низкий уровень активности ферментов антиоксидантной защиты и истощение пула α -токоферола как на старте, так и в финале исследований (через 2 года от начала).

В целом можно утверждать, что применение копаксона в комплексе лечения позволяет уменьшить проявления оксидантного стресса в организме больных ремиттирующей формой РС. Копаксон препятствует истощению пула α -токоферола в организме больных РС, что оказывает косвенно мембранопротекторное действие.

Подтверждением мембранопротекторного действия копаксона являются изменения в структуре липидной фазы эритроцитарных мембран у больных ремиттирующей формой РС на фоне применения препарата в комплексе лечебных мероприятий.

Точкой отсчета в исследованиях выступает состояние липидной фазы эритроцитарных мембран у больных РС до начала лечения копаксоном. Эти изменения заключаются в повышении содержания в мембранах эритроцитов больных РС как свободного холестерина, так и его эфиров с относительным преобладанием эфиров холестерина. Установлено, что начиная со 2-го мес применения копаксона в комплексе лечения прослеживается тенденция к уменьшению относительного содержания в мембранах эритроцитов эфиров холестерина, а начиная с 9-го мес лечения эта тенденция приобретает характер устойчивой закономерности. Обнаруженные изменения являются свидетельством мембраностабилизирующего действия копаксона, поскольку эфиры холестерина не способны удерживаться в мембранах, что значительно

снижает микровязкость липидного бислоя (табл. 3).

Таблица 3

Соотношение свободного холестерина и эфиров
холестерина
в мембранах эритроцитов у больных РС

Группа	Коэффициент
Контрольная группа	4,0
Группа РС	
до назначения копаксона	3,5
через 1 мес	2,8
через 2 мес	5,3
через 3 мес	3,5
через 4 мес	4,0
через 5 мес	3,1
через 6 мес	1,98
через 9 мес	4,4
через 12 мес	5,1
через 15 мес	5,2
через 18 мес	4,5
через 21 мес	6,7
через 24 мес	6,0

Заключение

В целом полученные данные выступают обоснованием мембранопротективного действия копаксона при РС, что существенно расширяет представления о механизме действия препарата. При этом основной механизм реализации мембранопротекции – ограничение мембранодестабилизирующих процессов и обеспечение в организме больных антиоксидантного эффекта.

Использованные в настоящих исследованиях биохимические методики информативны и могут применяться в качестве дополнительных критериев при решении вопроса о целесообразности мембраностабилизирующей терапии у больных рассеянным склерозом.

Литература

1. Асатиани. Ферментные методы анализа. М., 1969. 740 с.
2. Брокерхоф Х., Дженсен Р. Липолитические ферменты. М.: Мир, 1978. 398 с.
3. Гусев Е.И., Бойко А.Н. Рассеянный склероз: от изучения патогенеза к новым методам лечения. М., 2001. 128 с.
4. Дубинина Е.Е., Ефимова Л.Ф., Софронова Л.И., Геронимус А.Л. Сравнительный анализ активности супероксиддисмутазы и каталазы эритроцитов и цельной крови у новорожденных детей при хронической гипоксии // Лаб. дело. 1988. № 8. С. 10–19.
5. Жученко Т.Д., Шмидт Т.Е. Копаксон – новое средство для лечения рассеянного склероза // Вестн. практ. неврол. 1998. Вып. 4. С. 194–196.
6. Завалишин И.А., Гусев Е.И., Яхно Н.Н. и др. Результаты открытых пострегистрационных клинических испытаний препарата «Копаксон» у больных рассеянным склерозом // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвып. «Рассеянный склероз». 2002. С. 59–65.
7. Медди Э., Медди Э. Биохимическое исследование мембран. М.: Мир, 1979. С. 227–249.
8. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М.: Медицина, 1984. 270 с.
9. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. М.: Медицина, 1987. 365 с.
10. Рудакова-Шилина Н.К., Матюкова Л.Д. Оценка антиоксидантной системы организма // Лаб. дело. 1982. № 1. С. 19–22.
11. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 66–68.
12. Чумаков В.С., Осинская Л.Ф. Активность цинк- и медьсодержащей супероксиддисмутазы в тканях крыс в норме и при гипоксии // Вопр. мед. химии. 1979. № 8. С. 261–265.
13. Meyer J.S., Fukuuchi J., Kanda T. Interactions between cerebral metabolism and blood flow // Brain and blood flow. London, 1970. P. 156–164.
14. Sela M., Teitelbaum D. Glatiramer acetate in the treatment of multiple sclerosis // Exp. Opin Pharmacother. 2001. V. 2. № 7. P. 1149–1165.

Поступила в редакцию 01.04.2009 г.

Сведения об авторах

Рейхерт Л.И. – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой неврологии с курсом рефлексотерапии ФПК и ППС Тюменской государственной медицинской академии (г. Тюмень).

Рейхерт Л.И., Кичерова О.А., Соколова А.А., Молчанова Ж.И. Влияние копаксона на окислительный стресс при РС

Кичерова О.А. – канд. мед. наук, ассистент кафедры неврологии с курсом рефлексотерапии Тюменской государственной медицинской академии (г. Тюмень).

Соколова А.А. – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой неврологии и психиатрии Ханты-Мансийского государственного медицинского института (г. Ханты-Мансийск).

Молчанова Ж.И. – ассистент кафедры неврологии и психиатрии Ханты-Мансийского государственного медицинского института (г. Ханты-Мансийск).

Для корреспонденции

Молчанова Жанна Ивановна, тел. 8 (345-2) 44-69-91, e-mail: lira0806@mail.ru