

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2007

УДК 616.441-008.64-085.272.014.425]-036.8-074

А. С. Аметов¹, Е. С. Белоножкина¹, И. И. Павлюченко², А. А. Басов²**ПРО- И АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА У БОЛЬНЫХ ГИПОТИРЕОЗОМ И ЕЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРЕПАРАТОВ ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ**¹Российская медицинская академия последипломного образования, Москва; ²Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар

Проведенные сравнительные исследования выявили значительное усиление процессов свободнорадикального окисления (СРО) у больных с компенсированным и декомпенсированным гипотиреозом. У больных с декомпенсированным гипотиреозом интенсивность процессов СРО была в 2,26 раза выше, чем аналогичные показатели у больных с компенсированным ($p < 0,05$). У больных с компенсированным гипотиреозом выявлена положительная корреляция между показателями быстрой вспышки хемилюминесценции (БВХЛ) плазмы крови и содержанием триглицеридов ($r = +0,82$) и липопротеинов низкой плотности ($r = +0,69$) в плазме, при декомпенсированном гипотиреозе выявлена положительная корреляция между быстрой вспышкой хемилюминесценции плазмы крови и содержанием холестерина в плазме ($r = +0,41$). В исследованиях *in vitro* и *ex vivo* были получены данные, подтверждающие антиоксидантные свойства препарата липоевой кислоты (тиоктацида), снижавшего БВХЛ на 46–70% у обеих групп больных гипотиреозом.

Ключевые слова: гипотиреоз, хемилюминесценция, липоевая кислота, тиоктацид, триглицериды, липопротеины низкой плотности.

The comparative studies revealed a considerable increase in free radical oxidation (FRO) processes in patients with compensated and decompensated hypothyroidism. In patients with decompensated hypothyroidism, the rate of FRO processes was 2.26 times higher than that in those with compensated hypothyroidism ($p < 0.05$). In the patients with compensated hypothyroidism, there was a positive correlation between the fast plasma chemiluminescence flash (FPCF) and the plasma levels of triglycerides ($r = +0.82$) and low-density lipoproteins ($r = +0.69$) whereas in the patients with decompensated hypothyroidism, there was a positive correlation between FPCF and the plasma levels of cholesterol ($r = +0.41$). In vitro and ex vivo studies provided evidence suggesting the antioxidative properties of lipoic acid preparations (thioctacidum) diminishing FPCF by 46–70% in both groups of patients with hypothyroidism.

Key words: hypothyroidism, chemiluminescence, lipoic acid, thioctacidum, triglycerides, low-density lipoproteins.

Гипотиреоз — клинический синдром, обусловленный стойким, длительным снижением содержания тиреоидных гормонов в сыворотке крови или недостаточностью их биологического эффекта на тканевом уровне. Принято различать первичный, центральный и периферический гипотиреоз [3].

В настоящее время распространенность гипотиреоза среди населения очень широка и составляет: манифестный гипотиреоз 0,2–2%, субклинический примерно 7–10% среди женщин и 2–3% среди мужчин. В группе женщин старшего возраста (более 50 лет) заболеваемость всеми формами гипотиреоза может достигать 12% и более [13]. Эти данные позволяют считать, что гипотиреоз является одним из самых распространенных эндокринных заболеваний.

Тревожная тенденция в увеличении числа больных гипотиреозом подчеркивает его большое медицинское и социальное значение, а также требует дальнейшего изучения влияния дефицита тиреоидных гормонов на состояние многих органов и обменных процессов в организме.

Подробно изучены изменения липидного обмена при гипотиреозе, которые в целом характеризуются как атерогенные и наблюдаются у подавляющего числа пациентов. Выраженность нарушений липидного обмена обратно пропорциональна уровню тироксина (T_4) и прямо пропорциональна уровню тиреотропного гормона (ТТГ) [13]. Около 95% всех больных с манифестным гипотиреозом имеют гиперхолестеринемию. Изолированная триглицеридемия встречается при этом только в 5% случаев, однако сочетание гиперхолестеринемии и триглицеридемии наблюдается в 40–70% [14].

До настоящего времени нет единого мнения о влиянии гормонов щитовидной железы на процессы свободнорадикального окисления (СРО), в том числе и на продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ), образование активных форм кислорода (АФК). Продукты ПОЛ являются высокотоксичными соединениями, в избытке приводят к снижению барьерной функции биомембран, вследствие повышения их проницаемости для органических веществ и различных ионов, вызывают распад лизосом с выходом лизосомальных ферментов в клетку, что способствует разрушению клеточной оболочки митохондрий, цитолизу, торможению клеточного деления. Продукты ПОЛ подавляют активность ферментов, расщепляющих аминокислоты, витамины, разобщают окислительное фосфорилирование, тормозят цикл Кребса [2].

Образование АФК в организме человека имеет важное физиологическое значение, так как они обладают мощными защитными свойствами и выполняют разнообразные регуляторные функции. В настоящее время к основным формам АФК относят супероксидный анион-радикал ($\cdot\text{OO}\cdot$), синглетный кислород ($^1\text{O}_2$), гидроксильный радикал ($\cdot\text{OH}$), гидропероксильный радикал ($\cdot\text{OON}$), перекись водорода (H_2O_2) [6]. Так, в щитовидной железе образование перекиси водорода является неотъемлемой частью активации йода, что необходимо для синтеза тиреоидных гормонов. Щитовидная железа — единственная ткань, способная окислять ионы йода (I^-) до состояния с более высокой валентностью, что необходимо для органификации I^- и биосинтеза ее гормонов [9].

Таблица 1

Клиническая характеристика больных

Показатель	Значение показателя
Всего больных	33
Средний возраст, годы	46,4 ± 1,2
Средняя длительность гипотиреоза, годы	6,6 ± 0,3
Средний индекс массы тела, кг/м	29,8 ± 1,8
Вид лечения (число больных):	
L-тироксин	21
эутирокс	12

Патологические последствия возникают при чрезмерном накоплении АФК, пероксидов и их вторичных продуктов — состоянии, называемом обычно окислительным стрессом. А факторы и вещества (прежде всего избыток O_2), способствующие этому, называют прооксидантами, которые различны по своей природе, но в конечном счете все они вызывают окислительную модификацию (ОМ) биомолекул. Окислительный стресс с накоплением в тканях и биологических жидкостях АФК и вторичных продуктов ОМ макромолекул обнаружен более чем при 100 болезнях, в том числе и при гипотиреозе [4, 12, 16].

Тиреоидные гормоны относятся к группе антиоксидантов, так же как и ретинолы, токоферолы, витамин К, флавоноиды, аскорбиновая и никотиновая кислоты, стероидные и половые гормоны, биогенные амины, серосодержащие аминокислоты, микроэлементы (селен, магний, кобальт, цинк, хром, олово), фосфолипиды, билирубин [7]. Механизм их антиоксидантного действия точно не известен, но он определяется как их структурой (фе-

нольные соединения могут выступать в роли свободных антиоксидантов), так и физиологическими функциями, связанными с воздействием на многие процессы метаболизма, оказывающие влияние на динамику развития и интенсивность течения реакций СРО. Тиреоидные гормоны способны изменять уровень и активность антиоксидантов и прооксидантов (преимущественно O_2), степень насыщенности жирных кислот, основных объектов СРО [1].

Дефицит тиреоидных гормонов при гипотиреозе может служить одним из факторов инициации неконтролируемых процессов СРО, что отягощает течение данной патологии.

Безусловно, целью заместительной гормональной терапии первичного гипотиреоза является достижение медикаментозной компенсации и поддержание уровня ТТГ в пределах 0,5—2,5 мМЕ/л [13], но в свете последних научных открытий особое значение приобретает в дополнении к стандартной заместительной терапии поиск новых более эффективных, патогенетических подходов к лечению, направленных на предупреждение возникновения и развития осложнений гипотиреоза, коррекцию метаболических изменений. Новые данные, полученные при исследовании механизмов развития осложнений при гипотиреозе, роли окислительного стресса и нарушенного синтеза энергии в тканях, привлекли наше внимание к препарату, который уже давно широко используется в практической медицине, а именно к альфа-липоевой (тиоктовой) кислоте.

Липоевая кислота — один из самых эффективных поглотителей свободных радикалов является звеном эндогенной антиоксидантной системы ор-

Таблица 2

Липидный спектр и показатели хемилюминесценции плазмы крови компенсированных и декомпенсированных больных с гипотиреозом ($M \pm m$, медиана, 25-й и 75-й процентиля)

Показатель	Контрольная группа (n = 15)	Компенсированные больные с гипотиреозом (n = 15)	Декомпенсированные больные с гипотиреозом (n = 18)
БВХЛ, усл. ед.	0,296 ± 0,028	0,537 ± 0,064	1,214 ± 0,179
25-й процентиль	0,279	0,461	0,762
медиана	0,302	0,508	1,077
75-й процентиль	0,321	0,578	1,596
+ фармпрепарат липоевой кислоты, %-ing	—	70,5 ± 4,8	69,7 ± 1,9**
Инкубация с фармпрепаратом липоевой кислоты, 30 мин, %-ing	—	48,6 ± 6,3	46,3 ± 5,5**
ХС, ммоль/л	3,91 ± 0,24	4,55 ± 0,15*	6,48 ± 0,31
25-й процентиль	3,25	4,35	5,62
медиана	3,80	4,60	6,10
75-й процентиль	4,75	4,85	7,54
ТрГ, ммоль/л	1,10 ± 0,11	1,20 ± 0,13*	2,18 ± 0,17
25-й процентиль	0,75	1,05	1,32
медиана	1,10	1,10	2,05
75-й процентиль	1,45	1,35	2,72
ЛПНП, ммоль/л	45,7 ± 1,49	46,1 ± 1,56*	58,2 ± 2,40
25-й процентиль	41,5	41,5	55,8
медиана	47	46,0	59,0
75-й процентиль	49,5	49,5	64,0
Достоверность	—	p < 0,017	p < 0,017 p ₁ < 0,05

Примечание. * — $p \geq 0,017$ (0,05/3) — относительно показателей контрольной группы; ** — $p_1 \geq 0,05$ — относительно показателей больных с компенсированным гипотиреозом.

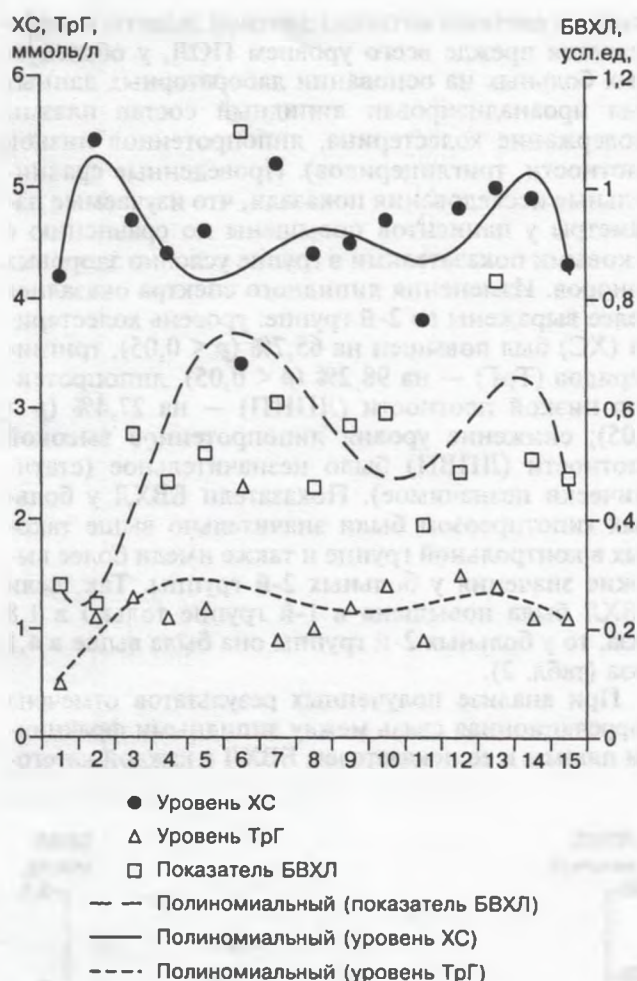


Рис. 1. Показатели интенсивности БВХЛ, уровня ХС и ТрГ у больных с компенсированным гипотиреозом.

Здесь и на рис. 3 по оси абсцисс — больные с компенсированным гипотиреозом.

ганизма, а также кофактором ряда метаболических процессов в организме [15].

Таким образом, целью настоящего исследования стало изучение интенсивности процессов СРО при гипотиреозе и определение их корреляционной зависимости от уровня липидных фракций крови и степени медикаментозной компенсации заболевания, а также изменение процессов СРО крови и плазмы обследуемых больных с гипотиреозом под влиянием липоевой кислоты (фармпрепарат Тиоктацид 600 Т).

Материалы и методы

Критериями выбора больных для настоящего исследования служили любые формы первичного гипотиреоза, возраст пациентов не старше 55 лет. Критериями, исключающими больных из исследования, были инфекционные заболевания, злокачественные новообразования, злоупотребление алкоголем или наркотическая зависимость, любое тяжелое, прогрессирующее заболевание, наличие сопутствующей эндокринной патологии.

В рамках проведенной работы обследовано 33 пациента (женщины в возрасте 34—53 лет) с диагностированным первичным гипотиреозом (дли-

тельность заболевания составила от 1 года до 15 лет). Клиническая характеристика больных представлена в табл. 1.

Контрольную группу составили 15 практически здоровых доноров, сопоставимых по возрасту с наблюдаемыми больными (25—52 лет, средний возраст $43,2 \pm 1,99$ года.)

Лабораторное обследование тиреоидного статуса — свободной фракции тироксина (cT_4) и тиреотропного гормона (ТТГ) проводилось при помощи стандартных методик иммунодиагностическими наборами фирмы "Immunotech" (Чехия). Нормой для ТТГ являются показатели от 0,4 до 4,0 мМЕ/л, для cT_4 — 10—23 пм/л.

Уровень СРО биосубстратов плазмы крови больных гипотиреозом оценивали по интенсивности быстрой вспышки хемилюминесценции (БВХЛ), с помощью люминотестера LT-01 на основе методики НИИБИ Ростова-на-Дону (к 2,9 мл трис-буфера (рН 6,8), содержащего люминол, добавляется 100 мкл исследуемой плазмы, смесь инкубируется 600 с при 37°C, затем вносится 0,5 мл 3% перекиси водорода и фиксируется БВХЛ на LT-01).

Антиокислительную активность (АОА) препаратов оценивали по их способности ингибировать БВХЛ in vitro путем внесения их в объеме 20 мкл в

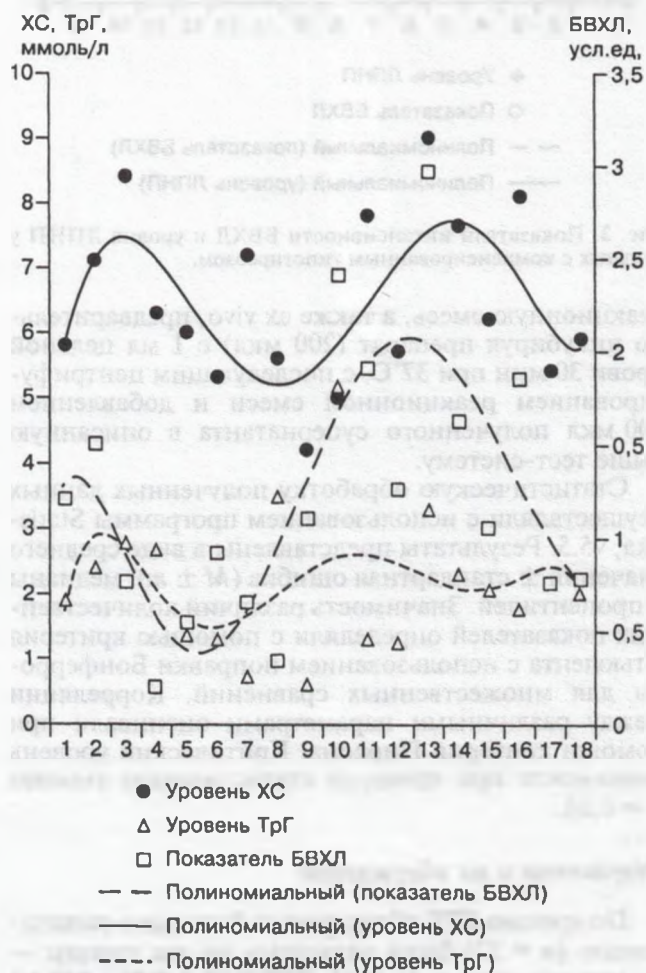


Рис. 2. Показатели интенсивности БВХЛ, уровня ХС и ТрГ у больных с декомпенсированным гипотиреозом.

Здесь и на рис. 4 по оси абсцисс — больные с декомпенсированным гипотиреозом.

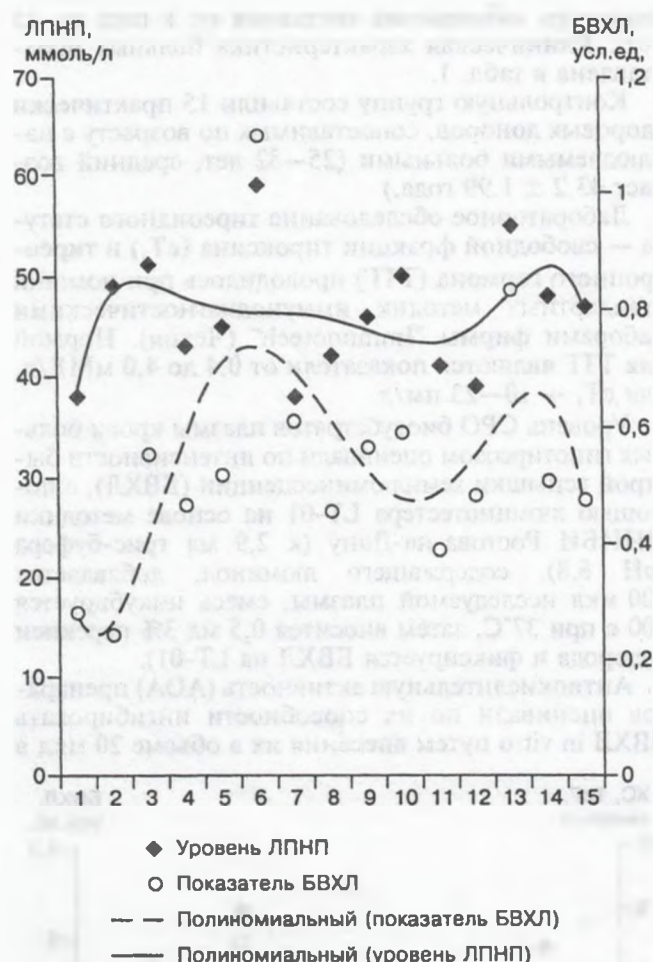


Рис. 3. Показатели интенсивности БВХЛ и уровня ЛПНП у больных с компенсированным гипотиреозом.

реакционную смесь, а также *ex vivo*, предварительно инкубируя препарат (200 мкл) с 1 мл цельной крови 30 мин при 37°C, с последующим центрифугированием реакционной смеси и добавлением 100 мкл полученного супернатанта в описанную выше тест-систему.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием программы Statistika, v5.5. Результаты представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка ($M \pm m$), медианы и процентиля. Значимость различий количественных показателей определяли с помощью критерия Стьюдента с использованием поправки Бонферрони для множественных сравнений. Корреляции между различными параметрами оценивали при помощи критерия Пирсона. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез $p = 0,05$.

Результаты и их обсуждение

По уровню ТТГ обследуемые больные с гипотиреозом ($n = 33$) были разделены на две группы — компенсированную ($n = 15$, ТТГ $2,20 \pm 0,06$ мМЕ/л) и декомпенсированную ($n = 18$, ТТГ $27,26 \pm 4,20$ мМЕ/л). Так как интенсивность СРО зависит напрямую от прооксидантного статуса крови, от со-

стояния системы антиоксидантной защиты и определяется прежде всего уровнем ПОЛ, у обследуемых больных на основании лабораторных данных был проанализирован липидный состав плазмы (содержание холестерина, липопротеинов низкой плотности, триглицеридов). Проведенные сравнительные исследования показали, что изучаемые параметры у пациентов повышены по сравнению с таковыми показателями в группе условно здоровых доноров. Изменения липидного спектра оказались более выражены во 2-й группе: уровень холестерина (ХС) был повышен на 65,7% ($p < 0,05$), триглицеридов (ТрГ) — на 98,2% ($p < 0,05$), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) — на 27,4% ($p > 0,05$); снижение уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) было незначительное (статистически незначимое). Показатели БВХЛ у больных гипотиреозом были значительно выше таковых в контрольной группе и также имели более высокие значения у больных 2-й группы. Так, если БВХЛ была повышена в 1-й группе только в 1,8 раза, то у больных 2-й группы она была выше в 4,1 раза (табл. 2).

При анализе полученных результатов отмечена корреляционная связь между липидными фракциями плазмы и ее показателем БВХЛ в каждой катего-

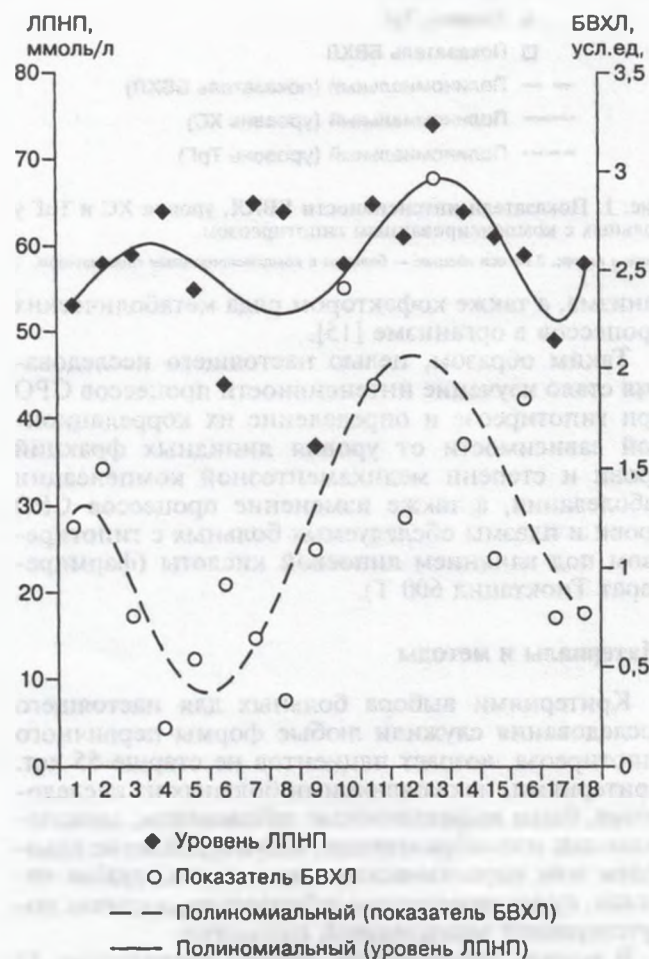


Рис. 4. Показатели интенсивности БВХЛ и уровня ЛПНП у больных с декомпенсированным гипотиреозом.



Рис. 5. Показатели БВХЛ у больных с гипотиреозом до и после использования препаратов липоевой кислоты в тест-системе *in vitro* и *ex vivo*.

рии больных: у декомпенсированных больных — прямая умеренная корреляционная связь между уровнем ХС и показателем БВХЛ ($r_{\text{ХС/БВХЛ}} = +0,41$; $p < 0,10$), слабая положительная корреляционная связь между уровнем ТрГ ($r_{\text{ТрГ/БВХЛ}} = +0,32$; $p = 0,20$), уровнем ЛПНП ($r_{\text{ЛПНП/БВХЛ}} = +0,31$; $p > 0,2$) и показателем БВХЛ; у компенсированных больных — слабая отрицательная корреляционная связь между уровнем ХС и показателем БВХЛ ($r_{\text{ХС/БВХЛ}} = -0,33$; $p > 0,2$), а между уровнями ТрГ ($r_{\text{ТрГ/БВХЛ}} = +0,82$; $p < 0,001$), ЛПНП ($r_{\text{ЛПНП/БВХЛ}} = +0,69$; $p < 0,05$) и показателем БВХЛ сильные положительные корреляционные связи (рис. 1—4).

Необходимо отметить выраженную положительную корреляцию между БВХЛ и показателями отдельных липидных фракций (уровнем ТрГ и ЛПНП) у больных с компенсированным гипотиреозом и отсутствие подобных зависимостей у больных с декомпенсированным гипотиреозом. Это может указывать на утрату у последних в условиях серьезного дисбаланса про- и антиоксидантных систем специфичности атакуемых АФК субстратов (полиненасыщенных компонентов липидов) и лавинообразное вовлечение в реакции перекисного окисления не только липидов, но и других биополимеров: белков, нуклеиновых кислот, углеводов, оказавшихся в зоне неконтролируемых реакций окислительного стресса. Повышение в плазме у больных с декомпенсированным гипотиреозом уровня ЛПНП, содержащих в значительном количестве этерифицированный ХС, также может приводить к интенсификации у них процессов СРО, а следовательно, и к увеличению показателя БВХЛ. Эфиры ХС содержат в своем составе непредельные жирные кислоты, наиболее доступные субстраты

ПОЛ, в результате которого образуется большое количество конечных и промежуточных продуктов окислительной модификации, обуславливающих интенсификацию процессов СРО, о чем свидетельствует увеличение БВХЛ у декомпенсированных больных и появление положительной корреляции между БВХЛ и уровнем общего ХС.

Проводимая заместительная терапия L-тироксинном у больных во 2-й группе выявила обратную корреляционную связь между БВХЛ и суточной дозой тироксина ($r = -0,49$; $p > 0,10$), что может быть обусловлено улучшением метаболизма под влиянием гормона и его непосредственными антиоксидантными свойствами [5]. Однако проводимое лечение не дает нормализующего эффекта в отношении измененного антиоксидантного статуса.

Исследования *in vitro* антиоксидантных свойств фармакологического препарата липоевой кислоты Тиоктацид 600 Т, произведенного компанией "AWD pharma" (Германия) показали его существенную антирадикальную активность при добавлении в свеженабранную цельную кровь и плазму больных как с компенсированным, так и с декомпенсированным гипотиреозом. Так, при непосредственном добавлении в реакционную систему с плазмой Тиоктацида 600 ХЛ снижалась на 70,5%, после предварительной инкубации препарата с кровью в течение 30 мин и последующем отборе ее плазмы с внесением в аналогичную реакционную систему ХЛ снижалась на 48,6% (рис. 5). Необходимо отметить, что аналогичные данные по ингибированию БВХЛ с помощью препаратов липоевой кислоты были получены при исследовании крови у больных с другой эндокринной патологией — сахарным диабетом, хотя уровень СРО, определяемый на основании интенсивности БВХЛ, в данной группе был существенно выше по сравнению с контрольной группой более чем в 6 раз [10, 11].

Выводы

1. У больных с гипотиреозом выявлены значительные изменения в прооксидантно-антиоксидантном балансе со значительным превалированием первого звена, что проявляется интенсификацией процессов СРО и снижением антиоксидантных резервов организма.

2. Наблюдается отчетливая положительная корреляция между интенсивностью реакций СРО и степенью декомпенсации гипотиреоза: показатели БВХЛ, отражающие выраженность реакций СРО, гораздо выше при декомпенсированном гипотиреозе по сравнению с аналогичными показателями при компенсированном ($p < 0,05$).

3. Выявлена корреляционная взаимосвязь между показателями БВХЛ и уровнем некоторых фракций липопротеинов плазмы: прямая корреляция наблюдалась между БВХЛ и содержанием ТрГ и ЛПНП у больных с компенсированным гипотиреозом, положительная корреляция между БВХЛ и содержанием ХС у больных с декомпенсированным гипотиреозом.

4. В ходе исследования *in vitro* и *ex vivo* были подтверждены антиоксидантные свойства препарата липоевой кислоты — Тиоктацида 600 Т, обла-

дающего значительным антирадикальным эффектом, который проявлялся примерно в одинаковой степени у разных категорий больных независимо от базального уровня реакций СРО и носил универсальный характер. Поэтому представляется целесообразным дальнейшее исследование применения Тиоктацида 600 Т у больных с гипотиреозом с целью коррекции метаболических нарушений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антипенко Е. Н., Антипенко А. Е., Кавешникова Е. В. и др. // Успехи соврем. биол. — 1994. — Т. 114, вып. 5. — С. 558—572.
2. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М. // Пробл. эндокринолог. — 2000. — Т. 46, № 6. — С. 29—34.
3. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Кремская В. М. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний: Руководство. — М., 2002.
4. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биомембранах. — М., 1972.
5. Галкина О. В., Прокопенко В. М., Путилина Ф. Е. // Пробл. эндокринолог. — 2000. — Т. 46, № 4. — С. 32—34.
6. Дубинина Е. Е. // Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии. Т. 2: Труды научной конфе-

- ренции, посвящ. 100-летию кафедры биохимии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова (15—17 октября 1998 г.). — СПб., 1998. — С. 386—398.
7. Клебанов Г. И., Теселкин Ю. О., Бабенкова И. В. и др. // Вестн. РАМН. — 1999. — № 2. — С. 15—22.
8. Кулинский В. И., Колесниченко Л. С. // Успехи соврем. биол. — 1993. — Т. 113, вып. 1. — С. 107—122.
9. Миррай Р. К. и др. // Биохимия человека. — 1993. — Т. 2. — С. 189.
10. Павлюченко И. И., Басов А. А., Павлюченко Е. В., Федосов С. Р. // Материалы региональной науч.-практ. конф. врачей хирургического профиля "Актуальные проблемы современной хирургии". — Нальчик, 2002. — С. 101—102.
11. Павлюченко И. И., Орлова С. В., Васильев А. В., Басов А. А. // Материалы Международной науч.-практ. конф. "Современные технологии фитонутрициологии в акушерстве, гинекологии и педиатрии". — М., 2003. — С. 310—317.
12. Панкин В. З. // Укр. биохим. журн. — 1984. — Т. 56, № 3. — С. 317—331.
13. Фадеев В. В., Мельниченко Г. А. Гипотиреоз: Руководство для врачей. — М., 2002.
14. Kahali G. // Thyroid. — 2000. — Vol. 10, N 8. — P. 665—679.
15. Packer L., Witt E. N., Tritschler H. Y. // Free Rad. Biol. Med. — 1995. — Vol. 19. — P. 227—250.
16. Wseman H., Halliwell B. // Biochem. J. — 1996. — Vol. 313, N 1. — P. 17—29.

Поступила 24.05.06

ДВА КАТАЛОГА — ДВА ВАРИАНТА ПОДПИСКИ

Для более полного удовлетворения потребностей подписчиков
«Издательство "Медицина"» наряду с каталогом
АГЕНТСТВА "РОСПЕЧАТЬ"
включило свои журналы
в **ОБЪЕДИНЕННЫЙ КАТАЛОГ**

Теперь подписчики могут получать наши журналы по адресной
системе — заказными бандеролями (только в России).

ВНИМАНИЕ!

Подписные индексы и стоимость подписки по этим каталогам
различаются, так же как и условия доставки.

Спрашивайте каталоги на почте
и выбирайте наиболее удобный для Вас вариант подписки!