

Антиапоптотическое действие мелатонина при неалкогольном стеатогепатите, развивающемся при сахарном диабете 2-го типа

© С.С. Попов¹, А.Н. Пашков¹, И.Э. Есауленко¹, Т.Н. Попова², А.А. Агарков², Г.Н. Купцова¹

¹ГБОУ ВПО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко», Воронеж, Россия;

²ФГБУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж, Россия

Цель. Исследование антиапоптотического действия мелаксена при неалкогольном стеатогепатите, развивающемся при сахарном диабете 2-го типа, а также его влияния на маркеры цитолитического синдрома, параметры липидного и углеводного обмена.

Материал и методы. В исследование были включены 59 человек с патологией, из которых 33 человека находились на базисном лечении, 26 человек дополнительно к базисной терапии получали мелаксен. Биохимические показатели (амино-трансферазы, липидный и углеводный профиль) определялись стандартными методами. Активность каспаз-1 и -3 в сыворотке крови определяли спектрофотометрически. Фрагментацию ДНК, выделенной из лейкоцитов крови фенольно-хлороформным методом, выявляли с помощью электрофореза в агарозном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием.

Результаты. Показано, что при данной патологии наряду с развитием цитолитического синдрома, нарушений липидного и углеводного обмена имеет место активизация апоптотических процессов, о чем свидетельствует возрастание активностей каспаз-1 и -3, а также фрагментация ДНК. Так, активность каспазы-1 увеличивалась в 1,7 раза ($p < 0,05$), каспазы-3 — в 1,8 раза ($p < 0,05$) по сравнению с нормой, а также на электрофореграмме ДНК, выделенной из лимфоцитов крови пациентов с неалкогольным стеатогепатитом, развивающемся при сахарном диабете 2-го типа, выявлялась характерная апоптотическая лестница. Применение комбинированной терапии с мелатонином способствует более значительному изменению исследованных параметров в направлении нормы по сравнению с базисным лечением.

Выводы. Таким образом, мелатонин, обладая антиапоптотическим действием, способен оказывать положительное влияние на клиническую эффективность проводимого лечения.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, неалкогольный стеатогепатит, апоптоз, каспазы, степень фрагментации ДНК, цитолитический синдром, липидный обмен, углеводный обмен, мелатонин.

Antiapoptotic effect of melatonin in nonalcoholic steatohepatitis developing in patients with type 2 diabetes mellitus

© Sergey S. Popov¹, Aleksandr N. Pashkov¹, Igor E. Esaulenko¹, Tatiana N. Popova², Aleksandr A. Agarkov², Galina N. Kuptsova¹

¹Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia; ²Voronezh State University, Voronezh, Russia

Objective — to investigate the antiapoptotic effect of melaxen in nonalcoholic steatohepatitis associated with type 2 diabetes mellitus, as well as its effect on markers of cytolysis syndrome, parameters of lipid and carbohydrate metabolism.

Material and methods. Fifty-nine patients with nonalcoholic steatohepatitis associated with type 2 diabetes mellitus were included in the clinical study. Among them, 33 people were receiving background therapy; 26 patients received melaxen in addition to the background therapy. Biochemical values (aminotransferases, the lipid and carbohydrate profile) were measured using the conventional methods. Activities of caspase-1 and -3 in blood serum were determined spectrophotometrically. DNA fragmentation from white blood cells was detected by agarose gel electrophoresis followed by staining with ethidium bromide.

Results. It was shown that in this pathology, apoptotic processes are activated in addition to development of the cytolysis syndrome and disturbances of lipid and carbohydrate metabolism as evidenced by the increased caspase-1 and -3 activities. DNA fragmentation also took place. Activities of caspase-1 and 3 increased 1.7-fold ($p < 0.05$) and 1.8-fold ($p < 0.05$) compared with the normal values. The characteristic apoptotic «ladder» was also detected in the electrophoregram of DNA isolated from blood lymphocytes in patients with nonalcoholic steatohepatitis associated with type 2 diabetes mellitus. The combination therapy with melaxen changed the investigated parameters towards the normal values more significantly compared to the background treatment.

Conclusions. Hence, melatonin possesses antiapoptotic activity and can have a positive impact on treatment efficiency.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, non-alcoholic steatohepatitis, apoptosis, caspases, dna fragmentation, cytolytic syndrome, lipid metabolism, carbohydrate metabolism, melatonin.

Согласно имеющимся данным, в России примерно 27% взрослого населения страдают неалкогольной жировой болезнью печени [1], одной из причин которой является сахарный диабет 2-го типа (СД2) в сочетании с ожирением. У больных с ожирением наблюдается инсулинорезистентность и гиперинсулинемия, что ведет к накоплению в печени свободных жирных кислот (СЖК) и триглицеридов.

При этом происходит торможение окисления СЖК и выделение липидов в кровяное русло, что приводит к накоплению жира в печени и развитию неалкогольного стеатогепатита (НАСГ). СЖК являются основным источником образования активных форм кислорода (АФК) [2]. АФК выступают в качестве одних из главных индукторов запрограммированной гибели клеток — апоптоза. Физиологическая

роль апоптоза заключается в поддержании гомеостаза организма. Сигнальные пути передачи апоптотического сигнала другим программам жизнедеятельности клеток часто переплетаются между собой, создавая сложную картину внутри- и межклеточных взаимодействий, составляющих основу регуляции клеточного роста, дифференцировки и гибели клеток. Запуску запрограммированной гибели клетки могут способствовать внутриклеточные сигналы, а также внешние рецепторопосредованные механизмы [3]. В настоящее время идентифицированы протеолитические ферменты (каспазы), вовлеченные в процесс апоптоза, которые расщепляют свои специфические субстраты по остаткам аспарагиновой кислоты. Каспазы подразделяются на инициаторы, эффекторы и стимуляторы. Одним из инициаторов является каспаза-1, которая активирует каспазу-3, относящуюся к эффекторам [4]. В то же время отмечается возможность активации каспазы-1 под действием активированной каспазы-3 [5]. Известно, что каспазные эффекторы расщепляют различные белки, ответственные за обеспечение жизненно важных процессов, что ведет к гибели клетки. Доказано, что активация каспаз вызывает запуск протеолитического каскада реакций, ведущих к программируемой клеточной смерти. Активация каспаз может приводить к реорганизации цитоскелета, нарушению структуры, репликации и репарации ДНК, прерыванию сплайсинга, разрыву ядерных структур и дезинтеграции клеток на апоптотические тела [6]. В процессе апоптоза происходит активация эндонуклеаз, которые обладают процессивным действием, сопровождающимся распадом хроматина путем гидролиза ДНК. Сначала происходит распад на крупные домены, затем межнуклеосомная фрагментация ДНК и в конечном счете — к гидролизу ДНК до низкомолекулярных утилизируемых фрагментов [7]. В настоящее время представляют особый интерес средства, обладающие антиоксидантными и антиапоптотическими свойствами, основой которых служат естественные метаболиты клеток. В этой связи актуальным является исследование действия мелатонина — нейрогормона, продуцируемого эпифизом, а также клетками диффузной нейроэндокринной системы (АПУД-системы). Помимо классических эффектов, а именно участия в синхронизации биоритмов [8], регуляции цикла сон—бодрствование [9], влияния на репродуктивную и иммунную систему [10, 11], данный гормон способен обеспечивать нейтрализацию ряда АФК, тем самым снижая интенсивность свободнорадикального окисления биомолекул и деградацию ДНК [12]. Немаловажное значение имеют также противовоспалительные свойства мелатонина, связанные с его способностью блокировать транскрипционные факторы, активирующие противовоспалительные цитокины [18]. В этой связи несомненный интерес вызывает

исследование возможности применения мелатонина при данной патологии, так как он является антиоксидантом широкого спектра действия, а также способен снижать степень воспалительных процессов.

Цель настоящей работы — оценка маркеров повреждения печени, показателей углеводного и липидного обмена, активности каспазы-1, каспазы-3 и степени фрагментации ДНК у больных с НАСГ, развивающимся на фоне СД2 при проведении комбинированной терапии с мелаксеном в сравнении с базисным лечением.

Материал и методы

В исследование были включены 59 человек с НАСГ, возникшем на фоне СД2. Среди них 23 (38,9%) мужчины и 36 (61,0%) женщин, возраст больных 38—75 лет (средний $56,5 \pm 17,5$ года). Средняя продолжительность СД2 составляла $3,6 \pm 2,7$ года. Диагноз неалкогольного стеатогепатита был поставлен на основании клинических признаков заболевания, биохимического исследования крови, данных УЗИ печени. Из сопутствующих заболеваний чаще всего регистрировались: ожирение у 59 (100%) больных, артериальная гипертензия у 53 (89,8%), хроническая сердечная недостаточность у 52 (88,1%), хронический гастрит у 33 (55,9%).

В качестве критериев исключения из исследования рассматривали: вирусные гепатиты, синдром холестаза, злокачественные новообразования, острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, хроническую почечную недостаточность.

Больные были разделены на две группы. 1-я группа пациентов ($n=33$) находилась на базисном лечении: пероральные сахароснижающие препараты (препараты сульфонилмочевины и бигуаниды), витамины: B_1 , B_6 , B_{12} (5% растворы по 1 мл внутримышечно 1 раз в день), гепатопротекторы: эссливер форте (эссенциальные фосфолипиды, 300 мг) по 2 таблетки 3 раза в день, внутрь; карсил (эквивалент силимарина 35 мг) по 2 таблетки 3 раза в день во время еды, внутрь; гиполлипидемическая терапия: статины (симвастатин 10 мг) 1 раз в день, внутрь, в течение 10 дней. Пациенты 2-й группы ($n=26$) дополнительно к базисной терапии получали мелаксен (Unifarm, Inc., США) по 1 таблетке, содержащей 3 мг мелатонина, 1 раз в день за 30—40 мин перед сном в течение 10 дней.

Контрольную группу составили 65 практически здоровых лиц в возрасте от 21 года до 52 лет с нормальными показателями общего и биохимического анализов крови.

Принцип используемого метода определения активностей аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспаратаминотрансферазы (АсАТ) заключается в фотометрическом определении содержания пирувата

или оксалоацетата в пробе на основе реакции с 2,4-динитрофенилгидразином. Активность гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП) оценивали по скорости реакции переноса глутамилового остатка с гамма-L-(+)-глутамил-4-нитроанилида на глицил-глицин (Био-тест, PLIVA — Lachema Diagnostika). Исследование изменений липидного обмена проводилось биохимическими методами путем определения концентрации общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в сыворотке при помощи наборов реагентов (Био-Ла-Тест) ферментативным фотоколориметрическим методом на биохимическом анализаторе Klima 15МС (Испания). Индекс атерогенности (ИА) определяли как отношение разности ОХС и ЛПВП к ЛПВП [ИА = (ОХС минус ЛПВП)/ЛПВП]. Уровень глюкозы натощак и постпрандиальный уровень глюкозы оценивали с помощью глюкометра Сателлит Плюс. Уровень инсулина в сыворотке определяли общепринятым методом иммуноферментного анализа с помощью набора реактивов DRG (США). Концентрацию С-пептида определяли иммуноферментным методом (DRG, Австрия). Исследование гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) выполняли с использованием иммуноферментного метода на ИФА Униплан (по стандарту NGSP). Расчет индекса НОМА (показатель инсулинорезистентности) проводился по формуле: индекс НОМА = Ип · Гп / 22,5, где Ип — инсулин плазмы, ед/мл; Гп — глюкоза плазмы, ммоль/л. Значение индекса НОМА >2,7 расценивалось как инсулинорезистентность.

Активность каспаз-1 и -3 определяли с помощью набора реактивов Caspase 1 Assay Kit, Colorimetric и Caspase 3 Assay Kit, Colorimetric фирмы «Sigma». В среду измерения добавляли коктейль ингибиторов протеаз (0,08 мМ апротинин, 1,5 мМ пепстатин А, 2 мМ лейпептин) в соотношении 100:1 (все реактивы фирмы «Sigma», США). Колориметрический анализ активности каспаз основан на гидролизе пептидного субстрата ацетил-Тур-Val-Ala-Asp-*n*-нитроанилида (Ac-YVAD-*p*NA) (в случае каспазы-1) и ацетил-Asp-Glu-Val-Asp-*n*-нитроанилида (Ac-DEVD-*p*NA) (в случае каспазы-3) с образованием остатка *n*-нитроанилида, имеющего максимум поглощения при 405 нм (молярный коэффициент поглощения = 10,5 М⁻¹ см⁻¹). Активность каспаз выражали в пмоль продукта, образующегося за 1 мин, в расчете на 1 мг белка.

ДНК выделяли из лейкоцитов крови фенольно-хлороформным методом. Фрагментацию ДНК выявляли с помощью электрофореза в агарозном геле в трис-ацетат-EDTA-буфере, содержащем бромистый этидий [13]. В качестве маркеров молекулярной массы использовали набор MassRuler, включающий маркеры от 1500 до 10 000 п.н., производства «Fermentas» (Литва).

Работа была одобрена этическим комитетом ВГМУ им Н.Н. Бурденко (протокол №5 от 13.05.11). Перед проведением клинического исследования было получено информированное согласие всех пациентов в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской организации (2008).

Статистическая обработка материала включала использование стандартных методов вариационной статистики (расчет средних значений (*M*), ошибку средних значений (*m*), *t*-критерия Стьюдента) и непараметрического теста Вилкоксона. Для сравнения параметров двух независимых групп (т.е. межгрупповое сравнение между комбинированным лечением с мелаксеном по сравнению с базисным лечением) использовали двусторонний *U*-критерий Манна—Уитни. При проведении статистической обработки использовали прикладные программы Statistica 6.0. Значимыми считались различия при *p*<0,05.

Результаты

Состояние функции печени у больных 1-й и 2-й групп до лечения по сравнению с контрольной группой характеризовалось возрастанием уровня активности АлАТ в 1,7 (*p*<0,05) и 1,6 раза (*p*<0,05) соответственно по сравнению с верхней границей нормы (40 ЕД) (таблица). Для уровня АсАТ также было характерно увеличение: в 1-й группе в 1,3 раза (*p*<0,05), во 2-й группе в 1,2 раза (*p*<0,05) по сравнению с верхней границей нормы (40 ЕД). После базисного лечения наблюдалось уменьшение активности АлАТ и АсАТ в 1,8 и 1,4 раза (*p*<0,05) соответственно. После комбинированного лечения с мелаксеном происходило снижение активности АлАТ и АсАТ в большей степени — в среднем в 2 раза (*U*; *p*<0,05) и 1,6 раза (*U*; *p*<0,05) соответственно. О нарушении функционирования печени у больных свидетельствовала также активность ГГТП, которая до назначения лечения была в среднем в 3,2 раза (*p*<0,05) выше нормы. После базисного лечения активность данного фермента снижалась в 2 раза (*p*<0,05), после комбинированного лечения с мелаксеном — в 2,7 раза (*U*; *p*<0,05).

Перед лечением уровень ЛПНП и ОХС был повышен у больных обеих групп в среднем в 2,8 (*p*<0,05) и 1,7 раза (*p*<0,05) соответственно. В 1-й группе пациентов, находящихся на базисном лечении, происходило уменьшение уровня ЛПНП и ОХС в 1,2 и 1,3 раза (*p*<0,05) соответственно (см. таблицу). Во 2-й группе пациентов происходило снижение содержания ЛПНП в 1,8 раза (*U*; *p*<0,05) и ОХС в 1,5 раза (*U*; *p*<0,05), что более значительно, чем в 1-й группе пациентов. При этом ИА после базисного лечения уменьшался в 1,4 раза (*p*<0,05), а после комбинированного лечения с мелаксеном — в 2,1 раза (*U*; *p*<0,05).

Влияние комбинированной терапии с мелаксеном на маркеры повреждения печени, показатели углеводного и липидного обмена, активности каспазы-1, каспазы-3 у больных с неалкогольным стеатогепатитом, развивающимся на фоне СД2

Показатель	Единицы измерения	Контрольная группа	1-я группа		2-я группа	
			до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
АлАТ	ЕД/л	0-40	68,2±9,5*	38,9±4,4**	68,6±11,1*	34,8±4,4**,#
АсАТ	ЕД/л	0-40	49,9±7,8*	36,7±5,1**	51,4±7,2*	32,3±4,1**
ГГТП	мккат/л	0,88±0,4	2,78±0,6*	1,36±0,7**	2,76±0,8*	1,01±0,2**,#
Глюкоза (натощак)	ммоль/л	4,8±0,8	11,7±1,6*	8,6±1,7**	12,3±2,3*	6,8±0,8**,#
Глюкоза (через 2 ч)	ммоль/л	5,6±0,9	13,4±2,1*	9,6±1,9**	13,9±1,9*	8,3±0,9**,#
HbA _{1c}	%	5,2±0,9	8,9±0,8*	7,2±0,4**	9,2±1,2*	6,3±0,3**,#
Инсулин	мкЕД/мл	6,7±0,5	10,6±1,4	13,5±1,5	10,4±1,4	14,6±1,7
Индекс А-НОМА-IR	≤2,7	1,4±0,2	5,5±0,4*	5,1±0,4	5,7±0,6*	4,3±0,5**,#
ЛПНП	ммоль/л	1,7-4,5	12,7±2,1*	10,3±0,7	12,1±2,5*	6,8±0,4**,#
ЛПВП	ммоль/л	>1,55	1,34±0,7	1,42±0,5	1,13±0,8	1,43±0,7**
Общий холестерин	ммоль/л	4,1±0,2	6,8±2,1*	5,3±1,3**	6,7±1,9*	4,6±1,0**,#
Коэффициент атерогенности	≤3	1,3±0,2	4,0±0,6*	2,8±0,4**	4,7±0,5*	2,2±0,4**,#
Каспаза-1	пкМольрNA	5,68±0,32	9,84±0,44*	7,34±0,82**	9,88±0,72*	5,91±0,43**,#
Каспаза-3	/мин/мг белка	5,72±0,29	10,26±0,51*	9,42±0,39**	10,41±0,53*	6,33±0,48**,#

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с нормой; ** — $p < 0,05$ при сравнении эффектов лечения; # — $p < 0,05$ по сравнению с базисным лечением.

Концентрации инсулина в обеих группах больных до и после лечения находилась в пределах нормы. Однако наблюдались тенденции к его возрастанию после проводимой терапии. Так, в 1-й группе уровень инсулина увеличивался на 27% ($p < 0,05$), а во 2-й группе — на 43% ($p < 0,05$). Во всех группах больных имела место гипергликемия. Концентрация глюкозы натощак после базисного лечения уменьшалась в 1,4 раза ($p < 0,05$), а после комбинированной терапии с мелаксеном — в 1,8 раза (U ; $p < 0,05$). Постприандиальный уровень глюкозы после базисного лечения снижался в среднем в 1,4 раза ($p < 0,05$), а после комбинированной терапии с мелаксеном — в 1,7 раза (U ; $p < 0,05$) (см. таблицу). Индекс НОМА-IR в 1-й группе больных был выше нормы в 3,9 раза ($p < 0,05$), во 2-й — в 4 раза ($p < 0,05$). После базисного лечения индекс НОМА-IR уменьшался на 7,3%, после комбинированного лечения с мелаксеном — на 24,6% (U ; $p < 0,05$).

Определение активности каспаз в сыворотке пациентов с НАСГ, развивающимся при СД2, выявило ее значительное возрастание. Так, активность каспазы-1 увеличивалась в 1,7 раза ($p < 0,05$), каспазы-3 — в 1,8 раза ($p < 0,05$) по сравнению с нормой (см. таблицу). Это свидетельствует об усилении интенсивности апоптотических процессов в организме больных. После базисного лечения активность каспазы-1 снижалась в 1,3 раза ($p < 0,05$), однако достоверных изменений активности каспазы-3 выявлено не было. Комбинированное лечение с мелаксеном приводило к снижению активности каспазы-1 в 1,7 раза (U ; $p < 0,05$), каспазы-3 — в 1,6 раза (U ; $p < 0,05$).

Согласно данным электрофоретического анализа, ДНК, выделенная из лейкоцитов больных НАСГ, была фрагментирована по сравнению с ДНК кон-

трольных проб (см. рисунок). В ходе деградации ДНК сначала образуются крупные фрагменты, длиной примерно 300 т.п.н., несколько позже — 30—50 т.п.н. На следующем этапе в ходе межнуклеосомной деградации ДНК под действием кальцийчувствительной эндонуклеазы САД формируются фрагменты длиной 180 п.н. или кратные им. Именно эти фрагменты электрофоретически выявляются в виде «апоптотной лестницы», представленной столбцом 2. После базисной терапии наблюдалось снижение степени фрагментации ДНК, свидетельствующее о положительном эффекте лечения. Таким образом, включение мелаксена в базисную терапию приводило к значительно более выраженному уменьшению активностей каспазы-1, каспазы-3 и степени фрагментации ДНК, что может быть свидетельством антиапоптотического действия данного препарата.

Обсуждение

Результаты проведенного исследования показали, что наряду с цитолитическим синдромом, нарушениями липидного и углеводного обмена у пациентов с НАСГ определялась фрагментация ДНК лейкоцитов, а также выявлялось повышение активности каспаз, что свидетельствует о существенной роли апоптотических процессов при данной патологии. Считают, что фрагменты ДНК возникают под действием ДНК-фрагментирующих факторов и активированных каспазозависимых эндонуклеаз в терминальной фазе апоптоза [7]. Как известно, подобная фрагментация ДНК может быть связана с протеолитическим расщеплением под действием каспаз и ДНК-топоизомеразы II [14]. Считается, что каспаза-3 является одной из основных эффекторных каспаз апоптоза, которая экспрессируется

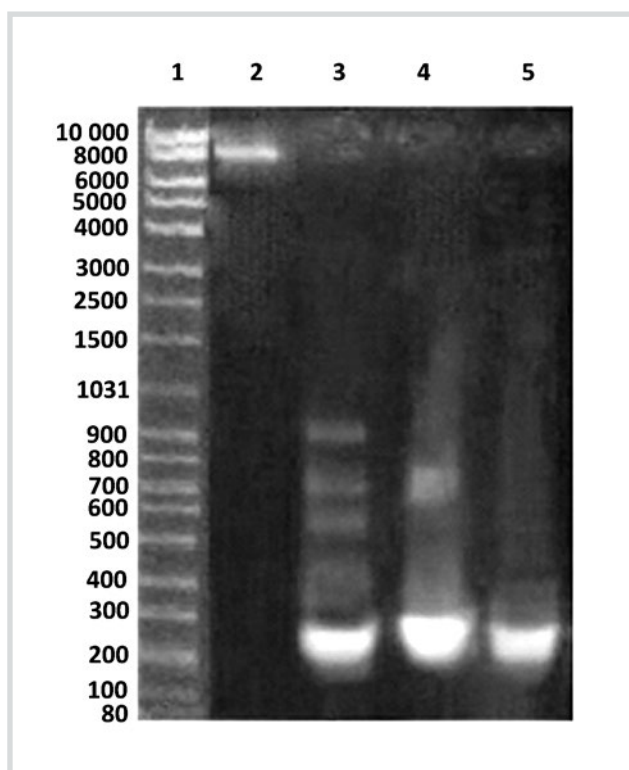


Рисунок. Степень фрагментации ДНК в лимфоцитах крови в норме (2), у больных с НАСГ перед лечением (3), при проведении базисного лечения (4) и комбинированной терапии с мелаксеном (5), (1) — молекулярные массы маркеров.

практически во всех тканях. Это обусловлено воспалительными инфильтратами, в которых значительно повышен уровень активности интерлейкина-18, что приводит к программируемой клеточной гибели. Известно, что каспаза-1 является индуктором интерлейкина-18, и это также способствует развитию одного из путей апоптоза. Причем возрастание уровня интерлейкина-18 сопряжено с повышением активности как каспазы-1, так и каспазы-3 [15].

При базисной терапии, включающей прием гипогликемических препаратов, статинов и гепатопротекторов, наблюдалась нормализация параметров углеводного и липидного обмена, а также активности исследуемых каспаз и степени фрагментации ДНК. Очевидно, что улучшение гликемического профиля, уменьшение липидов крови и выраженности воспалительного процесса в гепатоцитах приводило к снижению выраженности апоптотических процессов.

Однако мелатонин способствовал более выраженному снижению уровня фрагментации ДНК и активности каспаз, благодаря торможению скорости свободнорадикальных процессов и защите молекулы ДНК от действия АФК, о чем свидетельствовали данные, полученные нами как при экспериментальном СД, индуцированном введением прот-

аминасульфата, так и в клиническом исследовании [16—18]. Мелатонин, выступая в качестве сквенджера АФК, в том числе гидроксильного радикала, оказывающего наибольшее повреждающее действие на ДНК [12], способствовал снижению степени активности процессов апоптоза как в гепатоцитах, так и в β -клетках поджелудочной железы. Помимо этого, известно, что мелатонин положительно действует на углеводный и липидный обмен. Так, он может регулировать экспрессию генов белков GLUT-4, увеличивать пролиферацию и неогенез β -клеток, улучшать чувствительность к инсулину [19], а также ингибировать действие оксида азота, занимающего ведущее место в патогенезе атеросклероза [20]. Очевидно, что мелатонин может достаточно быстро проявлять и реализовать свое действие за счет проникновения во все клеточные структуры, включая ядро клетки. Таким образом, имеющиеся данные позволяют сделать вывод, что торможение процессов свободнорадикального окисления и апоптоза при приеме мелаксена сопряжено со снижением степени воспалительного процесса в печени и улучшением липидного и углеводного обмена у больных с НАСГ, развивающимся на фоне СД2.

Заключение

При НАСГ, возникающем на фоне СД2, наблюдаются цитолитический синдром, нарушения углеводного и липидного обмена, активизация апоптотических процессов, подтверждаемая уровнем активности каспазы-1 и каспазы-3, а также степенью фрагментации ДНК. При базисной терапии, включающей прием пероральных гипогликемических препаратов, статинов, витаминов и гепатопротекторов, наблюдалась тенденция к нормализации данных параметров. После назначения мелатонина, входящего в состав препарата мелаксен, происходило более существенное уменьшение фрагментации ДНК и более значимое изменение активности исследуемых каспаз, что было сопряжено с изменением параметров, отражающих степень выраженности цитолитического синдрома, липидного и углеводного обмена в сторону контрольных значений. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об антиоксидантных и антиапоптотических свойствах мелатонина, которые в первую очередь связаны с его способностью обезвреживать АФК и защищать молекулу ДНК от их негативного действия.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Работа поддержана стипендией Президента РФ молодым ученым № СП-1606.2015.4.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов и финансовой заинтересованности, связанной с проведенным исследованием и публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА | REFERENCES

1. Драпкина О.М., Ивашкин В.Т. Эпидемиологические особенности неалкогольной жировой болезни печени в России // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2014. — Т. 24. — №4. — С. 32–38. [Drapkina OM, Ivashkin VT. Epidemiologic features of non-alcoholic fatty liver disease in Russia (Results of open multicenter prospective observational study dirig L 01903). *Russian Journal Of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2014;24(4):32-38. (In Russ.)].
2. Brunt EM. Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010;7(4):195-203. doi: 10.1038/Nrgastro.2010.21
3. Попова Т.Н., Пашков А.Н., Семенихина А.В., и др. Свободнорадикальные Процессы в биосистемах: Учебное пособие. — Старый Оскол: Кириллица; 2008. [Popova TN, Pashkov AN, Semikhina AV, et al. *Svobodnoradikal'nye Protessy V Biosistemakh: Uchebnoe Posobie*. Staryi Oskol: Kirillitsa. 2008. (In Russ.)].
4. Суханова Г.А., Акбашева О.Е. Апоптоз. — Томск: Издательство ТПУ. 2009. [Sukhanova GA, Akbasheva OE. *Apoptosis*. Tomsk: Izdatel'stvo TPU. 2009. (In Russ.)].
5. Мартынова Е.А. Общие представления о роли сфинголипидов в сигнальных путях апоптоза // Патогенез. — 2012. — Т. 10. — №4. — С. 16–28. [Martinova EA. General concept of the role of sphingolipids in the signaling pathways of an apoptosis. *Patogenez*. 2012;10 (4):16-28. (In Russ.)].
6. Dix MM, Simon GM, Wang C, et al. Functional interplay between caspase cleavage and phosphorylation sculpts the apoptotic proteome. *Cell*. 2012;150(2):426-440. doi: 10.1016/J.Cell.2012.05.040
7. Galluzzi L, Vitale I, Abrams JM, et al. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the nomenclature committee on cell death 2012. *Cell Death Differ*. 2012;19(1):107-120. doi: 10.1038/cdd.2011.96
8. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Sanchez-Sanchez JJ, et al. Melatonin and circadian biology in human cardiovascular disease. *J Pineal Res*. 2010;49 (1):14-22. doi: 10.1111/j.1600-079x.2010.00773.x
9. Ferguson SA, Rajaratnam SM, Dawson D. Melatonin agonists and insomnia. *Expert Rev Neurother*. 2010;10(2):305-318. doi: 10.1586/ern.10.1
10. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, et al. Melatonin and reproduction revisited. *Biol Reprod*. 2009;81(3):445-456. doi: 10.1095/biolreprod.108.075655
11. Попов С.С., Пашков А.Н., Агарков А.А. и др. Воздействие эпифамина на показатели иммунного статуса, углеводного и липидного обмена у больных неалкогольным стеатогепатитом, развивающимся при сахарном диабете 2-го типа // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. — 2014. — Т. 8. — №1. — С. 1-7. [Popov SS, Pashkov AN, Agarkov A, et al. The Epifamin effect on values of immune status, carbohydrate and lipid metabolism in the patients with non-alcoholic steatohepatitis developing at type 2 diabetes mellitus. *Journal of New Medical Technologies Journal*. 2014;8(1):1-7. (In Russ.)]. doi: 10.12737/5038
12. Galano A, Tan Dx, Reiter Rj. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *J Pineal Res*. 2011;51(1):1-16. doi: 10.1111/j.1600-079x.2011.00916.x
13. Калинина Т.С., Баннова А.В., Дыгало Н.Н. Количественное определение степени фрагментации ДНК // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2002. — Т. 134. — №12. — С. 641–644. [Kalinina TS, Bannova AV, Dygalo NN. Kolichestvennoe opredelenie stepeni fragmentatsii DNK. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2002;134(12):641-644. (In Russ.)].
14. Ruiz-Vela A, Korsmeyer SJ. Proapoptotic histone H1.2 Induces Casp-3 And -7 Activation by forming a protein complex with Cytc, Apaf-1 and Casp-9. *Febs Lett*. 2007;581(18):3422-3428. doi: 10.1016/j.febslet.2007.06.049
15. Pirhonen J, Sareneva T, Julkunen I, Matikainen S. Virus infection induces proteolytic processing of Il-18 in human macrophages VIA Caspase-1 and Caspase-3 activation. *Eur J Immunol*. 2001;31(3):726-733. doi: 10.1002/1521-4141(200103)31:3<726::aid-immu726>3.0.Co;2-5
16. Агарков А.А., Попова Т.Н., Матасова Л.В. и др. Оценка степени фрагментации ДНК, активности аконитатгидратазы и уровня цитрата при сахарном диабете 2-го типа у крыс и введении мелатонина // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. — 2012. — №3. — С. 21–26. [Agarkov AA, Popova TN, Matasova LV, et al. Estimation of DNA fragmentation, aconitase activity and citrate level under type 2 diabetes at rat and introduction of melatonin. *Rossiski Mediko-Biologicheski Vestnik Imeni Akademika I.P. Pavlova*. 2012;(3):21-26. (In Russ.)].
17. Попов С.С., Шульгин К.К., Пашков А.Н., Агарков А.А. Воздействие мелаксена на активность каспаз и глутатионовой антиоксидантной системы при токсическом поражении печени // Acta Naturae (Русскоязычная Версия). — 2014. — Т. 6. — №2. — С. 118–127. [Popov SS, Shulgin KK, Pashkov AN, Agarkov AA. The effect of melaxen on the activity of caspases and the glutathione antioxidant system in toxic liver injury. *Acta Naturae*. 2014;6(2):110-118. (In Russ.)]. Pmc4115233
18. Попов С.С., Пашков А.Н., Шульгин К.К. Действие мелатонина на активность аконитатгидратазы, содержание продуктов липопероксидации и некоторых неферментативных антиоксидантов в крови больных сахарным диабетом 2-го типа, осложненным стеатогепатитом // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2015. — Т. 79. — №12. — С. 6–10. [Popov SS, Pashkov AN, Shul'gin KK. Effects of melatonin on the aconitase hydratase activity, content of lipid peroxidation products and some non-enzymatic antioxidants in the blood of patients with type 2 diabetes mellitus complicated by steatohepatitis. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2015;79(12):6-10. (In Russ.)].
19. Cipolla-Neto J, Amaral FG, Afeche SC, et al. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. *J Pineal Res*. 2014;56(4):371-381. doi: 1111/jpi.12137
20. Kim JT, Jang HY, Park CK, et al. Melatonin attenuates nitric oxide induced oxidative stress on viability and gene expression in bovine oviduct epithelial cells, and subsequently increases development of bovine IMV/IVF embryos. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2010;24(2):190-197. doi: 10.5713/ajas.2011.10188

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Попов Сергей Сергеевич, к.м.н., доцент [Sergey S. Popov, MD, PhD, assistance professor]; адрес: 394036, Россия, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10 [address: 10 Studencheskaya street, Voronezh, Russia, 394036]; e-mail: popov-endo@yandex.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4438-9201>; eLibrary SPIN-код: 6458-7600.

Пашков Александр Николаевич, д.м.н., профессор [Aleksandr N. Pashkov, MD, PhD, Professor]; e-mail: povgma-pashkov@yandex.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2454-0397>; eLibrary SPIN-код: 1089-6438.

Есауленко Игорь Эдуардович, д.м.н., профессор [Igor E. Esaulenko, MD, PhD, Professor]; e-mail: rector@vsmaburdenko.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2424-2974>; eLibrary SPIN-код: 9361-66140.

Попова Татьяна Николаевна, д.м.н., профессор [Tatiana N. Popova, MD, PhD, Professor]; e-mail: popova@bio.vsu.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9660-3054>; eLibrary SPIN-код: 7430-0696.

Агарков Александр Алексеевич, к.м.н., доцент [Aleksandr A. Agarkov, MD, PhD, assistance professor]; e-mail: agalalek@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5774-7971>; eLibrary SPIN-код: 1385-3918

Купцова Галина Николаевна, ассистент кафедры [Galina N. Kuptsova, MD]; e-mail: kuptsova_galina.nik@yandex.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0530-4594>; eLibrary SPIN-код: 9379-3360.

ИНФОРМАЦИЯ

Рукопись получена: 14.03.2016. Одобрена к публикации: 27.12.2016.

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Попов С.С., Пашков А.Н., Есауленко И.Э., Попова Т.Н., Агарков А.А., Купцова Г.Н. Антиапоптотическое действие мелатонина при неалкогольном стеатогепатите, развивающемся при сахарном диабете 2-го типа // Проблемы эндокринологии. — 2017. — Т. 63. — №3. — С. 162—168.

doi: [10.14341/probl2017633162-168](https://doi.org/10.14341/probl2017633162-168)

TO CITE THIS ARTICLE:

Popov SS, Pashkov AN, Esaulenko IE, Popova TN, Agarkov AA, Kuptsova GN. Melatonin antiapoptotic effect at non-alcoholic steatohepatitis, developing under type 2 diabetes mellitus. *Problems of Endocrinology*. 2017;63(3):162-168

doi: [10.14341/probl2017633162-168](https://doi.org/10.14341/probl2017633162-168)