Мембранопротекторное действие глатирамера ацетата при рассеянном склерозе

Ю.И. КРАВЦОВ, О.А. КИЧЕРОВА

Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера

The membrane stabilizing effect of glatiramer acetate in multiple sclerosis

YU.I. KRAVTSOV, O.A. KICHEROVA

Perm State Medical Academy named after Acad. E.A. Wagner

Изучено влияние глатирамера ацетата на структуру липидной фазы клеточных мембран эритроцитов, состояние процессов перекисного окисления липидов и систему антиоксидантной защиты у больных ремиттирующей формой рассеянного склероза. Показано, что на фоне применения глатирамера ацетата снижаются исходно повышенный уровень фосфолипазы А2 и концентрация продуктов перекисного окисления липидов — диеновых конъюгатов и шиффовых оснований. Одновременно на фоне повышения исходно сниженной активности системы антиоксидантной защиты нормализуется структура эритроцитарных мембран. На основании анализа динамики лабораторных показателей доказано мембранопротекторное действие препарата при ремиттирующем рассеянном склерозе.

***Ключевые слова**: рассеянный склероз, глатирамера ацетат, нейропротекция.*

The effect of glatiramer acetate on the structure of the lipid phase of cell membranes of red blood cells, the status of lipid peroxidation and antioxidant defense system in patients with relapsing forms of multiple sclerosis. It is shown that during treatment with glatiramer acetate reduces the initially high, level of phospholipase A2, and the concentration of lipid peroxidation products — diene conjugates and Schiff bases. At the same time against the increase initially reduced activity of the antioxidant defense normal structure of erythrocyte membranes in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. Based on the analysis of the dynamics of laboratory parameters proved membranoprotektiv effect the drug.

***Key words:** multiple sclerosis, glatiramer acetate, neuroprotection.*

Рассеянный склероз по-прежнему остается одной из самых частых причин инвалидизации у людей молодого возраста. В последние годы происходит трансформация взглядов на природу этого тяжелого заболевания. И прежде всего это касается представлений о том, что рассеянный склероз является не только воспалительным заболеванием, но и нейродегенеративным [12]. В основе нейродегенерации при рассеянном склерозе лежит повреждение аксонов и нейронов, которое имеет свои особенности у разных больных. Перспективным направлением в лечении рассеянного склероза является применение препаратов, способных замедлить нейродегенерацию, а следовательно — прогрессирование патологического процесса при рассеянном склерозе. Одним из таких препаратов является глатирамера ацетат (копаксон). Вполне возможно, что свой клинический эффект глатирамера ацетат реализует не только путем влияния на аутоиммунные механизмы РС, но и на нейродегенеративный процесс, т.е. действует и как нейропротектор. Подтверждением этому могут являться фундаментальные исследования, проведенные в последние десятилетия, которые продемонстрировали благоприятное влияние глатирамера ацетата на такие клинические проявления заболевания, как прогрессирование инвалидизации, трансформация очагов в стойкие «черные дыры», прогрессирование атрофических процессов в головном и спинном мозге, нарастание когнитивных нарушений [4, 11, 12, 14—18].

Цель настоящего исследования — изучение влияния глатирамера ацетата на мембранодестабилизирующие процессы и состояние системы антиоксидантной защиты у больных ремиттирующей формой РС (РРС).

Материал и методы

В течение 2 лет наблюдали 46 пациентов с РРС по критериям Мак Дональда (2005) в возрасте от 18 до 49 лет (медиана — 37 лет).

Глатирамера ацетат на фоне обычной комплексной терапии получали 23 пациента (основная группа). Группу сравнения составили 23 пациента, которым препараты, изменяющие течение рассеянного склероза (ПИТРС), в том числе глатирамера ацетат, не назначались. Контрольную группу составили 20 здоровых, которые обследовались однократно.

Обследование больных осуществлялось в режиме мониторирования как в основной группе, так и в группе

© Ю.И. Кравцов, О.А. Кичерова, 2013

Тел.: +7 (495) 212-5576

сравнения по следующей схеме: до назначения глатирамера ацетата (в группе сравнения — до начала исследования), затем на протяжении первых 6 мес исследования — ежемесячно, последующие 1,5 года — 1 раз в 3 мес.

Ввиду недоступности нервной ткани для биохимического исследования в качестве модели использовали эритроциты 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 РС определяли общее содержание липидов с помощью стандартных наборов Био-Ла-Тест.

Исследовали следующие биохимические показатели: 1. Уровень антиоксидантной защиты оценивали на основании: а) определения содержания альфа-токоферола — жирорастворимого антиоксиданта [8]; б) исследования активности супероксиддисмутазы — фермента антирадикальной защиты [10]; в) исследования активности каталазы — фермента антиперекисной защиты [3]; г) исследования активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [1]. 2. Структуру липидной фазы эритроцитарных мембран оценивали на основании определения содержания фосфолипидов в мембранах эритроцитов методом тонкослойной хроматографии на силикагеле [5] и определения холестерина методом, основанным на реакции Златкиса [7]. 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 [9], а также концентрации шиффовых оснований (ШО) [6]. 4. Исследовали фосфолипазную активность эритроцитов (ФЛА2) [2].

Статистический анализ проведен с помощью стандартного пакета программ SAS 8,0 (SAS Inc., США). Использовали критерии t и χ^2. Результаты считали достоверными при $p<0,05$.

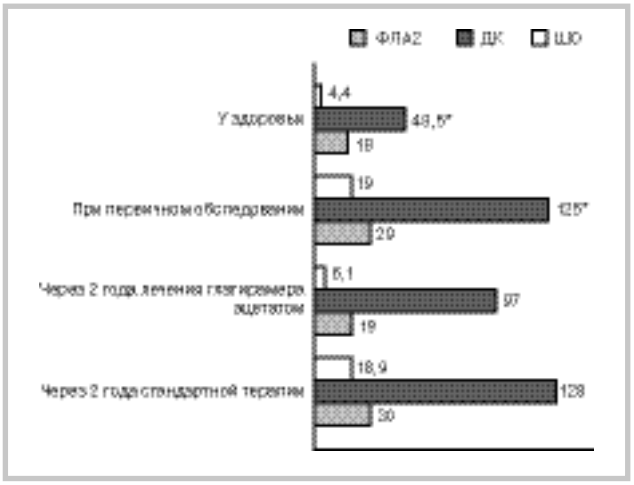

Рис. 1. **Активность фосфолипазы А2 и содержание липопероксидей в мембранах эритроцитов у больных РРС на фоне лечения.**

Результаты и обсуждение

В процессе 2-летнего наблюдения была установлена тенденция к снижению исходно повышенного уровня активности фосфолипазы А2 и уменьшению содержания продуктов ПОЛ (ДК и ШО) в мембранах эритроцитов у пациентов основной группы на фоне лечения глатирамера ацетатом, наиболее выраженная к концу 2-го года наблюдения **(рис. 1)**. В группе сравнения сохранялись высокие показатели активности фосфолипазы и содержания продуктов ПОЛ, достоверно отличные от параметров нормы. Эти данные свидетельствуют о сохраняющейся дестабилизации клеточных мембран на фоне проводимой стандартной терапии и о способности глатирамера ацетата корригировать эти изменения.

Анализ состояния отдельных звеньев системы антиоксидантной защиты у больных РРС дал возможность выявить положительные тенденции в результате применения глатирамера ацетата в комплексе лечебных мероприятий **(рис. 2)**. Так, при исходно сниженном уровне активности ферментов антиоксидантной защиты и истощении пула альфа-токоферола в мембранах эритроцитов у больных РРС на фоне применения глатирамера ацетата было установлено повышение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, супероксиддисмутазы, каталазы, начиная с конца 1-го—2-го месяца от начала лечения, и далее стабильно в процессе 2-летнего наблюдения.

Отмечалось также постепенное повышение содержания альфа-токоферола в мембранах эритроцитов больных РС в основной группе. В то же время в группе сравнения выявлялись низкий уровень активности ферментов антиоксидантной защиты и истощение пула альфа-токоферола как на старте, так и в финале исследования.

Полученные данные в целом позволяют утверждать, что применение глатирамера ацетата в комплексе лечения способствует уменьшению проявления «оксидантного

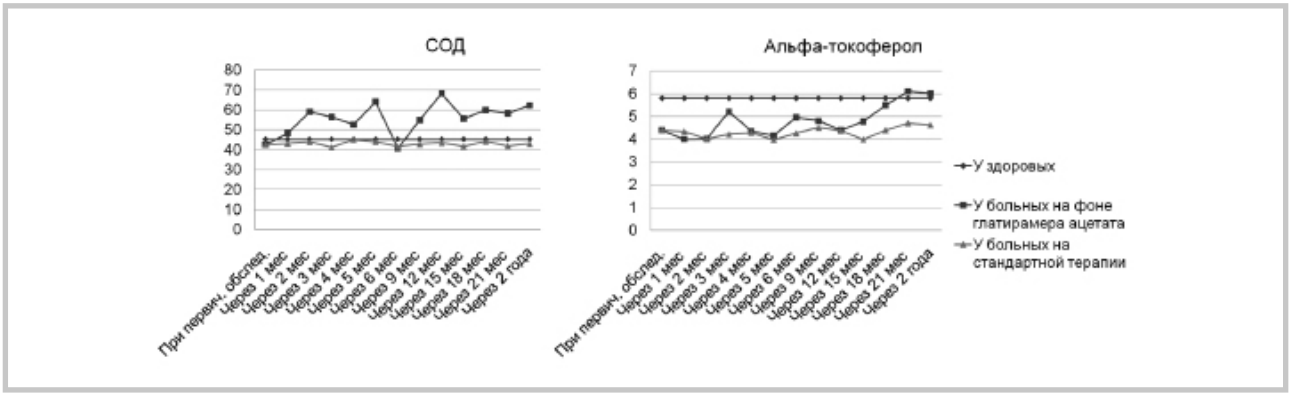

Рис. 2. **Динамические показатели системы антиоксидантной защиты у больных РРС.**

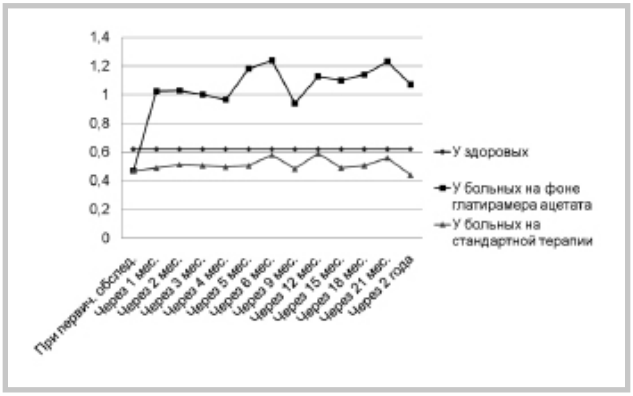

Рис. 3. **Содержание общих фосфолипидов в эритроцитарных мембранах у больных РРС на фоне лечения.**

стресса» в организме больных РРС, а также препятствует истощению пула альфа-токоферола, что косвенно оказывает мембранопротекторное действие.

Подтверждением мембранопротекторного действия глатирамера ацетата являются изменения в структуре липидной фазы эритроцитарных мембран на фоне применения изучавшегося препарата **(рис. 3)**.

Было установлено, что уже через 1 мес от начала лечения статистически достоверно увеличивалась сумма фосфолипидов в мембранах эритроцитов по сравнению со стартовым показателем, что может свидетельствовать о ресинтезе основных фракций фосфолипидов, а следовательно, и суммарной фракции (общие фосфолипиды). При этом было выявлено повышение содержания в мембранах эритроцитов всех анализируемых фракций фосфолипидов не только по сравнению с аналогичными показателями у больных РРС до назначения глатирамера ацетата, но и по сравнению со здоровыми. Указанные изменения могут являться отражением как процессов ресинтеза фосфолипидов в мембранах эритроцитов, так и в целом процессов ремиелинизации в ЦНС.

Таким образом, полученные данные являются обоснованием мембранопротекорного действия глатирамера ацетата при РС, что существенно расширяет представления о механизмах действия препарата. Он обеспечивает мембранопротекцию за счет ограничения мембранодестабилизирующих процессов и антиоксидантный эффект.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Асатиани.* Ферментные методы анализа. М 1969; 740.
2. *Брокерхоф Х., Дженсен Р.* Липолитические ферменты. М: Мир 1978; 398.
3. *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: 10—19.
4. *Елагина И.А., Шмидт Т.Е.* Утомляемость при рассеянном склерозе. Неврологический журнал 2008; 13: 1: 37—45;
5. *Медди Э., Мэдди Э.* Биохимическое исследование мембран. М: Мир 1979; 227—249.
6. *Меерсон Ф.З.* Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М: Медицина 1984; 270.
7. *Меньшиков В.В.* Лабораторные методы исследования в клинике. М: Медицина 1987; 365.
8. *Рудакова-Шилина Н.К., Матюкова Л.Д.* Оценка антиоксидантной системы организма. Лаб дело 1982; 1: 19—22.
9. *Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. М: Медицина 1977; 66—68.
10. *Чумаков В.С., Осинская Л.Ф.* Активность цинк и медь-содержащей супероксиддисмутазы в тканях крыс в норме и при гипоксии. Вопросы мед химии 1979; 8: 261—265.
11. *Шмидт Т.Е.* Когнитивные нарушения и попытки их коррекции при рассеянном склерозе. Журн неврол и психиат 2005; 3: 34—41.
12. *Шмидт Т.Е., Яхно Н.Н.* Рассеянный склероз. М: МЕДпресс-информ 2010; 267.
13. *Шмидт Т.Е.* Нейродегенерация при рассеянном склерозе и нейропротективное действие глатирамера ацетата. Журн неврол и психиат (Спецвыпуск) 2012; 2: 9.
14. *Aharoni R., R Eilam., Stock A. et al.* Glatiramer acetate augments remyelination and prevents motorneuron loss in mice with EAE. MSJ 2011; 17: Suppl 10: 498.
15. *Coustans M., Leray E., Le Page E. et al.* Both relapsing-remitting and primary progressive MS are a two-stage disease, suggesting two consecutive mechanisms underlying progression of disability in MS. MSJ 2004; 10: Suppl 2: 70.
16. *Ford C., Johnson K., Brooks B. et al.* Sustained efficacy and tolerability of glatiramer acetate in relapsing-remitting multiple sclerosis patients over 10 years. Proceeding of 19 th Annual Meeting of the ECTRIMS 2003; 485.
17. *Khan O., Shen Y., Caon C. et al.* Axonal metabolic recovery and potential neuroprotective effect of glatiramer acetate in relapcing-remitting multiple sclerosis. MS 2005; 646—651
18. *Rovaris M.* Monitoring MS pathology using magnetic resonance imaging. Therapeutic strategies in MS: from neuroprotection to long term efficacy 2004; 11—16.