

УДК 616.89-008.441.13:612-092.18

ГЛУТАТИОН-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ АЛКОГОЛИЗМЕ

¹Ефременко Е.С., ¹Жукова О.Ю., ²Титов Д.С., ²Никонов Д.А.,
¹Сидоров Г.Г., ¹Андреев К.А.

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, Омск, e-mail: bx-osma@mail.ru;

²БУЗ Омской области «Наркологический диспансер», Омск

При острой алкоголизации и при формировании хронического алкоголизма происходит интенсификация реакций, в которых образуются свободные радикалы. Тиоловый компонент антиоксидантной системы представлен глутатионом в восстановленной форме. У больных, находящихся на лечении в наркологическом диспансере с диагнозом: «Психические и поведенческие расстройства в результате употребления алкоголя, средняя стадия. Синдром активной зависимости. Состояние отмены, неосложненное, средней степени тяжести» (F.10.242, F.10.302) для формирования представлений о функциональной активности глутатионовой антиоксидантной системы при алкогольной абстиненции были оценены: а) содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах и б) активность ферментов, для которых субстратом является глутатион, в значительной степени определяющий функциональную способность антиоксидантной системы адекватно реагировать на изменения в продукции свободных радикалов. В ранние сроки исследования глутатионпероксидазная активность увеличена и отмечается уменьшением каталитического действия глутатионредуктазы. Результаты проведенных анализов выявили патологические изменения в функционировании системы глутатиона, с которыми может быть связана интенсификация свободнорадикальных повреждений клеточных структур и молекул. Формирование окислительного стресса при воздействии этилового алкоголя сопряжено с возникновением структурных и функциональных нарушений практически всех систем живого организма, поэтому оценка глутатионового статуса в аспекте развития нарушения функций соединений чрезвычайно важна. Нозологической формой, значение которой в медицинском и социальном планах существенно, считается сахарный диабет. При этом заболевании ключевая роль отводится нарушению работы клеток в условиях окислительного стресса, поэтому была осуществлена оценка параметров глутатионового обмена у алкоголизированных крыс, у которых был смоделирован аллоксановый сахарный диабет. Нами показано увеличение степени окислительного стресса в печеночной ткани в данных условиях.

Ключевые слова: алкоголизм, алкоголь, алкогольный абстинентный синдром, алкогольная интоксикация, алкогольная зависимость, свободнорадикальное окисление, свободные радикалы, антиоксиданты, глутатион, сахарный диабет

GLUTATHIONE-DEPENDENT ANTIOXIDANT DEFENSE MECHANISMS IN ALCOHOLISM

¹Efremenko E.S., ¹Zhukova O.Yu., ²Titov D.S., ²Nikonov D.A.,
¹Sidorov G.G., ¹Andreev K.A.

¹Federal State Funded Educational Institution for Higher Education

Omsk State Medical University Ministry of Public Health, Omsk, e-mail: bx-osma@mail.ru;

²Budgetary healthcare institution Omsk region «Narcological dispensary», Omsk

Activation of free radical processes identified in acute and chronic alcohol intoxication. One of the most important components of the antioxidant system is the glutathione system. Patients with alcohol withdrawal syndrome assessed the level of reduced glutathione and activity of glutathione-dependent enzymes in the blood with the aim of ascertaining the system state of glutathione in alcoholic withdrawal syndrome. There is a decrease in the content of reduced glutathione in erythrocytes in all stages of the study. In the initial period of the development of alcohol withdrawal revealed increased activity of glutathione peroxidase and decreased the activity of glutathione reductase. To clarify the mechanisms of these disorders, we studied the level of reduced glutathione and activity of enzymes of its metabolism in the liver of rats under modeling of alcohol dependence. The results of experimental studies indicate violations in the metabolic system of glutathione, resulting in the activation of free radical oxidation under the conditions of modeling of alcohol dependence. Such a change in oxidative status may play an important role in the development of lesions of various organs and systems of the body during alcohol intoxication. One of the common diseases, the development of which are characterized by development of oxidative stress is diabetes mellitus. In this regard, conducted the experimental study as metabolism of glutathione in the liver, with alcoholism on the background of diabetes. It is established that alcoholism on the background of diabetes mellitus leads to a rapid progression of oxidative stress in the liver.

Keywords: alcoholism, alcohol, alcohol withdrawal syndrome, alcohol intoxication, alcohol dependence, free radical oxidation, free radicals, antioxidants, glutathione, diabetes mellitus

Генерация определенного количества веществ свободнорадикального характера в клетках способствует выполнению клеточных функций. Формирование нарушений

при реагировании свободнорадикальных молекул с различными белками, рецепторами, сигнальными факторами происходит при многих нозологических формах [1].

Для широкого ряда заболеваний патологическое изменение глутатионного статуса может играть главную роль в определении симптоматики и тяжести процесса [2]. Профессор В.Х. Хавинсон [3] приводит список и болезней свободных радикалов и определяет свободнорадикальную концепцию формирования признаков заболеваний. Учитывая высокие эпидемиологические показатели распространенности алкоголизма и особенности метаболических нарушений, очевидно, что данный список содержит упоминания об интоксикациях экзогенного характера.

При алкоголь-индуцированном образовании свободных радикалов их устранение может быть неэффективным [4]. В этом аспекте важность приобретают все компоненты антиоксидантной защиты. Серосодержащие составляющие системы объединены в систему глутатиона – трипептида специфического строения с небольшой молекулярной массой и имеющей многогранное функциональное значение с преобладающим влиянием на свободнорадикальные процессы [5]. Выявление функциональной эффективности глутатионовой защиты целесообразно при формировании синдрома физической зависимости от алкоголя.

Цель исследования: выяснение состояния системы глутатиона при алкогольном абстинентном синдроме.

Задачи исследования:

- 1) оценка уровня восстановленного глутатиона в эритроцитах больных алкоголизмом;
- 2) определение активности ферментов обмена глутатиона в крови пациентов, страдающих алкоголизмом.

Материалы и методы исследования

70 пациентов с формулировкой диагноза «Психические и поведенческие расстройства в результате употребления алкоголя, средняя стадия. Синдром активной зависимости. Состояние отмены, неосложненное, средней степени тяжести» (F.10.242, F.10.302).

Взятие крови у данных пациентов осуществлялось в первые, третьи, пятые и десятые сутки пребывания в наркологическом отделении. В связи с этим больные были разделены на группы A1, A3, A5, A10.

Определение содержания глутатиона в восстановленной форме и уровня интенсивности действия антиоксидантных ферментов проводилось в осмотическом гемолизате красных клеток крови. В группу сравнения вошли 10 здоровых доноров.

Результаты исследования и их обсуждение

Отмечается уменьшение концентрации глутатиона в восстановительной форме в группе A1 на 14% ($pU < 0,01$). Уровень активности глутатионпероксидазы в этой

же группе повышен в 1,5 раз при сопоставлении с группой сравнения. Сопровождает данные изменения низкая эффективность рециклирования глутатиона в указанной группе пациентов.

Пациенты группы A3 и A10 также проявляют уменьшенное содержание глутатиона. В группе A10 глутатионредуктазная активность увеличивается, но, вероятно, в недостаточной степени для восстановления уровня глутатиона. Объяснением этого может быть интенсивное потребление восстановительного глутатиона при функционировании глутатион-S-трансферазы.

Выявление изменений глутатионного статуса определяют нарушение протекторных функций компонентов с антиоксидантной активностью у больных алкоголизмом.

Экспериментальное установление принципов формирования антиоксидантной недостаточности было осуществлено на модели развития состояния физической зависимости от алкоголя по А.Х. Абрашину (1986).

Для этого в ткани печени были определены показатели обмена глутатиона: содержание восстановленного глутатиона по J. Sedlak (1968), активности глутатионредуктазы по I. Carlberg (1985), глутатионпероксидазы по P. Paglia et al. (1967), глутатион-S-трансферазы по W. Habig (1974). Оценка осуществлена через 1, 2, 3, 5 сутки после завершения алкоголизации. В соответствии с этим животные были разделены на группы A1, A2, A3, A5.

Содержание глутатиона уменьшено в группе A1 в 2,3 раза ($pU < 0,05$) при сопоставлении с данными животных группы сравнения, которые получали воду в эквивалентном количестве.

Сниженная глутатионтрансферазная активность в данной группе животных может быть обусловлена понижением уровня глутатиона.

Взаимосвязанность указанных параметров сопряжена с их одновременным возвращением к уровню группы A2. В группе A5 активность глутатионпероксидазы повышена на 14% ($pU < 0,05$) по сравнению с группой контрольных животных.

Вариантами причин, обуславливающих нарушения в обмене глутатиона, могут быть молекулярные события, связанные с образованием аддуктов глутатиона с ненасыщенными реактивными альдегидами, которые относятся к биологическим маркерам перекисного окисления липидов клеток [6].

Также определенный вклад в изменение глутатионного обмена и общей антиоксидантной емкости крови вносит значительное увеличение интенсивности протекания

глутатион-S-трансферазной реакции при алкогольной абстиненции, в которой, вероятно, происходит усиленное потребление восстановленной формы глутатиона [7].

Кроме того, отмечено, что повышение скорости катаболизма цистеина до таурина при введении этилового спирта может способствовать существенному уменьшению содержания восстановленного глутатиона в клетках печени, в результате субстрат-зависимого нарушения биосинтеза глутатиона [8].

В подтверждение этих данных имеются указания на быстрое возвращение к нормальным значениям тканевого уровня общего и восстановленного глутатиона при экспериментальном использовании процистеина в период отмены этанола [9].

В поддержании стабильного уровня биосинтеза глутатиона в клетках также принимает участие путь транссульфирования гомоцистеина.

Исходным веществом для образования гомоцистеина является метионин. Процесс реметилирования гомоцистеина, ускоряемый метионинсинтазой, обеспечивает регенерацию метионина.

Выявленное ингибирование активности данного фермента при экспериментальном моделировании алкогольной зависимости имеет метаболические последствия в плане снижения эффективности реакции транссульфирования гомоцистеина и, соответственно, образования глутатиона [10].

Роль интрацеллюлярного глутатиона в отношении развития адаптивных метаболических изменений при воздействии этанола на клетку достаточно высока.

Существует мнение о повышении чувствительности клеток к повреждающему действию этилового алкоголя и срыве адаптационных возможностей при падении содержания данного трипептида. Наличие в среде клетки достаточного количества аминокислот, которые являются исходными для синтеза глутатиона, восстанавливает содержание трипептида до функционально эффективного значения [11].

Нередко различные соматические заболевания сопровождаются избыточным потреблением алкоголя, формируя значительную часть коморбидной патологии. В значительной степени распространена данная ситуация у пациентов, страдающих сахарным диабетом, оценка воздействия алкоголя на метаболические процессы у данной категории больных является актуальной.

В связи с этим был осуществлен эксперимент, касающийся оценки глутатионового обмена в печеночной ткани при

моделировании алкоголизма в условиях аллоксанового сахарного диабета.

Для эксперимента использовали 238 белых беспородных крыс-самцов с массой не более 200 г. Моделирование состояния сахарного диабета осуществлялось внутрибрюшинным введением тетрагидрата аллоксана в дозе 160 мг/кг массы животного.

Раствор этилового спирта (20%) для формирования метаболических эффектов алкоголя вводили аналогичным образом. Доза составила 2 г/кг, что соответствовало одной четвертой полудетальной дозы.

Распределение животных было осуществлено в пределах четырех групп. Группа К получала раствор натрия хлорида (0,9%, 1 мл). Группа А – животные, у которых применялось введение алкоголя. Группа СД была представлена животным, у которых проводилось моделирование недостатка метаболических эффектов инсулина. Группа СДА – животные, подвергшиеся алкоголизации на фоне аллоксанового сахарного диабета.

Выведение животных из эксперимента проводили через сутки после завершения требуемых манипуляций путем цервикальной дислокации под эфирным наркозом. Определение необходимых параметров глутатионового статуса (уровень восстановленного глутатиона, количество доступных сульфгидрильных групп, активность глутатионпероксидазы, гаммаглутамилтрансферазы, глутатионтрансферазы осуществляли в митохондриальной и надмитохондриальной фракциях печеночной ткани.

Анализ полученных данных экспериментального моделирования показывает, что в группе А выявлено увеличение уровня глутатиона в первые сутки на 45,1% ($pU < 0,001$). Однако уже на третьи сутки алкоголизации содержание данного трипептида снижено в 2,5 раза ($pU < 0,001$). К седьмым суткам показано возвращение восстановленного глутатиона к значениям группы сравнения.

Поступление этилового спирта в организм животных в условиях моделирования сахарного диабета проявилось повышенным содержанием восстановленной формы глутатиона в печеночной ткани на 40,8% через трое суток исследования при сравнении с данными группы СД.

Существует зависимость уровня тиолсодержащих соединений низкой молекулярной массы от эффективности действия энзимов, относящихся к глутатионовой антиоксидантной системе.

Так, в группе А выявлено уменьшение активности глутатионпероксидазы цито-

золя на 7,4% по сравнению с контролем. В группе СДА, вероятно, происходит более быстрое формирование состояния окислительного стресса, что выражается повышением активности глутатион-S-трансферазы и глутатионпероксидазы.

Данное обстоятельство приводит к нарушению адаптационных возможностей, проявляющемуся в том, что функциональная эффективность действия указанных выше ферментов снижается и происходит уменьшение уровня доступных сульфгидрильных групп по сравнению с данными, полученными при изолированном моделировании сахарного диабета.

Таким образом, в результате эксперимента по определению параметров глутатионного статуса печени алкоголизированных крыс при моделировании аллоксанового диабета было установлено:

а) повышение активностей глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы в ранние сроки алкоголизации;

б) резкое снижение активности указанных выше ферментов в поздние сроки исследования, указывающее на выраженное отрицательное влияние алкоголя в отношении показателей, что приводит к срыву компенсаторных механизмов, направленных на восстановление физиологического состояния метаболизма.

Список литературы

1. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник РАМН. 1998. № 7. С. 43–51.
2. Пожилова Е.В., Новиков В.Е., Левченкова О.С. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2015. Т. 2. № 14. С. 13–22.
3. Хавинсон В.Х., Барин В.А., Арутюнян А.В., Малинин В.В. Свободнорадикальное окисление и старение. СПб.: Наука, 2003. 327 с.
4. Сазонтова Е.Г., Стряпко Н.В., Архипенко Ю.В. Коррекция нарушений, вызванных длительной алкоголизацией, с помощью гипоксии-гипероксии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016. Т. 162. № 11. С. 573–577.
5. Мазо В.К. Глутатион как компонент антиоксидантной системы желудочнокишечного тракта // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1998. № 1. С. 47–52.
6. Long E., Rosenberger T., Picklo M. Ethanol withdrawal increases glutathione adducts of 4-hydroxy-2-hexenal but not 4-hydroxy-2-nonenal in the rat cerebral cortex. *Free Radic. Biol. Med.* 2010. Vol. 48 (3). P. 384–390.
7. Peter N., Chiramel K. Effect of alcohol withdrawal on glutathione-S-transferase, total antioxidant capacity and amylase in blood and saliva of alcohol-dependent males. *J. Clin. Diagn. Res.* 2013. Vol. 7 (5). P. 797–800.
8. Ahn C., Kwon D., Jun D., Lee Y., Kim Y. Enhancement of cysteine catabolism into taurine impacts glutathione homeostasis in rats challenged with ethanol. *Amino Acids.* 2015. Vol. 47 (6). P. 1273–1277.
9. Otis J., Guidot D. Pro-cysteine increases alcohol-depleted glutathione stores in rat plantaris following a period of abstinence. *Alcohol Alcohol.* 2010. Vol. 45 (6). P. 495–500.
10. Waly M., Kharbada K., Deth R. Ethanol lowers glutathione in rat liver and brain and inhibits methionine synthase in a cobalamin-dependent manner. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2011. Vol. 35 (2). P. 277–283.
11. Saharan R., Kanwal S., Sharma S. Role of glutathione in ethanol stress tolerance in yeast *Pachysolen tannophilus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010. Vol. 397 (2). P. 307–310.