

УДК 616.89-008.441.13-07:616.36-008.811.6+616.153.1:577.153.3

## ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА И ФЕРМЕНТЫ ХОЛЕСТАЗА ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

*Н.А. Терехина<sup>1\*</sup>, Е.В. Жидко<sup>1</sup>, Г.А. Терехин<sup>2</sup>, А.Г. Орбиданс<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера,

<sup>2</sup>Пермская государственная фармацевтическая академия, Россия

## GLUTATHIONE SYSTEM INDICES AND CHOLESTASIS ENZYMES IN ACUTE ALCOHOLIC INTOXICATION

*N.A. Terekhina<sup>1\*</sup>, E.V. Zhidko<sup>1</sup>, G.A. Terekhin<sup>2</sup>, A.G. Orbidans<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Perm State Medical University named after E.A. Wagner,

<sup>2</sup>Perm State Pharmaceutical Academy, Russian Federation

**Цель.** Оценить в эксперименте изменения показателей системы глутатиона и активности ферментов холестаза при остром отравлении этанолом и при острой алкогольной интоксикации на фоне предварительной алкоголизации.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на 64 белых крысах. Моделировали острую интоксикацию этанолом на интактных животных и на фоне предварительной алкоголизации. Острое отравление вызывали внутрижелудочным введением 40 % раствора этанола в дозе 0,5 LD<sub>50</sub>. В плазме крови спектрофотометрически определяли активность гамма-глутамилтранспептидазы и лейцинаминопептидазы, в эритроцитах крови фиксировали содержание восстановленного глутатиона и активность глутатионредуктазы.

**Результаты.** При остром отравлении этанолом в плазме крови увеличивается активность лейцинаминопептидазы и гамма-глутамилтранспептидазы, в эритроцитах повышается содержание глутатиона. При острой интоксикации этанолом на фоне предварительной алкоголизации содержание глутатиона в эритроцитах снижается, активность гамма-глутамилтранспептидазы остается повышенной, а активность лейцинаминопептидазы, глутатионредуктазы достоверно не отличается от контроля.

**Выводы.** Определение содержания восстановленного глутатиона в эритроцитах периферической крови и активности ферментов холестаза в плазме крови имеет значение для определения тяжести цитотоксического поражения печени и развития холестаза при острой алкогольной интоксикации.

**Ключевые слова.** Глутатион, ферменты холестаза, алкогольная интоксикация.

**Aim.** The aim of the study was to assess in experiment the changes in glutathione system and activity of cholestasis system in acute alcoholic intoxication against the background of preliminary alcoholization.

**Materials and methods.** The study was performed on 64 white rats. Acute ethanol intoxication was modeled on intact animals against the background of preliminary alcoholization. Acute poisoning was caused by intragastric introduction of 40 % ethanol solution in the dose of 0,5 LD<sub>50</sub>. Gamma-glutamyltranspeptidase

© Терехина Н.А., Жидко Е.В., Терехин Г.А., Орбиданс А.Г., 2016

тел. 8 (342) 282-46-36

e-mail: terekhina@list.ru

[Терехина Н.А. (\*контактное лицо) – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой биохимии; Жидко Е.В. – аспирант кафедры биохимии; Терехин Г.А. – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой экстремальной медицины и товароведения; Орбиданс А.Г. – старший преподаватель кафедры экстремальной медицины и товароведения].

and leucinaminopeptidase activity was determined spectrophotometrically in blood plasma, reduced glutathione content and glutathionreductase activity were assessed in blood erythrocytes.

**Results.** In case of acute ethanol poisoning, blood plasma leucinaminopeptidase and gamma-glutamyltranspeptidase activity was raised, erythrocyte glutathione content was increased. In case of acute ethanol intoxication against the background of preliminary alcoholization, erythrocyte glutathione content is decreased, gamma-glutamyltranspeptidase activity remained elevated, but leucinaminopeptidase and glutathionreductase activity did not significantly differ from the control.

**Conclusions.** Determination of reduced glutathione content in peripheral blood erythrocytes and cholestasis enzymes activity in blood plasma is significant for the assessment of severity of cytotoxic hepatic lesion and development of cholestasis in acute alcoholic intoxication.

**Key words.** Glutathione, cholestasis enzymes, alcoholic intoxication.

## ВВЕДЕНИЕ

Окислительному стрессу принадлежит ведущая роль в формировании цитотоксических эффектов этанола [1, 6, 11, 12.]. Острая интоксикация этанолом изменяет состояние антиоксидантной защиты организма [1, 5, 6, 10, 11]. Этанол повреждает биологические мембраны, в том числе мембраны эритроцитов и гепатоцитов [7, 9, 10]. При активации процессов свободнорадикального окисления изменяется проницаемость эритроцитарных мембран. Особое место в антиоксидантной защите организма занимает система глутатиона, включающая глутатион и ферменты его метаболизма. Система глутатиона – естественная цитопротекторная система в условиях острых интоксикаций [2]. В основе нарушений обмена глутатиона лежит реализация цитотоксических эффектов действия этанола. Содержание восстановленного глутатиона в организме меняется при заболеваниях гепатобилиарного тракта [1, 3, 4, 8]. Установлено, что при алкоголизме нарушается обмен глутатиона [1]. В эритроцитах крови подростков увеличивается уровень восстановленного глутатиона в течение первых трех суток после острой алкогольной интоксикации [11]. Вместе с тем данных об изменении показателей системы глутатиона при остром отравлении этанолом на фоне предварительной алкоголизации в литературе не найдено.

*Цель работы* – оценить в эксперименте изменения показателей системы глутатиона и активности ферментов холестаза при остром отравлении этанолом и при острой алкогольной интоксикации на фоне предварительной алкоголизации.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 64 белых крысах массой 150–220 г. Животные содержались на смешанном сбалансированном по белкам, жирам, углеводам рационе вивария со свободным доступом к воде. При проведении экспериментов соблюдались положения Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным. Моделировали острую интоксикацию этанолом на интактных животных и на фоне предварительной алкоголизации. Острое отравление интактных и предварительно алкоголизированных животных вызывали внутрижелудочным введением 40 % раствора этанола в дозе 0,5 LD<sub>50</sub>. Забор крови производили через 24 часа после введения этанола. В качестве контроля использовали кровь 20 здоровых животных. В плазме крови спектрофотометрически определяли активность гамма-глутамилтранспептидазы (ГТП) по методу [15] и активность лейцинаминопептидазы (ЛАП) по [16], в эритроцитах крови выявляли содержание восстановленного глутатиона по [13] и активность глутатионредуктазы (ГР) по методу [14].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В плазме крови крыс при остром отравлении этанолом увеличивается активность ферментов холестаза по сравнению с контролем: ГТПП в 5 раз, ЛАП в 1,4 раза (рис. 1). Этанол способен оказывать непосредственное воздействие на биологические мембраны, увеличивая их текучесть [7]. Повреждение клеток печени приводит к увеличению проницаемости мембранного барьера для молекул ферментов и появлению их в большом количестве в плазме крови. При остром

отравлении этанолом на фоне предварительной алкоголизации активность ГТПП остается повышенной, активность ЛАП достоверно не отличается от контроля (рис. 1).

Содержание глутатиона в эритроцитах крови крыс при остром отравлении этанолом повышается в два раза по сравнению с контролем (рис. 2). Вероятно, это связано с компенсаторной активацией антиоксидантной защиты. При острой интоксикации этанолом на фоне предварительной алкоголизации содержание глутатиона в эритроцитах крови снижается в 1,5 раза по сравнению с контролем.

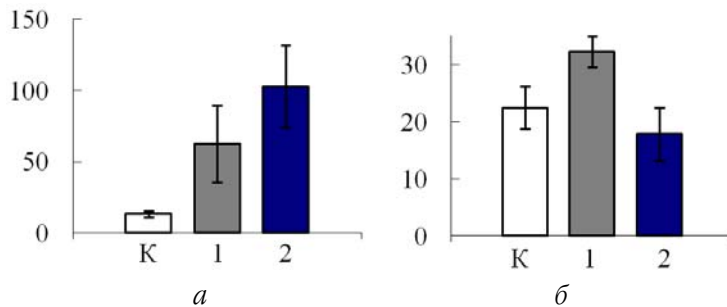


Рис. 1. Активность ферментов холестаза (а – ГТПП; б – ЛАП) в плазме крови крыс при острой алкогольной интоксикации. По оси абсцисс: К – контроль (здоровые животные), 1 – острое отравление этанолом, 2 – острое отравление этанолом на фоне предварительной алкоголизации. По оси ординат – активность ферментов в Ед/л

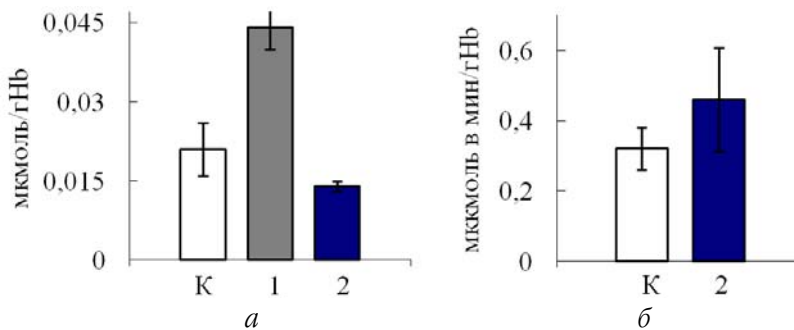


Рис. 2. Содержание глутатиона (а) и активность глутатионредуктазы (б) в эритроцитах крови крыс при острой алкогольной интоксикации. По оси абсцисс: К – контроль (здоровые животные), 1 – острое отравление этанолом, 2 – острое отравление этанолом на фоне предварительной алкоголизации

Выраженность нарушений системы глутатиона зависит от дозовых нагрузок – использование высоких доз ксенобиотика мо-

жет вызывать истощение системы глутатиона, а введение меньших доз может сопровождаться адаптивной ее активацией [2]. Срыв

функциональных возможностей системы глутатиона связан с истощением запасов этого антиоксиданта при осуществлении глутатионовой конъюгации, с нарушением энергетического метаболизма тканей и угнетением детоксикационной функции печени. Глутатионредуктаза – фермент, поддерживающий уровень восстановленного глутатиона в клетках. Вместе с тем активность глутатионредуктазы при острой интоксикации этанолом на фоне предварительной алкоголизации достоверно не отличается от контроля (рис. 2). Полученные результаты позволили оценить роль нарушений системы глутатиона в реализации цитотоксических эффектов этанола.

### Выводы

Выявление содержания восстановленного глутатиона в эритроцитах периферической крови и активности ферментов холестаза в плазме крови имеет значение для определения тяжести цитотоксического поражения печени и развития холестаза при острой алкогольной интоксикации.

### Библиографический список

1. *Высокогорский В.Е., Ефременко Е.С., Быков Д.Е., Жукова О.Ю., Лотухов Г.А.* Нарушение обмена глутатиона при алкоголизме. Омский научный вестник 2011; 1: 9–12.
2. *Глушков С.И., Куценко С.А.* Система глутатиона как естественная цитопротекторная система в условиях острых интоксикаций. Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты. СПб.: Фолиант 2004; 67–68.
3. *Леонова З.А., Чикотеев С.П., Кая О.В., Зайцева Л.В.* Изменение системы глутатиона стенки желчного пузыря при хроническом калькулезном холецистите. Сибирский медицинский журнал 2010; 2: 83–85.
4. *Меринова Н.И., Козлова Н.М., Колесниченко Л.С., Сулова А.И., Леонова З.А.* Показатели перекисного окисления липидов и глутатионовой антиоксидантной защиты у больных с обострением хронического панкреатита. Саратовский научно-медицинский журнал 2013; 2: 259–262.
5. *Орбиданс А.Г., Терехин Г.А., Терехина Н.А.* Экспериментальная оценка влияния сорбентов на активность лейцинаминопептидазы и показатели антиоксидантной защиты при остром отравлении этанолом. Материалы Всероссийской научно-практической конференции биохимиков и специалистов по лабораторной медицине «Медицинская биохимия и клиническая лабораторная диагностика в аспекте модернизации системы научных исследований». Омск 2011; 218–221.
6. *Орбиданс А.Г., Терехин Г.А., Владимирский Е.В., Терехина Н.А.* Экспериментальное обоснование использования энтеросорбентов при остром отравлении этанолом. Патологическая физиология и экспериментальная терапия 2009; 4: 29–30.
7. *Панченко Л.Ф., Глушков В.С., Сторожок С.А., Филиппович Ю.Д.* Изменения физико-химических свойств биологических мембран при развитии толерантности к этанолу. Вопросы медицинской химии 2001; 2: 198–207.
8. *Променашева Т.Е., Колесниченко Л.С., Козлова Н.М.* Роль оксидативного стресса и системы глутатиона в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН 2014; 5: 80–83.
9. *Терехина Н.А., Терехин Г.А., Жидко Е.В., Орбиданс А.Г., Горячева О.Г.* Анализ проницаемости эритроцитарных мембран и активности ферментов холестаза при острой алкогольной интоксикации и обострении хронического панкреатита. Клиническая лабораторная диагностика 2014; 9: 132.
10. *Терехина Н.А., Жидко Е.В., Терехин Г.А., Орбиданс А.Г.* Влияние сорбентов на содержание меди, железа и транспор-

рующих их белков при алкогольной интоксикации. Казанский медицинский журнал 2015; 5: 868–871.

11. Щеглова Е.Л., Высокогорский В.Е., Долгих В.Т., Тутов Д.С. Показатели системы глутатиона в крови подростков, злоупотребляющих алкоголем. Наркология 2015; 8: 41–44.

12. Albano E. Oxidative mechanisms in the pathogenesis of alcoholic liver disease. Mol. Aspects. Med. 2008; 29: 9–16.

13. Beutler E. Red cell metabolism a manual of biochemical methods. Grune & Stratton, Orlando 1990; 131–134.

14. Carlberg I., Mannervik B. Glutathione reductase. Methods Enzymol 1985; 113: 484–490.

15. Kulbanek V., Dimov D.M. Comparison of four methods for the estimation of gammaglutamyltranspeptidase activity in biological fluids. Clin. Chem. Acta. 1967; 12: 271–277.

16. Nagel W., Willig F., Schmidt F.H. On amino acid arylamidase (so called leucine aminopeptidase) activity in the human serum. Klin. Wochenschr 1964; 42: 447–449.

Материал поступил в редакцию 19.05.2016