



Исследование глутатиона как маркера второй фазы биотрансформации ксенобиотиков у детей с различной соматической патологией на фоне проводимого лечения

Б.И. Кантемирова¹, Д.А. Сычев², В.Н. Каркищенко³

¹ — ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России

² — ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им И.М. Сеченова» Минздрава России, г. Москва

³ — ФГБУН «НЦБМТ ФМБА», Московская область

Контактная информация: Кантемирова Бэла Исмаиловна, belakantemirova@rambler.ru

В повседневной жизни человек сталкивается с большим количеством ксенобиотиков, среди которых наиболее частыми для нас являются лекарственные препараты. Система биотрансформации ксенобиотиков позволяет при помощи реакций I и II фазы обеспечить метаболизм чужеродных веществ и их элиминацию. У детей процессы биотрансформации ксенобиотиков протекают менее активно, что обусловлено функциональной, физиологической незрелостью ферментных систем печени. В этой ситуации актуальным становится поиск неинвазивных, простых и доступных для широкого применения методов оценки детоксицирующей функции печени, например, таких как исследование активности глутатиона, входящего в состав глутатионтрансферазы.

Ключевые слова: ксенобиотики, система биотрансформации, глутатион, глутатионтрансфераза.

В окружающей среде современного человека ксенобиотики распространены повсеместно. В организм человека ксенобиотики попадают различными путями: через легкие при вдыхании ксенобиотиков, выбрасываемых промышленными предприятиями; через желудочно-кишечный тракт при употреблении воды и продуктов, содержащих чужеродные вещества; при контакте кожи с одеждой, содержащей красители и продукты химического синтеза [6, 8]. Самой распространенной группой ксе-

нобиотиков, пожалуй, являются фармакологические лекарственные препараты. На сегодняшний день известно более 17000 лекарств, многие из которых синтезированы в последние десятилетия [7].

Большинство ксенобиотиков в организме запускают образование свободных радикалов, которые могут повреждать мембраны клеток, утяжелять тем самым течение основного заболевания и быть причиной формирования нежелательных побочных реакций лекарственной терапии [4, 5].

Особое место среди ферментов, задействованных в обезвреживании ксенобиотиков, занимают глутатионтрансферазы (ГТ), принимающие участие в метаболизме тысяч ксенобиотиков, включая лекарственные препараты [1, 2, 3, 6, 8]. Глутатионтрансферазы функционируют во всех тканях и играют важную роль в инактивации собственных метаболитов: некоторых стероидных гормонов, простагландинов, билирубина, жёлчных кислот, продуктов ПОЛ. Система обезвреживания с участием ГТ и глутатиона играет уникальную роль в формировании резистентности организма к самым различным воздействиям и является наиболее важным защитным механизмом клетки [1, 6]. У детей, особенно раннего возраста, активность ферментов I и II фазы биотрансформации веществ может быть снижена ввиду функциональной, физиологической незрелости [5, 7, 9]. Поэтому изучение активности ферментных систем печени, участвующих в метаболизме ксенобиотиков, в педиатрической практике имеет особую актуальность. Ряд веществ, в том числе и лекарств (например, тяжёлые металлы, полифенолы, S-алкилы глутатиона, некоторые гербициды), ингибируют глутатионтрансферазу.

Печень является главным органом метаболизма ксенобиотиков и подвержена их токсическому влиянию [6, 9]. Функциональной единицей печени является ацинус, состоящий из трех концентрических зон гепатоцитов, расположенных вокруг портальной триады (терминальная ветвь воротной вены, печеночная артериола и желчный проток) [8]. Гепатоциты 1 зоны, наиболее близкие к портальной триаде, являются самыми устойчивыми к повреждению. Гепатоциты зоны 3, наиболее отдаленные от портальной триады,

получают меньшие количества питательных веществ и особенно восприимчивы к ишемическому, токсическому и вирусному повреждению [8].

Таким образом, при назначении лекарственных препаратов, особенно в течение длительного времени, особую актуальность приобретают простые и доступные для широкого применения исследования, оценивающие активность системы глутатионтрансферазы и глутатиона, с разработкой мероприятий по повышению активности системы метаболизма ксенобиотиков, обеспечивающей элиминацию чужеродных веществ и защиту клеток печени от токсического воздействия.

Материалы и методы

Титрование по Вудворту-Фрей (Удинцев Г.Н., Бланк В.Б., Кравец Д.А., Тимесков И.С., 1986). В качестве исследуемого материала использовалась венозная кровь 226 детей, больных различными соматическими заболеваниями и получающих стационарную помощь в условиях Городской детской клинической больницы № 2 г. Астрахани с 2003 по 2009 гг.

Пробу сразу гемолизировали. Для этого к 3 мл крови добавляли 24 мл дистиллированной воды. Через 5 мин прибавляли 3 мл 25% сульфосалициловой кислоты и фильтровали. Затем в фильтрат добавляли цинковой пыли на кончике ножа и через 30 мин вновь фильтровали. 10 мл фильтрата переносили в чистую колбу и использовали для определения общего глутатиона. Затем в колбу прибавляли 2,5 мл 4% сульфосалициловой кислоты, 2,5 мл 5% йодистого калия, несколько капель крахмала и титровали 0,001 Н раствором йодноватокислого калия до появления слабого голубого окрашивания. Расчет: $G = (T \cdot 100) : 3,26$.

Где Г — количество глутатиона; Т — количество мл 0,001 Н раствора йодноватокислого калия, израсходованного на титрование; 3,26 — число, соответствующее количеству раствора йодноватокислого калия, идущего на титрование 1 мг глутатиона. Нормальные величины глутатиона — 1066 ± 30 мкМ/л.

Результаты и их обсуждение

Наименьшее содержание глутатиона в крови отмечалось у детей, страдающих эпилепсией (табл. 1).

повышении перекисного окисления липидов, во время патологических и воспалительных процессов, а также прямым участием глутатиона в конъюгации метаболитов вальпроатов, широко назначаемых для купирования судорожного синдрома.

При дальнейшем изучении наше предположение нашло свое отражение. Оказалось, что в зависимости от длительности непрерывной противоэпилептической терапии уровень восстановленного глутатиона был снижен по сравнению с

Таблица 1
Уровень глутатиона крови у детей с различной соматической патологией (мкМ/л)

Норма (мкМ/л)	Дети, страдающие эпилепсией (n=74)	Дети, страдающие атопическим дерматитом (n=53)	Дети, больные бронхиальной астмой (n=42)	Дети с внебольничной пневмонией (n=57)
1066±30 мкМ/л	540±97,6 мкМ/л	829,45±41,90 мкМ/л	736,37±57,6 мкМ/л	784,97±48 мкМ/л

Полученные результаты можно объяснить вовлечением глутатиона в антиоксидантную защиту организма при

нормальными величинами со статистически достоверной разницей отличий в $p < 0,001$ (табл. 2). Степень снижения

Таблица 2
Содержание восстановленного глутатиона в сыворотке крови детей, больных эпилепсией, в зависимости от длительности проводимой противоэпилептической терапии

Норма (мкМ/л)	Длительность до 3-х лет (мкМ/л) (n=15)	Длительность до 5 лет (мкМ/л) (n=36)	Длительность свыше 10 лет (мкМ/л) (n=23)
1066±30 мкМ/л	750±64 $p1 < 0,001$	620±87 $p2 - \text{НД}; p3 < 0,001$	340±90 $p4 < 0,05; p5 < 0,001$

Примечание: p1 — достоверность различий между уровнем восстановленного глутатиона детей, больных эпилепсией и получающих непрерывную АЭТ до 3-х лет, и нормальными величинами восстановленного глутатиона; p2 — достоверность различий между уровнем восстановленного глутатиона детей, больных эпилепсией и получающих непрерывную АЭТ до 3-х лет, и уровнем восстановленного глутатиона детей, больных эпилепсией и получающих непрерывную АЭТ до 5 лет; p3 — достоверность различий между уровнем восстановленного глутатиона детей, больных эпилепсией и получающих непрерывную АЭТ до 5 лет, и нормальными величинами; p4 — достоверность различий между уровнем восстановленного глутатиона детей, больных эпилепсией и получающих непрерывную АЭТ до 5 лет, и уровнем восстановленного глутатиона детей, больных эпилепсией и получающих непрерывную АЭТ свыше 10 лет; p5 — достоверность различий между уровнем восстановленного глутатиона детей, больных эпилепсией и получающих непрерывную АЭТ свыше 10 лет.

зависела от «стажа противоэпилептической терапии» и вида медикаментозного воздействия: назначение препаратов в виде моно- или политерапии. В случаях применения комбинации противоэпилептических препаратов уровень восстановленного глутатиона был максимально снижен, что сопровождалось увеличением уровня печеночных трансаминаз.

вило различную степень активности восстановленного глутатиона крови на фоне неоднородной соматической патологии у детей, зависящую от вида и длительности проводимого лечения, что свидетельствует о необходимости разработки антиоксидантного и детоксицирующего «сопровождения» длительных схем фармакотерапии.

Таблица 3

Динамика количественного показателя восстановленного глутатиона крови у детей, получающих противоэпилептическую терапию, на фоне включения в схему терапии глицина в соответствующих возрастных дозировках

Уровень восстановленного глутатиона до включения в схему антиэпилептической терапии глицина (мкм/л), (n=32)	Уровень восстановленного глутатиона на фоне включения в схему антиэпилептической терапии глицина (мкм/л), (n=32)
570±81* (p<0,01)	890±94*

Примечание: * - p<0,01.

Снижение восстановленного глутатиона крови может ухудшать течение основного заболевания посредством уменьшения активности антиоксидантной системы организма ребенка, а также приводить к накоплению метаболитов лекарственных препаратов, что может способствовать проявлению нежелательных побочных эффектов.

Для повышения концентрации восстановленного глутатиона в плазме крови и усиления элиминации метаболитов противоэпилептических средств мы использовали глицин в соответствующей возрастной дозировке. Глицин непосредственно входит в состав глутатиона и является донатором цистеина для его синтеза [1]. Включение в схему противоэпилептической терапии глицина детям (n=32) позволило уже через 7-10 дней статистически достоверно (p<0,01) повысить уровень восстановленного глутатиона, при этом увеличения частоты приступов не отмечалось (табл. 3).

Проведенное нами исследование выя-

Выводы

Проведенное исследование показало информативность и чувствительность метода титрования при изучении концентрации глутатиона в крови у детей с различной соматической патологией, получающих различные группы лекарственных препаратов. Учитывая участие глутатионтрансферазы в конъюгации огромного количества ксенобиотиков, в том числе и лекарственных препаратов, простое в выполнении, экономически приемлемое, доступное для широкого применения, неинвазивное «in vitro» выполнение исследования по изучению уровня глутатиона крови может способствовать оценке активности II фазы детоксикации, что позволит вовремя осуществить мероприятия по активации антиоксидантной системы организма, повышению метаболической активности и защите клеток печени от неблагоприятного воздействия чужеродных веществ.

Список литературы

1. Биохимия. Уч. для вузов под ред. Е.С. Северина. — 2003. — Геотар Медиа. — С. 617-628.
2. Бушма М.И., Лукиенко П.И. Роль витаминов в функционировании монооксигеназ // Экспериментальная и клиническая фармакокинетика. — 1994. — № 5. — С. 53-57.
3. Переслегина И.А., Макарова И.Б., Назарова Е.В., Успенская И.Д., Хвостова Е.Б. Детоксицирующая система глутатиона при целиакии у детей // Эфферентная терапия. — 1998. — № 4. — С. 38-41.
4. Переслегина И.А., Габина С.В., Макарова И.Б., Жукова Е.А., Коркоташвили Л.В. Детоксицирующая функция печени по данным фармакокинетики антипирина при заболеваниях органов пищеварения у детей // Эфферентная терапия. — 2005. — № 2. — С. 14-17.
5. Зборовский А.Б., Тюренков И.Н., Чельцов В.В. Механизмы развития неблагоприятных побочных реакций лекарственных средств // Мат-лы семинара «Контроль безопасности лекарств». М., 1998. — С. 21-24.
6. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Обмен глутатиона // Успехи биологической химии. 1990. — Т. 31. — С. 157-179.
7. Побочные действия лекарственных средств / Под ред. М.Н.Г. Дюкса. — М: Медицина. — 1983. — 560 с.
8. Чиркин А.А. Молекулярные механизмы повреждения печени // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2000. — № 1.- С. 26-33.
9. Petronijevic M., Ilic K., Suzuki A. Drug induced hepatotoxicity: data from the Serbian pharmacovigilance database // Pharmacoevidenciol. Drug. Saf. — 2011. — Vol. 20(4). — P. 416–423.
10. Steinbrook R. Testing medications in children // N Eng J Med. 2002. — V. 347 — P. 18.

Investigation of glutathione as a marker of the second phase of the biotransformation of xenobiotics in children with various physical symptoms during the treatment

B.I. Kantemirova, D.A. Sychev, V.N. Karkischenko

In an everyday life people meet a large number of xenobiotics among which the most frequent for us are medicines. The system of biotransformation of xenobiotics allows by means of reactions of I and the II phase provide a metabolism of alien substances and their elimination. Bioprocesses of transformation of xenobiotics in children proceed less actively that is caused by functional, physiological immaturity of fermental systems of a liver. In this situation the search of noninvasive, simple and available to broad application methods of an assessment of detoxifying function of liver, for example, such as activity research glutathione, a part glutathionetransferase is actual.

Key words: xenobiotics, biotransformation system, glutathione, glutathionetransferase.