

**В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко, В.В. Шпрах, Н.В. Верлан, В.В. Бардымов, Л.П. Губина, Г.А. Пенсионерова, М.П. Сергеева, Л.М. Станевич, Г.Т. Филиппова**

## **ИЗУЧЕНИЕ ГЛУТАТИОНА И ФЕРМЕНТОВ ЕГО МЕТАБОЛИЗМА У БОЛЬНЫХ СТАРШИХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП С ХРОНИЧЕСКОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ**

*Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)  
Иркутский государственный институт усовершенствования врачей (Иркутск)*

*Исследованы глутатион (GSH), его ферменты и малоновый диальдегид (МДА) у пациентов 61–84 лет с хронической церебральной ишемией, атеросклерозом и артериальной гипертензией без метаболических нарушений и с сопутствующим сахарным диабетом II типа. Во второй группе по сравнению с первой концентрация МДА в плазме крови увеличилась; активность глутатионтрансферазы в эритроцитах и в плазме резко возросла, а GSH эритроцитов, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза эритроцитов и плазмы уменьшились. Большая выраженность изменений в системе глутатиона соответствует более тяжелому течению и прогнозу у больных второй группы.*

**Ключевые слова:** *церебральная ишемия, система глутатиона*

## **INVESTIGATION OF GLUTATHIONE AND ITS METABOLISM ENZYMES IN PATIENTS OF ELDER AGE WITH CHRONIC CEREBRAL ISCHEMIA**

**V.I. Kulinsky, L.S. Kolesnichenko, V.V. Shprakh, N.V. Verlan, V.V. Bardymov, L.P. Gubina, G.A. Pensionerova, M.P. Sergeeva, L.M. Stanevich, G.T. Filippova**

*Irkutsk State Medical University, Irkutsk  
Irkutsk State Institute of Physicians' Training, Irkutsk*

*GSH, its enzymes and MDA are investigated in patients 61–84 years old with chronic cerebral ischemia, atherosclerosis and hypertension with and without diabetes mellitus. In second group vs first one the plasmatic MDA concentration increases; glutathione S-transferase activity in erythrocyte and plasma rise sharply; GSH concentration in erythrocytes, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity in erythrocytes and plasma decrease. The bigger manifestation of changes in glutathione system coincides with the bigger severe condition and prognosis in diabetes mellitus.*

**Key words:** *cerebrovascular disease, system of glutathione*

Сосудистые заболевания головного мозга — актуальная медицинская и социальная проблема. На сегодняшний день в мире около 9 млн. человек страдают цереброваскулярными болезнями. Именно они в значительной степени обуславливают заболеваемость, инвалидность и смертность взрослого населения экономически развитых стран. Среди причин смерти цереброваскулярные заболевания занимают второе место, уступают лишь болезням сердца [1].

В структуре цереброваскулярной патологии значительно преобладают ишемические нарушения мозгового кровообращения. В связи с тенденцией к увеличению частоты случаев хронической церебральной ишемии (дисциркуляторной энцефалопатии — ДЭ) [3] представляется актуальным детальное изучение механизмов ее формирования.

В экспериментальных работах [4, 8] установлено, что глутатион (GSH), выполняя в организме важнейшие функции (восстановление и изомеризация дисульфидных связей, поддержка «рабочего состояния» ферментов, защита клетки от активных форм кислорода и т.д.), способен проявлять нейромодуляторную и нейротрансмиттерную активность. Также известно, что глутатион может быть источником главного возбуждающего медиатора мозга — глутамата, накопление которого при

ишемии может способствовать повреждению нейронов [8]. Результаты клинических исследований по определению состояния системы глутатиона очень противоречивы [6].

### **ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Изучение содержания глутатиона и его ферментов в плазме и в эритроцитах при хронической церебральной ишемии гипертонического и атеросклеротического генеза у пациентов старших возрастных групп без метаболических нарушений и с сопутствующим сахарным диабетом II типа.

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Обследовано 48 пациентов обоего пола в возрасте от 61 до 84 лет с хронической церебральной ишемией (ДЭ I и II стадии) на фоне атеросклероза в сочетании с артериальной гипертензией (АГ) без метаболических нарушений и с сопутствующим сахарным диабетом II типа.

Больные были разделены на две группы. Первую составили 38 пациентов с хронической церебральной ишемией (ДЭ I, II стадий) без метаболических нарушений, вторую — 10 пациентов с сопутствующим сахарным диабетом.

Наряду с общеклиническим, неврологическим, биохимическим, инструментальным обследовани-

ями проводилось определение глутатиона (GSH) и ферментов его метаболизма в эритроцитах и в плазме больных. Общеклиническое обследование включало клинический анализ крови и мочи, электрокардиографию; биохимические исследования — определение в крови глюкозы, малонового диальдегида (МДА), холестерина, триглицеридов, β-липопротеидов, мочевины, креатинина, фибриногена, протромбинового индекса (ПТИ). У пациентов с сахарным диабетом определялся гликемический и глюкозурический профиль, у части больных — гликолизированный гемоглобин и микроальбуминурия.

Кровь брали утром натощак в пробирку с гепарином. Пробы центрифугировали при 8000 оборотов в минуту в течение 15 минут для разделения плазмы и эритроцитов. Эритроциты промывали 0,86% раствором NaCl, затем гемолизировали холодной дистиллированной водой в соотношении 1:3 и центрифугировали 15 минут при 8000 оборотов в минуту. Полученную надосадочную жидкость использовали как ферментный препарат. Все этапы проводили при температуре 4–6 °С. Часть плазмы и гидролизата осаждали 5% сульфосалициловой кислотой в соотношении 1:1 и 1:2 соответственно и определяли GSH с 5',5-дитиобис-2-нитробензоатом [4, 5]. Активность глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионтрансферазы (ГТ) определяли стандартными спектрофотометрическими методами [2]. Все результаты обрабатывали статистически с использованием критериев F, t и d для несвязанных выборок. Различия считали значимыми при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст больных составил 76,3 и 75,4 года соответственно у больных первой и второй группы. Длительность артериальной гипертензии в этих двух группах была соответственно 24,7 лет и 31,0 год (табл. 1). Данные по уровню систолического и диастолического артериального давления, а также по возрасту были сопоставимы.

При сравнении результатов общеклинического и биохимического исследований было отмечено следующее: изменения показателей наблюдались в обеих группах больных, уровень глюкозы, малонового диальдегида (МДА), холестерина, триглицеридов, β-липопротеидов, фибриногена, ПТИ закономерно изменялся в большей степени у пациентов с сопутствующим сахарным диабетом II типа.

Очевидность более значимых изменений биохимических показателей у больных с АГ и СД 2, чем при АГ без метаболических нарушений, связана с нарушением углеводного и липидного обмена, наличием проявлений микро- и макроангиопатии, которые имеются у этой категории пациентов. Кроме того, нарушение микроциркуляции головного мозга у больных с СД II типа могут возникать вследствие нарушений гемостаза и реологических свойств крови, которые часто наблюдаются при такой сочетанной патологии.

У больных второй группы с сопутствующим сахарным диабетом II типа по сравнению с первой концентрация МДА в плазме крови выражено увеличилась (в среднем на 40 %) (табл. 2). Это сочеталось с изменением почти всех (7 из 8) показателей системы глутатиона. Активность ГТ в эритроцитах

Таблица 1

### Характеристика больных, включенных в исследование

Показатель	АГ (n = 38)	АГ + СД II типа (n = 10)
Возраст, годы	76,3 ± 1,4	75,4 ± 1,32
Длительность АГ, годы	24,7 ± 1,8	31,0 ± 1,6
АД, мм рт. ст.	165,4/93,5 ± 7,3/3,7	176,6/91,8 ± 9,6/5,1

Таблица 2

### Показатели системы глутатиона и МДА в крови у больных с хронической церебральной ишемией (нмоль/мл)

Показатели		Больные I группы (n = 38)	Больные II группы (n = 10)
МДА	Плазма	4,96 ± 0,28	6,93 ± 0,60**
	Эритроциты	3,71 ± 0,54	1,90 ± 0,10**
GSH	Плазма	0,021 ± 0,0025	0,036 ± 0,0081
	Эритроциты	27,7 ± 1,52	21,6 ± 1,47**
ГПО	Плазма	2,36 ± 0,08	1,84 ± 0,15**
	Эритроциты	2,20 ± 0,13	1,69 ± 0,12**
ГР	Плазма	0,53 ± 0,021	0,38 ± 0,031**
	Эритроциты	4,47 ± 0,42	9,59 ± 1,17***
ГТ	Плазма	0,68 ± 0,041	1,39 ± 0,17***

Примечание: различия между показателями у больных I и II групп: \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$ .

и в плазме резко возростала (в среднем на 115–104 %). Этот фермент не только обезвреживает ксенобиотики, но и выполняет антиоксидативную функцию: он обладает глутатионпероксидазной активностью и, кроме того, использует глутатион для конъюгации с метаболитами перекисного окисления [4]. Поэтому описанную реакцию можно рассматривать как адаптивную.

Однако все остальные показатели системы глутатиона менялись противоположно. Значительно снизилась его концентрация в эритроцитах и активность ГПО и ГР в эритроцитах и плазме (на 22–28 %). Известно, что глутатион является главным восстановителем в клетке, необходим для противодействия активным формам кислорода. ГПО и ГР играют важную роль в защите от оксидативного стресса: ГР восстанавливает окисленный глутатион в GSH, который необходим для функционирования ГПО, а она восстанавливает  $H_2O_2$  и перекиси нуклеиновых кислот, белков и липидов [6, 8]. Поэтому снижение всех этих показателей является неблагоприятным.

В целом, при сочетании сосудистых нарушений при ДЭ с СД происходят разнонаправленные изменения, т.е. диссоциация сдвигов в системе глутатиона. Это может объяснять, почему не удается скомпенсировать процесс перекисного окисления липидов, что проявляется накоплением МДА. Большая выраженность изменений в системе глутатиона соответствует более тяжелому течению и прогнозу у больных второй группы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Виленский Б.С. Инсульт / Б.С. Виленский. – СПб., 1995. – 288 с.
2. Влияние фенобарбитала, ионола и сАМР на активность ферментов метаболизма глутатиона / Л.С. Колесниченко, В.И. Кулинский, Н.С. Манторова, Л.А. Шапиро // Укр. биохим. журн. – 1990. – Т. 110, № 4. – С. 60–66.
3. Гусев Е.И. Эпидемиология инсульта в России / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, Л.В. Стаховская // Инсульт: прил. к журн. Неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2003. – № 8. – С. 4–9.
4. Кулинский В.И. Биологическая роль глутатиона / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко // Успехи соврем. биологии. – 1990. – Т. 110, № 1 (4). – С. 20–33.
5. Anderson M.E. Enzymatic and chemical methods for the determination of glutathione / M.E. Anderson // Glutathione, pt A (Dolphin D., Poulson R., Avramovic C.O., eds). – N.Y.: John Wiley, 1989. – P. 339–366.
6. Antioxidant profile and early outcome in stroke patients / A. Cerubini, M.S. Polidory, M. Brenchi et al. // Stroke. – 2000. – Vol. 31, № 10. – P. 2295–3000.
7. Dringen R. Metabolism and function of glutathione in brain / R. Dringen // Progress in Neurobiology. – 2000. – Vol. 62. – P. 463–470.
8. Sies H. Glutathione and its role in cellular functions / H. Sies // Free Radicals Biol. Med. 1999. – Vol. 27, N 9–10. – P. 916–921.