

## ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТИОЛОВОГО ГОМЕОСТАЗА У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ЗАВИСИМОСТИ ОТ ОПИОИДОВ И ПСИХОСТИМУЛЯТОРОВ

Быков И.М., Попова М.А., Любченко Д.А., Столярова А.Н.

*ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Краснодар, e-mail: ilya.bh@mail.ru*

В работе представлена оценка изменений показателей тиолового гомеостаза в крови больных с синдромом зависимости от опиоидов и психостимуляторов в процессе проведения дезинтоксикационно-стабилизационного и реабилитационно-противорецидивного лечения. Исследование было выполнено с участием 20 относительно здоровых испытуемых лиц мужского пола, включенных в контрольную группу, и 18 больных с синдромом зависимости от опиоидов или психостимуляторов. Исследование состояния тиолового звена системы антиоксидантной защиты показало развитие у больных 2-й группы нарушений, характеризующихся снижением на 27% уровня тиоловых групп в плазме крови, снижением на 26% концентрации глутатиона и на 49% – активности глутатионпероксидазы в эритроцитарной взвеси. После проведения лечения и реабилитации рассматриваемые показатели имели тенденцию к увеличению в сторону нормальных значений. Тем не менее активность глутатионпероксидазы в этих условиях отставала от значения соответствующего параметра исследуемых лиц 1-й группы на 34%, концентрация глутатиона – на 19%, уровень SH-групп – на 21%. Проведение реабилитационных мероприятий наиболее значительно отразилось в изменениях показателей состояния тиолового звена системы антиоксидантной защиты. Однако даже после проведения полноценного курса лечения и реабилитации были определены увеличенное значение активности глутатионпероксидазы и сниженная концентрация тиоловых групп в плазме крови. Это указывает на сохранение некоторого дисбаланса прооксидантно-антиоксидантной системы, но уже имеющего признаки компенсаторного характера.

Ключевые слова: опиоиды, психостимуляторы, синдром зависимости, тиоловые группы, глутатион, антиоксидантная система.

## CHANGES IN THIOL HOMEOSTASIS IN PATIENTS WITH OPIOID AND PSYCHOSTIMULATOR DEPENDENCE SYNDROME

Bykov I.M., Popova M.A., Lubchenko D.A., Stolyarova A.N.

*Kuban state medical university, Krasnodar, e-mail: ilya.bh@mail.ru*

The present article describes an assessment of changes in the indicators of thiol homeostasis in the blood of patients with the dependence on opioids and psychostimulants within the course of detoxification-stabilization and rehabilitation-anti-relapse treatment. The study was performed on 20 relatively healthy male patients included in the control group and 18 patients with opioid or psychostimulant dependence syndrome. The study of the state of the thiol link of the antioxidant defense system demonstrated the development of disorders in patients of the 2nd group, characterized by a 27% decrease in the level of thiol groups in the blood plasma, a 26% decrease in the concentration of glutathione and a 49% decrease in the activity of glutathione peroxidase in erythrocyte suspension respectively. After treatment and rehabilitation, the considered indicators tended to increase towards normal values. Nevertheless, the activity of glutathione peroxidase under these conditions lagged behind the value of the corresponding parameter of the patients of the 1st group by 34%, that of the concentration of glutathione - by 19%, and the level of SH-groups - by 21% respectively. Carrying out rehabilitation measures was most significantly reflected in changes in the indicators of the state of the thiol link in the antioxidant defense system. But even after a full course of treatment and rehabilitation, an increased value of glutathione peroxidase activity and a reduced concentration of thiol groups in blood plasma were determined. This indicates the preservation of some imbalance in the prooxidant-antioxidant system, but this imbalance reveals all the signs of its compensatory nature.

Keywords: opioids, psychostimulants, dependence syndrome, thiol groups, glutathione, antioxidant system.

Действие наркотических веществ на организм человека сопровождается ответом физиологических и метаболических систем, что включает в себя изменения гормонального баланса, особенно гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы,

нейромедиаторного обмена, экспрессии нейротрофических факторов и других белков нервной ткани, активацию воспаления, синтез и секрецию провоспалительных факторов – цитокинов, интенсификацию свободнорадикальных процессов и др. Такой широкий спектр метаболических изменений на фоне развития наркотической зависимости создает основу для разработки лабораторных диагностических технологий [1, 2]. Сама диагностика наркопатологии традиционно основана на определении самих субстанций наркотических веществ или их метаболитов в биологических жидкостях на базе химико-токсикологических лабораторий. Вышеперечисленные группы лабораторных маркеров нацелены на решение других задач – лабораторный мониторинг и прогнозирование течения синдрома зависимости. При этом традиционно указанные задачи решаются на основе субъективных данных клинического обследования, тогда как клиническая лабораторная диагностика в этих условиях призвана объективизировать весь диагностический процесс [3, 4].

Среди показателей, которые могут потенциально использоваться в лабораторном мониторинге наркопатологии, отдельно стоит выделить маркеры состояния прооксидантно-антиоксидантной системы и отдельно – маркеры тиолового гомеостаза как наиболее чувствительного звена системы антиоксидантной защиты. Такие показатели, как уровень тиоловых групп, концентрация восстановленного глутатиона и активность ферментов его метаболизма, – одни из наименее специфичных параметров, тем не менее, их высокая чувствительность часто позволяет использовать их для динамического наблюдения за развитием и прогрессированием патологического процесса, контролировать эффективность проводимой терапии, прогнозировать развитие осложнений или рецидивов, особенно характерных для заболеваний наркологического профиля [5]. Высокая чувствительность данного звена системы неспецифической резистентности организма связана с наиболее низким уровнем Red-Ox потенциала SH-групп белков и низкомолекулярных соединений, что позволяет проявлять наиболее выраженные восстановительные свойства и антиоксидантные характеристики [6]. Оценка одновременно неферментных параметров плазмы крови (белковые SH-группы) и эритроцитарной взвеси (восстановленный глутатион), а также ферментативного звена (глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глутатионтрансфераза и др.) позволяет комплексно охарактеризовать состояние окислительного гомеостаза, что актуально ввиду многоуровневого характера структурной и функциональной организации системы антиоксидантной защиты [7].

Цель исследования – оценка изменений показателей тиолового гомеостаза в крови больных с синдромом зависимости от опиоидов и психостимуляторов в процессе проведения дезинтоксикационно-стабилизационного и реабилитационно-противорецидивного лечения.

#### **Материалы и методы исследования**

Исследование было выполнено с участием 20 относительно здоровых испытуемых лиц мужского пола, включенных в контрольную группу (1-я группа). Данные испытуемые лица проходили диспансеризацию на базе Клиники ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, в ходе которой у них осуществляли забор крови из локтевой вены в объеме 4–5 мл в пробирки с натриевой солью ЭДТА в качестве антикоагулянта и хелатора металлов с переменной валентностью, что должно было остановить интенсификацию свободнорадикальных процессов в процессе хранения и транспортировки биологической жидкости. Все лабораторные исследования были выполнены в день забора биоматериала. Основную группу испытуемых лиц составили 18 больных с синдромом зависимости от опиоидов или психостимуляторов (2-я группа), которые наблюдались и проходили курс лечения на базе ГБУЗ «Наркологический диспансер» Министерства здравоохранения Краснодарского края. У больных 2-й группы осуществляли забор крови из локтевой вены в объеме 4–5 мл в пробирки с натриевой солью ЭДТА на 4 этапах: на этапе поступления в стационар до начала купирования психических нарушений (1-й этап), по окончании дезинтоксикационно-стабилизационного этапа терапии (2-й этап), в начале реабилитационного этапа (3-й этап) и в конце реабилитации (4-й этап). Длительность дезинтоксикационного этапа терапии составляла 15–18 суток, после чего в течение нескольких дней решался вопрос о начале реабилитации, продолжавшейся на протяжении 4–5 месяцев. Включение добровольцев или больных в исследование осуществляли только после получения письменного добровольного информируемого согласия.

В крови исследуемых лиц контрольной и основной групп на всех этапах лечения определяли показатели, характеризующие состояние системы тиолового гомеостаза. Уровень SH-групп в плазме крови определяли с помощью методики, основанной на реакции с дитиобиснитробензойной кислотой, при этом отдельно определяли легко- и труднодоступные тиоловые группы, реагирующие в течение 3 и 30 минут соответственно. В эритроцитарной взвеси после осаждения белков сульфосалициловой кислотой определяли содержание восстановленной формы трипептида глутатиона, данная методика была также основана на реакции с дитиобиснитробензойной кислотой и высвобождении желтого тионитрофенильного аниона пропорционально концентрации тиолсодержащего метаболита. Активность глутатионпероксидазы определяли энзиматическим способом, основанным на регистрации скорости использования глутатиона в реакции восстановления трет-бутил гидропероксида [8].

Статистическую обработку данную осуществляли с использованием программы StatPlus версия 7 (AnalystSoft Inc.). Характер распределения показателей отличался от гауссовой кривой, поэтому данные в работе были представлены в виде медианных значений и процентилей (25-го и 75-го), а сравнение показателей осуществляли с помощью

непараметрических критериев. Сравнение показателей 1-й и 2-й группы между собой проводили с помощью критерия Манна–Уитни, сравнение показателей 2-й группы, полученных на разных этапах терапии, проводили с помощью критерия Уилкоксона. Различия между показателями считали статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Исследование состояния тиолового звена системы антиоксидантной защиты показало развитие у больных с синдромом зависимости от психостимуляторов и опиоидов нарушений, характеризующихся снижением уровня тиоловых групп в плазме крови, снижением концентрации глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитарной взвеси. На этапе поступления больных 2-й группы в стационар уровень общих SH-групп был снижен на 27% относительно контроля. При этом также было отдельно определено содержание легко- и труднодоступных тиоловых групп. Уровень 1-й фракции сульфгидрильных групп на начальном этапе был даже несколько увеличен – на 25% относительно контроля, содержание 2-й фракции тиоловых групп было в аналогичных условиях снижено в 2 раза. Концентрация глутатиона в эритроцитарной взвеси больных 2-й группы на этапе поступления в стационар была снижена относительно нормальных значений, характерных для исследуемых лиц 1-й группы, на 26%. Активность глутатионпероксидазы также на этапе, предшествовавшем началу терапии, была ниже контрольных цифр на 49% (таблица).

Изменения показателей тиолового гомеостаза в плазме крови и эритроцитах больных с синдромом зависимости от опиоидов и психостимуляторов в процессе лечения и реабилитации (Me(p25;p75))

Исследуемые показатели	Исследуемые группы				
	1-я (контрольная группа)	2-1	2-2	2-3	2-4
Глутатион-пероксидаза, мкмоль/л*мин	458 (427;480)	235* (214;258)	303*^ (278;320)	304* (281;324)	601*^ (545;627)
Глутатион, мкмоль/л	2,42 (2,36;2,52)	1,78* (1,70;1,85)	1,95*^ (1,86;2,02)	1,80* (1,74;1,92)	2,31^ (2,21;2,38)
SHобщие, 100*е.о.п./г белка	0,62 (0,60;0,64)	0,45* (0,43;0,47)	0,49* (0,48;0,52)	0,47* (0,45;0,50)	0,47* (0,46;0,51)

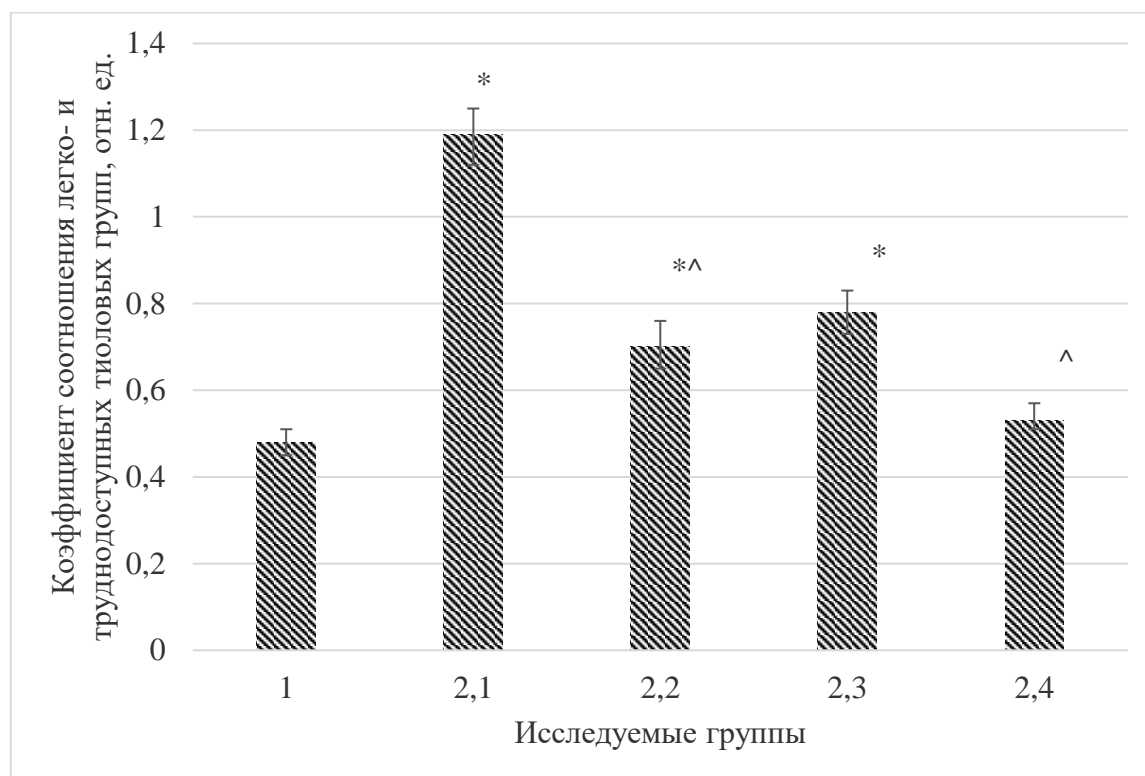
SH <sub>L</sub> , 100*е.о.п./г белка	0,20 (0,18;0,22)	0,25* (0,22;0,27)	0,19 (0,18;0,22)	0,21 (0,18;0,23)	0,16 (0,15;0,20)
SH <sub>T</sub> , 100*е.о.п./г белка	0,42 (0,41;0,44)	0,21* (0,19;0,24)	0,27* <sup>^</sup> (0,24;0,29)	0,27* (0,25;0,29)	0,30* <sup>^</sup> (0,28;0,34)

Примечания: статистически значимые отличия от показателя контрольной группы;

<sup>^</sup> – статистически значимые отличия от показателя, полученного на предыдущем этапе наблюдения.

После проведения лечения и реабилитации рассматриваемые показатели имели тенденцию к увеличению в сторону нормальных значений. Проведение дезинтоксикационно-стабилизационного лечения, включавшего купирование основных психических нарушений и снижение проявлений эндогенной интоксикации, сопровождалось статистически значимым увеличением активности глутатионпероксидазы – на 29% относительно данных, полученных на этапе поступления в стационар. В это же время было определено небольшое увеличение концентрации глутатиона в эритроцитарной взвеси – на 10% и уровня труднодоступных тиоловых групп в плазме крови на 29%. Этот этап лечения характеризовался положительными тенденциями, тем не менее, практически все показатели по-прежнему заметно отставали от контрольного уровня. Активность глутатионпероксидазы в этих условиях отставала от значения соответствующего параметра исследуемых лиц 1-й группы на 34%, концентрация глутатиона – на 19%, уровень SH-групп – на 21%. Перевод больных на реабилитационный этап сопровождался в некоторых случаях некоторой задержкой после проведения дезинтоксикационно-стабилизационного курса терапии, поэтому значения показателей на начало реабилитации также были определены отдельно. Тем не менее, статистически значимых отличий между параметрами на 2-м и 3-м этапах наблюдения выявлено не было.

Проведение реабилитационных мероприятий наиболее значительно отражалось в изменениях показателей состояния тиолового звена системы антиоксидантной защиты. Это может быть связано как с исходно сравнительно менее выраженным дисбалансом прооксидантно-антиоксидантной системы, так и большей длительностью данного этапа ведения больных с синдромом зависимости от опиоидов и психостимуляторов. Так, после 4-го этапа наблюдения активность глутатионпероксидазы увеличивалась в 2 раза относительно 3-го этапа и даже превышала контрольные значения аналогичного параметра на 31%. Такой характер изменений, вероятнее всего, подтверждает частичную нормализацию ферментных систем метаболизма глутатиона с переходом от фазы декомпенсации к изменениям компенсаторного характера (рисунок).



*Изменения соотношения легко- и труднодоступных тиоловых групп в плазме крови больных с синдромом зависимости от опиоидов и психостимуляторов в процессе лечения и реабилитации (Me(p25;p75))*

Примечания: статистически значимые отличия от показателя контрольной группы; ^ – статистически значимые отличия от показателя, полученного на предыдущем этапе наблюдения.

Также после проведения реабилитационно-противорецидивных мероприятий отмечалось статистически значимое увеличение концентрации глутатиона в эритроцитарной взвеси больных 2-й группы. Более того, уровень рассматриваемого лабораторного показателя достигал контрольных значений, определенных у исследуемых лиц 1-й группы. Только уровень тиоловых групп в плазме крови оставался таким же сниженным, как и на этапе поступления в стационар еще на 1-м этапе лечения. При этом происходили изменения отдельных фракций тиоловых групп, направленные на увеличение доли труднодоступных SH-групп и снижение уровня легкодоступных. Уровень легкодоступных SH-групп уже на 2-м этапе наблюдения соответствовал контрольным цифрам, а содержание медленно реагирующих или труднодоступных тиоловых групп постепенно возрастало. Рост последнего параметра составлял 43% относительно значения, полученного на этапе поступления больных в стационар. Тем не менее, и данный показатель, как и уровень общих сульфгидрильных белковых групп, оставался статистически значимо ниже контрольного значения даже после проведения реабилитации (таблица). Полученные данные свидетельствуют о сохранении нарушений тиолового гомеостаза, что может также проявляться как низкоинтенсивный

окислительный стресс у больных с синдромом зависимости от опиоидов и психостимуляторов и формировать неблагоприятный метаболический фон для прогрессирования заболевания и рецидивирования.

Лучшим способом оценить изменения соотношений отдельных типов SH-групп является определение коэффициента их соотношения (рисунок). На представленном рисунке хорошо заметно наиболее значительное снижение анализируемого параметра уже после проведения дезинтоксикационно-стабилизационного этапа лечения больных, а в дальнейшем – даже полная нормализация соотношения легко-/труднодоступных тиоловых групп белков плазмы крови. Изменения анализируемого показателя могут быть обусловлены окислительными повреждениями белковых молекул или изменениями их конформации при связывании с эндотоксинами, что ведет к перестройке и перераспределению фракций SH-групп. Таким образом, нормализация данного соотношения может свидетельствовать о восстановлении организма после окислительного стресса и эндогенной интоксикации. Остается только проблема сниженного содержания общего количества тиоловых групп, которую потенциально может решить дополнительная метаболическая поддержка на реабилитационном этапе с использованием широкого спектра средств антиоксидантной направленности действия.

### **Заключение**

Представленные в работе данные показали динамику нормализации нарушений окислительного гомеостаза на примере изменений лабораторных показателей крови, характеризующих состояние тиолового звена системы антиоксидантной защиты. Основным результатом стало определение тенденции к нормализации показателей тиолового обмена после дезинтоксикационно-стабилизационного этапа терапии, наиболее выраженной уже после проведения реабилитации. Тем не менее, даже после проведения полноценного курса лечения были определены увеличенное значение активности глутатионпероксидазы и сниженная концентрация тиоловых групп в плазме крови. Это указывает на сохранение некоторого дисбаланса прооксидантно-антиоксидантной системы, но уже имеющего признаки компенсаторного характера. Для полноценного восстановления функционального состояния компонентов подсистемы тиолового гомеостаза в перспективе может быть использована антиоксидантная терапия.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МФИ-20.1/117.*

### **Список литературы**

1. Быков И.М., Попов К.А., Любченко Д.А., Попова М.А., Сафронова Е.Е., Сторожук А.П., Федотова Е.Е. Изменение содержания белковых маркеров поражения нервной ткани у больных с синдромом зависимости от психоактивных веществ // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2021. Т. 16, № 3. С. 277-280. DOI: 10.14300/mnnc.2021.16065.
2. Davis J.P., Rao P., Dilkina B., Prindle J., Eddie D., Christie N.C., DiGuseppi G., Saba S., Ring C., Dennis M. Identifying individual and environmental predictors of opioid and psychostimulant use among adolescents and young adults following outpatient treatment. *Drug Alcohol Depend.* 2022. Vol. 233. P. 109359. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2022.109359.
3. Ghavimi H., Darvishi S., Ghanbarzadeh S. Attenuation of morphine-induced tolerance and dependence by pretreatment with cerebrolysin in male rats. *Drug Res (Stuttg)*. 2018. Vol. 68 (1). P. 33-37. DOI: 10.1055/s-0043-116948.
4. Bykov I.M., Popov K.A., Lubchenko D., Popova M., Filippov F., Stolyarova A., Denisova Ya., Domenyuk D.A. Markers of endogenous intoxication and oxidative stress in patients with opioid dependence syndrome. *Archiv EuroMedica*. 2020. Т. 10, № 4. P. 23-25. DOI: 10.35630/2199-885X/2020/10/4.4.
5. Müller S.G., Jardim N.S., Trindade M.A., Nogueira C.W. Opioid System Contributes to the trifluoromethyl-substituted diselenide effectiveness in a lifestyle-induced depression mouse model. *Mol Neurobiol*. 2021. Vol. 58 (5). P. 2231-2241. DOI: 10.1007/s12035-020-02255-z.
6. Калинин Р.Е., Абаленихина Ю.В., Пшенников А.С., Виноградов С.А. Роль восстановленных тиолов в адаптации венозного эндотелия при аутовенозной реконструкции артерий нижних конечностей // Бюллетень сибирской медицины. 2020. Т. 19, № 4. С. 86-93. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-4-86-93.
7. Liguori I., Russo G., Curcio F., Bulli G., Aran L., Della-Morte D., Gargiulo G., Testa G., Cacciatore F., Bonaduce D., Abete P. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018. Vol. 13. P. 757-772. DOI: 10.2147/CIA.S158513.
8. Карпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии. Справочник. СПб.: Интермедика, 2002. 600 с.