

## НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ ЭТАНОЛА НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ГЛИКОЛИЗА В ПЕЧЕНИ КРЫС

*Лелевич С.В.*

*Гродненский государственный медицинский университет*

**Актуальность.** Алкоголизм представляет собой одну из наиболее важных медико-социальных проблем для современного общества. Многочисленные висцеральные нарушения в организме, развивающиеся при злоупотреблении этиловым спиртом, являются причиной частой инвалидизации, а также смерти данных лиц. Среди большого числа метаболических сдвигов при алкогольной интоксикации особое место занимают нарушения функционального состояния печени. Являясь главной мишенью этанола в организме, этот орган также несет основную нагрузку в углеводно-энергетическом обмене. Имеются отдельные данные о нарушениях этих метаболических процессов при введении алкоголя в организм, однако они не позволяют сформировать целостное представление о механизмах их формирования.

**Цель.** Установить характер влияния алкогольной интоксикации на активность фосфофруктокиназы (ФФК) и пируваткиназы (ПК) в печени крыс при проведении опытов *in vitro*.

**Методы исследования.** Для выяснения, являются ли эффекты острой алкогольной интоксикации на активность ключевых ферментов гликолиза печени прямыми, нами выполнены опыты *in vitro* с созданием в инкубационной среде по определению ферментативной активности различных концентраций этанола (5-500 мМ). С применением высокочувствительных биохимических методов была исследована активность ФФК и ПК.

**Результаты и их обсуждение.** Этанол может взаимодействовать с большим количеством белков, будучи составной частью растворителей. Кроме того, алкоголь связывает холинорецепторы в качестве агониста, ГАМК-рецепторы в качестве положительного аллостерического модулятора, рецепторы N-метил-D-аспартата в качестве антагониста, а также глициновые рецепторы как агонист. Более того, этанол активирует калиевые каналы, регулируемые G-белком. Предположительный карман для связывания этанола на этих каналах похож на таковой, описанный для белка LUSH дрозофилы. Белок LUSH – это специфический рецептор для этанола в системе обоняния плодовой мушки [2].

Принимая во внимание способность этанола к образованию водородных связей и формированию гидрофобных контактов с белками, важным представилось выяснение вопроса о том, является ли его действие на активность одного из лимитирующих ферментов гликолиза в печени – фосфофруктокиназы – прямым. Прямое воздействие – это следствие физического связывания этанола определённой областью белка. В случае непрямого эффекта этанол может

действовать через изменение текучести клеточных мембран, сбои в нервной и гуморальной регуляции, а также через связывание с другими белками и ДНК. Еще одним вопросом, который мы хотели решить в данных исследованиях – может ли прямое ингибирование активности фосфофруктокиназы этанолом быть связано с угнетением её активности при острой алкогольной интоксикации?

Результаты опытов *in vitro* показали, что прямое ингибирование активности печёночной фосфофруктокиназы имеет место при достижении концентрации этанола в инкубационной среде 100 мМ (таблица 1).

Таблица 1. – Активность фосфофруктокиназы (нмоль/мг/мин) в печени крыс при различных концентрациях этанола *in vitro* (Me; 25, 75‰)

ФФК	Экспериментальные группы				
	Контроль	Этанол 5 мМ	Этанол 50 мМ	Этанол 100 мМ	Этанол 500 мМ
	8,35 (7,4; 9,0)	7,35 (7,1; 8,8)	7,6 (5,9; 9,9)	5,4 (4,0; 5,7)*	4,65 (4,2; 6,4)*

Для моделирования трёхмерных структур печёночной фосфофруктокиназы крысы и человека нами использован сервер Swiss Model. В качестве шаблона применялась известная 3D структура 3O8L – мышечная фосфофруктокиназа кролика. Для молекулярного докинга этанола, АДФ и АТФ к моделям печёночной фосфофруктокиназы человека и крысы был применен Docking Server [1].

АДФ является аллостерическим активатором фосфофруктокиназы. Сайт для его связывания включает аминокислотные остатки: Asp173, Met174, Asp179, Tyr214, Phe308, Asn341, Ser377, Asn381, Phe538, Asp543 и Phe671. Docking Server правильно определил сайт для связывания этой молекулы. Этанол может быть связан с той частью АДФ-связывающего сайта, которая способна взаимодействовать с аденином.

Три остатка фенилаланина (Phe308, Phe538 и Phe671) способны образовывать гидрофобные контакты или вступать во взаимодействие с этанолом. Остаток Asp543 принимает участие в полярных взаимодействиях. Константы связывания для этанола, естественно, значительно ниже, чем для АДФ. Это говорит о том, что он способен вытеснять АДФ из соответствующих сайтов только при достижении высокой концентрации. Собственно, это и доказали результаты эксперимента *in vitro* (таблица 1).

Таким образом, активность фосфофруктокиназы печени может быть угнетена высокой дозой этанола (5 г/кг), приводящей к достижению пиковой концентрации (100 мМ) в крови за счёт связывания его аллостерическим сайтом. Угнетение активности ФФК печени после введения 2,5 г/кг этанола, выявленное нами ранее в опытах *in vivo*, вероятно, обусловлено непрямым механизмом и связано с повышением соотношения НАДН/НАД<sup>+</sup> при ОАИ. Возможным путем реализации эффектов умеренной алкогольной интоксикации на активность печеночной ФФК

является продуцирование АДГ НАДН, который в свою очередь ингибирует изоцитратдегидрогеназу. Результатом данных изменений является рост уровня цитрата, который ингибирует активность фосфофруктокиназы.

Аналогичные исследования *in vitro* были выполнены с целью выяснения характера эффектов однократно вводимого этанола на активность ПК печени. Снижение активности данного фермента при острой алкогольной интоксикации (5 г/кг), выявленное ранее в опытах *in vivo*, должно быть связано с непрямым механизмом, так как их активность *in vitro* снижалась только в присутствии этанола в концентрации 500 мМ, а такая концентрация алкоголя в тканях живого организма практически недостижима.

**Выводы.** Таким образом, в ходе выполненных исследований установлен прямой ингибирующий эффект этанола (100 мМ) на активность ФФК в печени.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Kiefer, F. The SWISS-MODEL Repository and associated resources / F. Kiefer, K. Arnold, M. K. Unzli // *Nucleic Acids Research*. – 2009. – Vol. 37, – P. 387–392.

2. Meera, P. Alcohol-and alcohol antagonist-sensitive human GABA-A receptors: tracking subunit incorporation into functional receptors / P. Meera, R. W. Olsen, T. S. Otis // *Molecular Pharmacology*. – 2010. – Vol. 78, № 5. – P. 918–924.

## СОСТОЯНИЕ АДАПТАЦИОННЫХ РЕЗЕРВОВ ОРГАНИЗМА ЖЕНЩИН-ВРАЧЕЙ АКУШЕРОВ-ГИНЕКОЛОГОВ РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

*Лисок Е.С., Наумов И.А., Павлюковец А.Ю.*

*Гродненский государственный медицинский университет*

**Актуальность.** В современных условиях женщины-работницы активного репродуктивного возраста составляют группу «риска» по ухудшению состояния здоровья вследствие деструктивных особенностей образа жизни и воздействия факторов внешней среды, в том числе экологических и производственных [5]. Среди них особый интерес для исследователей представляют женщины-врачи акушеры-гинекологи у которых под воздействием агрессивных факторов лечебно-диагностической среды нередко формируются так называемые пограничные, то есть функциональные доклинические расстройства состояния здоровья, выявление которых при использовании классических клинических подходов весьма затруднено [2], но которые, однако, являются весьма перспективными в плане возможной коррекции и профилактики развития производственно-обусловленной патологии [1].

**Цель.** Оценить состояние адаптационных резервов организма женщин-врачей акушеров-гинекологов репродуктивного возраста, занятых в организациях здравоохранения г. Гродно и Гродненской области.