

Молекулярные механизмы процессов свободнорадикального окисления в динамике острых алкогольных психозов у жителей Крайнего Севера

БОЙКО Е.Р.

д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологической и общей химии Коми филиала Кировской государственной медицинской академии, Сыктывкар, зав. лабораторией Института физиологии УрО РАН, Сыктывкар

КОЛЕСНИКОВ М.А.

заочный аспирант Северного государственного медицинского университета, зав. отделением психиатрической больницы, Воркута

ВАХНИНА Н.А.

м.н.с. Института физиологии УрО РАН, Сыктывкар

ПОТОЛИЦИНА Н.Н.

н.с. Института физиологии Коми научного центра РАН, г. Сыктывкар

ШАДРИНА В.Д.

м.н.с. Института физиологии УрО РАН, Сыктывкар

АНДРЕЙЧЕНКО А.А.

заочный аспирант Северного государственного медицинского университета, главный врач психиатрической больницы, Воркута

СИДОРОВ П.И.

д.м.н., профессор, академик РАМН, ректор Северного государственного медицинского университета, директор Института психологии и психоневрологии, Архангельск

СОЛОВЬЕВ А.Г.

д.м.н., профессор, зам. директора Института психологии и психоневрологии Северного государственного медицинского университета, Архангельск

Выявлены особенности процессов свободнорадикального окисления (СРО) в динамике острых алкогольных психозов (ОАП) у больных алкоголизмом, проживающих на Крайнем Севере. Рассмотрены особенности функционирования антиоксидантных ферментных систем и баланс природных антиоксидантов — жирорастворимых витаминов и обосновано их использование для компенсации процессов СРО у наркологических больных.

Введение

Понимание основ патогенеза поражений тканей при алкогольной интоксикации у больных с ОАП сохраняет свою актуальность [2, 12]. В литературе имеются многочисленные указания на активизацию выработки активных форм кислорода (АФК) и интенсификацию процессов СРО у лиц, злоупотребляющих алкоголем [8, 9, 17]. Установлено, что во всех трех основных ферментных путях метаболизации этанола (алкогольдегидрогеназа, каталаза, микросомальная этанолокисляющая система) в ходе их функционирования могут нарабатываться АФК, генерирующие свободные радикалы, активирующие, в свою очередь, антиоксидантные системы (АОС); особенно увеличивается продукция супероксид-аниона и окиси азота [17].

Показано, что у пациентов, активно употребляющих алкоголь, уровень диеновых конъюгатов (ДК) — первичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также малонового диальдегида (МДА) — вторичного продукта ПОЛ — достоверно повышен [8, 9]. Кроме того, установлено, что при прекращении употребления алкоголя уровень МДА достоверно понижается, и уже через 3 дня это является статистически значимым [9, 16]. Широкий эффект АФК обусловлен их способностью окислительно модифицировать разные биомолекулы: белки, ковалентно модифицирующие структуру или вызывающие фрагментацию этих макромолекул, нуклеиновые кислоты, гликозаминогликаны, апопротеины, ненасыщенные жирные кислоты. Липидный радикал с ДК может вступать в реакцию с молекулярным кислородом, запуская цепь перекисного окисления липидов. Образующиеся гидроксипероксильные (ROOH) и липопероксильные

(LOOH) радикалы приводят к продукции МДА, который реагирует с аминокетонами белков с образованием шиффовых оснований (ШО).

Несмотря на накопленную информацию, дискуссия о роли свободных радикалов при алкогольиндуцированных повреждениях тканей не может считаться оконченной [10, 11]. В настоящее время неясны особенности генерации АФК и протекания СРО в динамике ОАП; также нет сведений о состоянии АОС как ферментативного ее звена, так и показателей обеспеченности важнейшими антиоксидантами в динамике ОАП. В литературе все еще нет единого мнения относительно содержания естественных антиоксидантов в организме лиц, злоупотребляющих алкоголем. Имеется сообщение о понижении содержания витамина Е у лиц с алкоголизмом [14], хотя есть исследования, в которых уровень витаминов А, Е и селена у наркологического контингента не меняется [17].

Особый интерес представляет исследование процессов СРО у жителей Крайнего Севера, злоупотребляющих алкоголем, поскольку показано, что в целом, на популяционном уровне, у северян имеется выраженная сезонная активация процессов ПОЛ [1, 6].

С учетом изложенного целью настоящего исследования было выявление особенностей выработки продуктов СРО в динамике ОАП у лиц, проживающих на Крайнем Севере, в разные сезоны года.

Материал и методы исследования

Обследовались мужчины — пациенты наркологического отделения психиатрической больницы г. Воркуты (67° с.ш.) в динамике ОАП. Исследования проводили в первые сутки госпитализации, на 3—4-е сутки после по-

ступления в стационар (к моменту купирования абстинентного или психотического состояния) и на 6–7-е сутки (к среднему времени завершения дезинтоксикационного лечения).

Для статистической обработки отбирались пациенты с острым алкогольным галлюцинозом в первые две декады декабря (I группа, $n = 12$) и марта (II группа, $n = 13$) с целью оценки влияния фактора сезонности. Всем отобраным для наблюдения в период нахождения в стационаре лицам проводилась стандартная лекарственная терапия. В качестве контроля в эти же сроки (декабрь, $n = 31$; март, $n = 16$) были обследованы молодые мужчины (20 лет), у которых клинически и анамнестически были исключены алкоголизм и употребление спиртных напитков в течение последних двух недель.

У всех обследованных лиц в утреннее время строго натощак в вакутайнеры забирались кровь из локтевой вены. Сразу после забора кровь центрифугировали, эритроциты отделяли от плазмы, трижды быстро отмывали холодным 0,9%-ным раствором хлорида натрия с последующим центрифугированием при 3000 об./мин, после чего эритроциты немедленно замораживали при -18°C .

В плазме крови производилось определение метаболитов СРО, имеющих специфические пики поглощения. С использованием спектрофотометра Ultraspec-3000, PharmBiotech (Великобритания) исследовалось: содержание первичных продуктов ПОЛ — ДК при длине волны 232 нм; итоговых продуктов ПОЛ — кротонового альдегида (КА) — 220 нм; содержание молекул средней массы (МСМ) — 254 нм как показателя повреждения АФК белковых продуктов. Рассчитывали коэффициент относительного содержания ДК ($E_{\text{оп}}232/220$) — отношение концентраций первичных и конечных продуктов ПОЛ.

С использованием флюориметра «Флюорат-АБЛФ» (Россия) исследовалось содержание ШО как маркера повреждающего эффекта конечных продуктов ПОЛ на полипептиды — длина возбуждения 420 нм и испускания

— 460 нм. Флюориметрически исследовалось содержание естественных антиоксидантов — витамина Е — длина возбуждения 292 нм, регистрации — 320 нм; витамина А — 335 нм и 460 нм соответственно.

В гемолизатах эритроцитов определяли активность эритроцитарных антиоксидантных энзимов: супероксиддисмутазы (СОД) — по количеству нитроформазана, продукта восстановления нитротетразолия (в % торможения восстановления нитротетразолия) [3]; глутатионпероксидазы (ГП) — по скорости окисления глутатиона в присутствии гидроперекиси третичного бутила. Концентрацию восстановленного глутатиона до и после инкубации определяли колориметрически и рассчитывали активность ГП [4]. Активность глутатионредуктазы (ГР) определяли по скорости окисления восстановленного НАДФН [7]. В работе использовались реактивы фирмы Sigma (США). Статистическую достоверность различий результатов определяли с использованием t -критерия Стьюдента при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

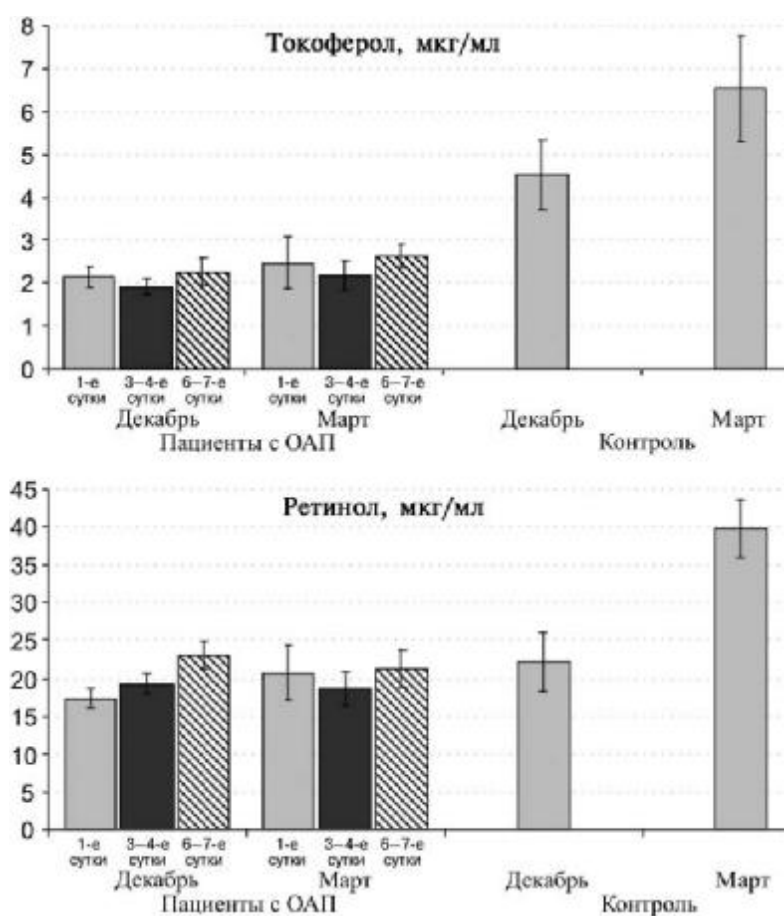
Содержание первичных продуктов ПОЛ — ДК у пациентов с ОАП (табл. 1), при первом обследовании было повышенным по сравнению с контрольной группой как в I, так и во II группах ($p < 0,001$). Следует особо отметить, что содержание ДК у пациентов II группы было достоверно выше, чем в I группе ($p < 0,05$). В динамике нахождения в стационаре у пациентов I группы содержание ДК значительно не изменялось. В то же время, во II группе содержание ДК при обследовании на 6–7-е сутки выявляло отчетливую тенденцию к нарастанию. Таким образом, несмотря на исходно более высокое содержание ДК у лиц II группы и проводимую терапию у этих лиц отмечалось накопление первичных продуктов ПОЛ к 3–7-м суткам наблюдения.

Содержание ШО у больных I группы значительно не отличалось от показателей контрольной на всех сроках наблюдения (табл. 1). В то же время, у пациентов II группы содержание ШО в целом было значительно выше как конт-

Таблица 1

Молекулярные продукты СРО у пациентов в динамике ОАП и здоровых лиц, проживающих на Крайнем Севере, в разные периоды года ($M \pm SD$)

Группы	Сроки наблюдения	Показатели (усл. ед.)				
		ДК	Кротоновый альдегид	ШО	МСМ	Относительное содержание ДК (232/220)
Группа I, $n=12$	1-е сутки	$7,5 \pm 4,12^{**}$	$4,01 \pm 2,64^{***\#}$	$0,01 \pm 0,01$	$0,96 \pm 0,75^{\#}$	$2,40 \pm 1,55$
	3–4-е сутки	$7,89 \pm 7,94$	$3,27 \pm 1,79^{***\#}$	$0,01 \pm 0,01$	$1,21 \pm 1,93$	$2,02 \pm 1,43$
	6–7-е сутки	$7,57 \pm 2,51^{***}$	$5,51 \pm 2,87^{***\#}$	$0,01 \pm 0,01$	$0,96 \pm 0,51^{\#}$	$1,54 \pm 0,65^{***}$
Контроль, $n=31$		$4,11 \pm 1,62$	$1,49 \pm 0,50$	$0,007 \pm 0,009$	$0,30 \pm 0,14$	$2,75 \pm 0,45$
Группа II, $n=13$	1-е сутки	$10,50 \pm 4,90^{***}$	$7,41 \pm 3,33^{***}$	$0,018 \pm 0,01^{***}$	$1,73 \pm 1,08^{***}$	$1,21 \pm 1,70$
	3–4-е сутки	$10,51 \pm 2,94^{***}$	$8,58 \pm 3,44^{***}$	$0,019 \pm 0,02$	$1,74 \pm 0,70^{***}$	$1,35 \pm 0,57$
	6–7-е сутки	$14,16 \pm 8,04^{***}$	$9,13 \pm 4,43^{***}$	$0,024 \pm 0,03$	$2,57 \pm 1,69^{***}$	$1,18 \pm 0,11^{***}$
Контроль, $n=16$		$2,42 \pm 0,84$	$1,58 \pm 0,50$	$0,004 \pm 0,002$	$0,16 \pm 0,11$	$1,53 \pm 0,24$
Примечание. Достоверность различий по сравнению с контрольной группой: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$; достоверность различий показателей группы I с группой II в те же сроки наблюдения: # — $p < 0,05$; ## — $p < 0,01$; ### — $p < 0,001$						



Содержание витаминов А и Е у жителей Европейского Севера — пациентов с ОАП и контрольной группы

рольных показателей, так и по сравнению со значениями в I группе ($p < 0,05$). Кроме того, как и в случае с ДК, содержание ШО во II группе пациентов нарастало к 6—7-м суткам нахождения в стационаре.

Содержание МСМ у больных I группы незначительно превышало показатели контрольной (табл. 1). Интересно отметить, что в этой группе на 3-и сутки отмечалось некоторое повышение уровня МСМ, но к 7-м суткам этот показатель возвращался к исходному уровню. В то же время, у пациентов II группы содержание МСМ значительно превышало контрольные показатели уже при первом обследовании ($p < 0,001$); в этой же группе содержание МСМ достоверно ($p < 0,001$) нарастало на 7-е сутки наблюдения, так же как и показатели ДК и ШО. В целом, во II группе содержание МСМ было существенно выше, чем в группе I.

Содержание конечных продуктов ПОЛ — КА у пациентов с ОАП выявило особенную динамику. В момент поступления в стационар уровень этих продуктов значительно превышал контрольные показатели, причем в марте превышение уровня КА над контрольными показателями было более выраженным ($p < 0,001$) по сравнению с декабрем ($p < 0,01$). На третьи сутки содержание КА выявляло отчетливую тенденцию к понижению ($p > 0,05$) в обеих группах как в марте, так и в декабре. На 6—7-е сутки содержания КА вновь нарастало, причем уровень этих продуктов превышал начальные показатели ($p < 0,05$). Следует

отметить, что уровень КА, регистрируемый у пациентов с ОАП в марте, был значимо выше такового в декабре. В то же время, этот показатель в обеих группах демонстрировал идентичную динамику в период наблюдения, отличавшуюся от таковой для всех рассмотренных выше молекулярных продуктов СРО у пациентов с ОАП.

В целом, содержание молекулярных продуктов СРО у пациентов II группы, обследованных в марте, было повышено относительно показателей, полученных при обследовании больных с ОАП в декабре. Эти данные вписываются в известный факт активации процессов ПОЛ в марте у северян [1, 6]. Вместе с тем, необходимо обратить внимание на тот факт, что к 6—7-м суткам наблюдения у лиц II группы отмечалось нарастание содержания всех продуктов СРО по сравнению с начальными сроками наблюдения.

В связи с этим особый интерес представляет анализ коэффициента относительного содержания ДК (табл. 1), отражающего баланс первичных и вторичных продуктов ПОЛ в организме. Оказалось, что в декабре в I группе этот показатель постепенно понижался. Это может свидетельствовать о том, что резервы АОС в этот период года активно функционируют, а проводимая терапия оказывает свое эффективное воздействие на процессы СРО, приводящее к понижению содержания молекулярных продуктов ПОЛ. В то же время, в марте во II группе этот показатель нарастал к 6—7-м суткам наблюдения как показатель неудовлетворительного состояния резервов АОС.

Таблица 2

Показатели активности антиоксидантных ферментов у пациентов в динамике ОАП и здоровых лиц, проживающих на Крайнем Севере, в разные периоды года (M±SD)

Показатель	Группы	1-е сутки	3—4-е сутки	6—7-е сутки	Контроль
СОД, % торможения восстановления нитротетразолия	I	17,09±6,59	15,20±5,19	16,94±5,68	27,80±8,12
	II	25,37±8,18	22,58±10,24	21,45±8,16	16,42±9,65
ГП, мкмоль/мин/г гемоглобина	I	27,51±4,15	30,57±8,01	26,73±1,86	109,78±19,62
	II	40,89±12,81	41,27±16,74	38,71±4,47	98,93±12,16
ГР, моль НАДФН Н/с/г гемоглобина	I	51,42±13,86	39,12±12,86	46,12±10,99	45,17±12,12

Исследование содержания естественных антиоксидантов показало, что уровень витаминов А и Е достаточно незначительно менялся в динамике (рисунок). Вместе с тем, в I группе отмечалось некоторое нарастание содержания витамина А на 6—7-е сутки наблюдения ($p<0,05$) по сравнению с показателями при поступлении в стационар. Общее содержание витаминов А и Е у пациентов с ОАП было также ниже, чем контрольной группе, хотя в декабре различия были недостоверными.

Нельзя не отметить, что у пациентов с ОАП особенно было понижено содержание витамина Е (норма 8—15 мг/%); понижение же уровня витамина А было менее выраженным (норма 30—70 мг/%). Учитывая, что витамин Е является ключевым естественным антиоксидантом, можно предположить, что именно недостаток этого метаболита являлся одной из важнейших причин накопления продуктов СРО. Считается, что витамин Е является более активным захватчиком АФК [5]; таким образом, активация СРО у пациентов с ОАП, диагностируемая по выявлению специфических продуктов в крови, коррелирует с понижением содержания естественных антиоксидантов, особенно витамина Е.

Анализируя показатели активности СОД, можно отметить, что у пациентов с ОАП активность этого фермента незначительно изменялась в I группе в динамике наблюдения (табл. 2) и была несколько ниже показателей в контроле. Во II группе соответствующие показатели при первом обследовании были значимо выше таковых в контрольной группе ($p<0,01$). В ходе проводимой терапии показатели закономерно понижались, на 3—4-е сутки они все еще превышали контрольные значения ($p<0,05$), но при обследовании на 6—7-е сутки уже значимо не отличались от контрольных.

Показатели активности ГП в динамике ОАП изменялись мало, хотя сезонные различия прослеживались достаточно отчетливо. В целом, уровень ГП в марте был значительно выше, чем в декабре.

Таким образом, у больных с ОАП отмечается активация антиоксидантного ферментативного звена в марте по сравнению с декабрем, проявляющаяся в повышении активности ферментов СОД и ГП, являющемся отражением активации процессов СРО в этот период года. В то же время, установлено, что на показатели активности антиоксидантных ферментов, таких, как СОД и ГП, может влиять наличие сопутствующей патологии. Так, у лиц с алкоголизмом и сопутствующей гипертензией известно нарастание показателей активности СОД, тогда как наличие или отсутствие сахарного диабета не сказывалось на показателях активности [14].

В патогенезе соматической патологии при развитии ОАП все еще остается неразрешенным ряд вопросов. Известно, что этанол как метаболит способствует генерации АФК, ингибирует синтез восстановленного глутатиона, повышает содержание конечных продуктов ПОЛ и влияет на АО систему в целом; причем убедительно установлено, что токсический эффект этанола уменьшается при использовании антиоксидантов [13]. В нашем исследовании прослеживалась отчетливая корреляция между содержанием важнейших природных антиоксидантов — витаминов Е и А, а также содержанием продуктов СРО и показателями активности ферментов АФС. Таким образом, полученные нами данные полностью вписываются в современные представления о роли антиоксидантов в развитии соматической патологии.

В то же время, наши материалы позволяют по-новому взглянуть на проблему развития СРО на фоне сезонной активации этих процессов. Активацию СРО определяет ряд факторов, среди которых количество субстрата для окисления АФК, количество собственно окислителя — АФК и их соотношение между собой, т.е. емкость системы антиокислительной защиты организма [5]. Именно это имеет место у жителей Крайнего Севера в марте, и, как мы видим во II группе пациентов, ситуация значительно более неблагоприятная по сравнению с таковой в декабре. Таким образом, сезонная активация процессов СРО у северян способствует развитию патологических осложнений при развитии ОАП и требует специальных методов и схем коррекции. Оптимизировать функциональное состояние АОС и устранить дисбаланс в системе ПОЛ/АОС при алкогольбуловленных патологических состояниях возможно при определении и изучении звеньев, в наибольшей степени страдающих в процессе развития оксидативного стресса.

Особенно актуальным в условиях Севера является развитие у пациентов с ОАП различных форм сердечно-сосудистых заболеваний. Существует предположение, что свободные радикалы (СР) влияют и модифицируют ЛПОНП, являющееся одним из ведущих механизмов развития ишемической болезни сердца при алкоголизме [8, 17]. Данные об особенностях липидного обмена у жителей Севера широко представлены в литературе [6]. Кроме того, показано, что при алкоголизме страдает метаболизм серосодержащих аминокислот, что сопровождается развитием этанол-индуцированной гипергомоцистеинемии [9]. Все это вместе является одной из ведущих причин развития заболеваний сердечно-сосудистой системы и их осложнений у пациентов-северян, злоупотребляющих алкоголем, и требует мер лечебной коррекции.

