

ГЕНДЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ПОДРОСТКОВ, ЗЛОУПОТРЕБЛЯВШИХ АЛКОГОЛЕМ

¹Щеглова Е.Л., ²Высокогорский В.Е., ¹Степанова И.П.

¹ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Омск, 644043, ул. Ленина, 12; e-mail: eleon_74@mail.ru

²ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина», Омск

Обследованы юноши и девушки подросткового периода, злоупотреблявшие алкоголем, через 1, 3, 5, 7 и 10 суток после последнего употребления алкоголя. Установлены гендерные отличия процессов свободнорадикального окисления, а также показателей антиоксидантной системы у подростков, злоупотреблявших алкоголем. Так, спонтанная светимость хемилюминесценции эритроцитов у подростков мужского пола повышается с первых суток после злоупотребления алкоголем, в противоположность этому, у девушек она снижена через 3 суток после поступления в стационар. Светосумма хемилюминесценции эритроцитов увеличена в 3 раза у девушек через 1 сутки после алкогольной интоксикации, а у юношей в 5 раз после злоупотребления алкоголем. Другие показатели хемилюминесценции - амплитуда вспышки и максимальная светимость, как у юношей, так и у девушек значимо не отличались от показателей контрольной группы. Наиболее значимые гендерные отличия установлены у показателей антиоксидантной защиты. Так, активность супероксиддисмутазы гемолизатов эритроцитов у юношей, злоупотреблявших алкоголем, повышается с первого дня на 21% и остается высокой через 3, 5 и 10 суток, однако у девушек нет существенных различий активности этого фермента в течение всего периода наблюдения. В отличие от девушек у юношей уровень восстановленного глутатиона эритроцитов выше на 55% через 3 суток и через 7 суток - на 38% после употребления спиртных напитков по сравнению со значениями группы контроля ($p < 0,05$). Активность глутатионпероксидазы эритроцитов у юношей в первые сутки после злоупотребления алкоголем снижается, а у девушек повышается. Гендерные особенности свободнорадикальных процессов и активности антиоксидантной защиты следует учитывать в разработке тактики лечения подростков, злоупотребляющих алкоголем.

Ключевые слова: алкогольная интоксикация, подростки, свободнорадикальное окисление, хемилюминесценция, глутатион, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, супероксиддисмутаза, каталаза, эритроциты.

GENDER PECULIARITIES OF ERYTHROCYTES FREE RADICAL PROCESS IN ALCOHOL ABUSED ADOLESCENTS

¹Scheglova E.L., ²Vysokogorskiy V.E., ¹Stepanova I.P.

¹GBOU VPO "Omsk State Medical University" Minzdrava RF; Omsk, Russia, 644043, Lenin St., 12; e-mail: eleon_74@mail.ru

²FGBOU VPO "Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin", Omsk

Alcohol abused adolescence (boys and girls) in 1, 3, 5, 7 and 10 days after the last alcohol consumption were examined. The gender differences in free radical oxidation, as well as indicators of the antioxidant system in adolescents who abused alcohol were found. As revealed spontaneous erythrocytes chemiluminescence luminosity in male adolescents increased from the first day of alcohol abuse, in contrast, in girls it is reduced in 3 days after admission to the hospital. Erythrocytes chemiluminescence light sum in girls increased by 3 times in 1 day after alcohol intoxication, and in boys 5 times after alcohol abuse. Other chemiluminescence indicators - amplitude flares and maximum luminosity, were not significantly different in boys and girls both compared the control group. The most significant gender differences in antioxidant protection indicators were found. Thus, the activity of erythrocytes hemolysate superoxide dismutase in abused alcohol young men increased from the first day by 21% and remains high through 3, 5 and 10 days, but in the girls there are no significant differences in the activity of this enzyme during the entire period of observation. Unlike girls, in boys the reduced erythrocytes glutathione level was higher by 55% in 3 days and 38% in 7 days after alcohol consumption compared with the control group values ($p < 0.05$). As we observed the activity of erythrocytes glutathione peroxidase decreases in young men and increases in girls in the first day after the alcohol abuse. Gender features of free radical process and antioxidant defense activity should consider in the development of treatment tactics for alcohol abused adolescents.

Keyword: Alcoholic intoxication, adolescents, free radical oxidation, chemiluminescence, reduced glutathione, glutathione peroxidase, glutathione reductase, superoxide dismutase, catalase.

Острая алкогольная интоксикация у подростков сопровождается активацией свободнорадикальных процессов, а также значительным повышением активности ферментов антиокислительной системы [5; 6]. Повышение активности каталазы и ферментов системы глутатиона зависит от скорости выведения неметаболизированного этанола с мочой, что может свидетельствовать о ранних стадиях развития оксидантного стресса [5]. Возрастной период приобщения к алкоголю, как у мальчиков, так и у девочек 13-14 лет. В то же время распространённость алкоголизации среди девочек статистически значимо выше, чем среди мальчиков [2], однако отсутствуют сведения о метаболических особенностях, включая данные о гендерных различиях свободнорадикальных процессов.

Цель исследования - выяснение гендерных особенностей свободнорадикального окисления и компонентов системы глутатиона в развитии острой алкогольной интоксикации у подростков, злоупотребляющих алкоголем.

Объект и методы исследования

Обследованы подростки (юноши и девушки) Омского областного наркологического диспансера в возрасте 15-17 лет, поступившие с диагнозом «Злоупотребление алкоголем». Забор крови проводился в стационаре через 1, 3, 5, 7, и 10 суток после последнего употребления алкогольных напитков. В контрольную группу вошли практически здоровые пациенты аналогичной возрастной категории, проходившие диспансеризацию в Городской детской клинической больнице № 2 им. В.П. Бисяриной г. Омска.

Биологическим материалом для проведения исследования служила венозная кровь, взятая в пробирку Vacutainer с гепарином, для исследования использовали гемолизаты отмытых эритроцитов.

Интенсивность свечения гемолизатов эритроцитов определяли на хемилюминомере ХЛ-003 (Уфа), в соответствии с методическими указаниями [3]. Хемилюминесценцию индуцировали добавлением 1 мл 50 мМ раствора сернокислого железа. Оценивали такие параметры, как спонтанная светимость (у.е.), максимальная светимость (у.ед.), амплитуда вспышки (у.е.) и светосумма (у.е.×мин).

Содержание восстановленного глутатиона определяли по Е. Beutler [7] в модификации Д.В. Черданцева и соавт. [4]; активность глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, супероксиддисмутазы исследовали с использованием тест-систем фирмы RANDOX (Великобритания); активность каталазы определяли по М.А. Королук [1].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с применением пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. В качестве основных характеристик описательной статистики при асимметричном распределении использовали медиану (Me), нижний и верхний квартили (P₂₅-P₇₅). Статистическую значимость различий оценивали с

использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (U). Критический уровень значимости при проверке нулевых гипотез был принят на уровне $p=0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

При определении параметров хемилюминесценции гемолизатов эритроцитов крови подростков, злоупотребляющих алкоголем, выявлены изменения показателей интенсивности свободнорадикального окисления. Светосумма хемилюминесценции у девушек повышена в 3 раза через 1 и 10 суток после употребления алкогольных напитков по сравнению со значениями контрольной группы ($p<0,05$). Аналогично показателям девушек у юношей, злоупотреблявших алкоголем, показатель светосуммы повышается в 5 раз через 1 сутки после злоупотребления алкоголем по сравнению с показателем контрольной группы ($p=0,036$).

Спонтанная светимость хемилюминесценции у девушек, злоупотреблявших алкоголем, снижена в 1,88 раза на 3-и сутки после употребления алкоголя относительно группы сравнения ($p=0,027$). В отличие от девушек у юношей, злоупотреблявших алкоголем, спонтанная светимость повышается в 2,66 раза в первые сутки после употребления алкоголя по сравнению с группой контроля ($p=0,03$).

У юношей, злоупотреблявших алкоголем, так же как и у девушек, другие показатели хемилюминесценции - амплитуда вспышки и максимальная светимость - значимо не отличались от показателей контрольной группы (таблица 1).

Таблица 1

Показатели хемилюминесценции крови подростков, злоупотреблявших алкоголем, Ме (P₂₅-P₇₅)

Показатель и	Пол	Контрольная группа	Сроки лечения в стационаре девочки				
			1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки	7-е сутки	10-е сутки
Светосумма, у.е.*мин	девушки	0,81 (0,58-0,81)	2,44 (1,28-5,24) $p=0.0102$	1,82 (0,97-6,49)	1,13 (1,03-2,03)	3,29 (0,62-4,49)	2,38 (1,58-12,1) $p=0.041$
	юноши	2,23 (1,88-2,71)	11,04 (1,88-26,42) $p=0.036$	2,61 (1,13-8,0)	1,60 (1,17-2,66)	2,87 (2,11-4,21)	3,01 (1,81-9,43)
Спонтанная светимость, у.е.	девушки	0,45 (0,45-0,58)	0,23 (0,23-0,52)	0,24 (0,16-0,36) $p=0.027$	0,20 (0,12-0,43)	0,17 (0,06-0,36)	0,30 (0,12-0,43)

	юноши	0,29 (0,26- 0,45)	0,77 (0,3-2,03) p=0.03	0,44 (0,26- 0,83)	0,35 (0,12- 0,56)	0,56 (0,39- 0,90)	0,47 (0,41- 0,71)
Максимальная светимость, у.е.	девушки	0,34 (0,34- 1,65)	0,79 (0,30- 2,17)	1,54 (0,78- 4,15)	0,46 (0,36- 0,52)	0,99 (0,47- 1,84)	0,84 (0,43- 2,64)
	юноши	0,65 (0,46- 1,14)	1,46 (0,4-3,0)	0,66 (0,36- 2,67)	1,01 (0,43- 2,54)	1,55 (1,05- 1,66)	0,71 (0,56- 2,34)
Вспышка, у.е.	девушки	0,42 (0,01- 0,85)	0,55 (0,29- 1,25)	0,78 (0,44- 1,14)	0,44 (0,21- 1,07)	0,53 (0,29- 2,44)	1,14 (0,28- 1,48)
	юноши	1,03 (0,75- 1,06)	0,54 (0,47- 1,29)	0,84 (0,33- 1,45)	0,77 (0,57- 1,17)	1,41 (0,53- 3,28)	1,16 (0,96- 1,60)
Примечание: Me – медиана, P ₂₅ – нижний квартиль, P ₇₅ – верхний квартиль, p – уровень статистической значимости различий в сравнении с контрольной группой по критерию U; у.е.- условные единицы свечения.							

Отмечены статистически значимые гендерные различия показателя светосуммы и амплитуды вспышки в контрольной группе. У юношей контрольной группы достоверно выше (в 2,75 раза) значение светосуммы, чем у девушек контрольной группы (p=0,012). Амплитуда вспышки выше в 2,45 раза у юношей контрольной группы, чем у девушек контрольной группы (p=0,0018).

Установлены значимые гендерные отличия активности фермента антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы эритроцитов крови, которая у юношей, злоупотреблявших алкоголем, повышается с первого дня на 21% и остается высокой через 3, 5 и 10 суток (p<0,05), в то же время у девушек нет существенных различий активности этого фермента в течение всего периода наблюдения.

Активность каталазы гемолизатов эритроцитов сохраняется повышенной в сравнении с группой контроля (p<0,05) на протяжении всего периода наблюдения – до 10 суток, как у девушек, так и у юношей (таблица 2).

Наиболее значимые изменения наблюдались у другого компонента антиоксидантной защиты – содержания в гемолизатах эритроцитов глутатиона. Так, у девушек, злоупотреблявших алкоголем, уровень восстановленного глутатиона эритроцитов значительно ниже (на 44%) на 10-е сутки после злоупотребления алкоголем в сравнении с контрольной группой (p=0,007). В отличие от девушек у юношей уровень восстановленного глутатиона эритроцитов выше на 55% через 3 суток после употребления спиртных напитков и через 7 суток - на 38% по сравнению со значениями группы контроля (p<0,05).

Активность глутатионредуктазы эритроцитов подростков, злоупотреблявших алкоголем, как мужского, так и женского пола, не отличается от показателей контрольных групп.

Однако активность другого фермента системы глутатиона – глутатионпероксидазы – имеет существенные гендерные различия. Если у девушек активность глутатионпероксидазы в первые сутки повышается на 31%, то у юношей, злоупотреблявших алкоголем, она снижается на 68% в первые сутки после злоупотребления алкоголем. Через 10 суток лечения в стационаре у девушек, злоупотреблявших алкоголем, активность глутатионпероксидазы снижена на 45% ($p < 0,05$), а у юношей - отсутствуют существенные различия активности глутатионпероксидазы с показателями контрольной группы.

Таблица 2

Уровень восстановленного глутатиона и активность ферментов антиокислительной системы подростков, злоупотреблявших алкоголем, Ме (P₂₅-P₇₅)

Показатели	Пол	Контроль ная группа	Сроки лечения в стационаре				
			1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки	7-е сутки	10-е сутки
Восстановленный глутатион, мкмоль/г Нб.	девушки	2,04 (1,48-3,3)	1,87 (1,67-3,04)	2,11 (1,67-2,81)	1,58 (1,54-1,62)	1,57 (1,34-1,94)	1,42 (1,16-1,80) p=0,007
	юноши	1,66 (1,35-1,94)	2,27 (1,79-2,63)	2,57 (1,91-2,92) p=0,014	1,51 (1,35-1,83)	2,29 (1,92-3,29) p=0,035	2,14 (1,49-3,16)
Активность глутатионредуктазы, МЕ/г Нб.	девушки	12,55 (10,52-12,8)	13,00 (11,0-13,25)	10,24 (8,92-14,5)	13,69 (8,6-15,89)	11,09 (10,0-12,71)	10,42 (10,0-11,61)
	юноши	13,45 (11,44-14,3)	12,03 (10,7-13,27)	15,04 (8,17-17,0)	13,42 (12,0-13,83)	11,93 (11,36-13,18)	12,31 (10,72-14,79)
Активность глутатионпероксидазы, МЕ/г Нб.	девушки	140,65 (113,95-171,0)	184,6 (98,8-219,2) p=0,0016	117,88 (87,14-139,21)	110,81 (106,0-120,34)	160,06 (80,77-198,67)	96,67 (80,0-145,77) p=0,01
	юноши	160,43 (93,0-189,34)	95,66 (85,0-111,6) p=0,03	116,43 (83,0-180,0)	111,93 (81,61-153,48)	144,3 (102,8-185,62)	117,91 (88,4-200,0)
Активность СОД, Ед/г Нб.	девушки	2,11 (1,72-2,42)	2,10 (1,38-2,81)	2,24 (1,97-2,55)	1,86 (1,77-1,98)	2,46 (2,22-2,71)	2,45 (2,33-2,84)
	юноши	2,11	2,56	2,83	2,83	2,42	2,89

		(1,81-2,3)	(2,4-2,63) p=0.01	(2,55-3,49) p=0.00027	(2,38-2,99) p=0.0018	(2,15-2,56)	(2,08-3,67) p=0.027
Активность каталазы, ммоль/(мин*л)	девушки	2,98 (2,02-3,14)	4,19 (4,15-4,25) p=0,017	4,04 (3,94-4,13) p=0,039	4,06 (4,04-4,14) p=0,041	4,02 (4,02-4,24) p=0,049	4,15 (3,96-4,24) p=0,037
	юноши	1,76 (1,02-4,02)	4,05 (3,92-4,2) p=0,027	4,12 (4,02-4,24) p=0,026	4,24 (4,18-4,36) p=0,027	4,23 (3,95-4,39) p=0,0013	4,12 (4,07-4,39) p=0,0163
Примечания: Me – медиана, P25 – нижний квартиль, P75 – верхний квартиль, p – уровень статистической значимости различий в сравнении с контрольной группой по критерию U.							

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у подростков, злоупотреблявших алкоголем, имеются существенные гендерные отличия интенсивности свободнорадикальных процессов, проявляющиеся как в интенсивности спонтанной светимости хемилюминесценции, так и в активности ферментов антиокислительной системы и содержания глутатиона. Высокая спонтанная светимость у подростков мужского пола после злоупотребления алкоголем отражает повышенный исходный уровень свободных радикалов, потенциальную способность компонентов системы подвергаться свободнорадикальному окислению. Полученные результаты подтверждают данные о существенных нарушениях системы глутатиона и процессов свободнорадикального окисления, полученные нами ранее при острой алкогольной интоксикации подростков [5; 6]. Как оказалось, эти изменения антиокислительной системы особенно резко проявляются в организме подростков мужского пола и заключаются в существенном повышении активности СОД и уровня глутатиона. Гендерные особенности свободнорадикальных процессов и активности антиоксидантной защиты необходимо учитывать в разработке тактики лечения подростков, злоупотребляющих алкоголем.

Список литературы

1. Королук М.А. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
2. Скворцова Е.С., Абрамов А.Ю. Современные школьники-подростки и употребление алкоголя. Обзор ситуации по данным мониторинга 2010-2011 гг. // Наркология. - 2014. - Т. 13. - № 2 (146). - С. 38-41.
3. Фархутдинов Р.Р., Лиховских В.А. Хемилюминесцентные методы исследования свободнорадикального окисления в биологии и медицине. – Уфа, 1998. - 90 с.

4. Черданцев Д.В., Винник Ю.С., Каспаров Э.В. Диагностика и лечение окислительного стресса при остром панкреатите. – Новосибирск, 2002. - 147 с.
5. Щеглова Е.Л., Высокогорский В.Е., Индутный А.В., Воложанина Е.В. Активность ферментов антиоксидантной защиты в крови подростков при острой алкогольной интоксикации // Наркология. - 2014. - Т. 13. - № 10 (154). - С. 64-67.
6. Щеглова Е.Л., Высокогорский В.Е., Индутный А.В., Ершов А.В., Орлова Н.В., Пискарева Н.И. Хемилюминесценция эритроцитов подростков при острой алкогольной интоксикации // Фундаментальные исследования. - 2015. - № 1-1. - С. 190-193.
7. Beutler E. Red cell metabolism. A manual biochemical methods. – Orlando : Grune & Stratton, 1990. - P. 131-134.

Рецензенты:

Корпачева О.В., д.м.н., доцент кафедры патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии, ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Омск;

Григорьев А.И., д.б.н., профессор, зав. кафедрой экологии и природопользования, ФГБОУ ВПО «Омский государственный педагогический университет», г. Омск.