

АССОЦИАЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА С КЛИНИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ И ФАКТОРАМИ ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛИЗМОМ

© 2024 В.Д. Прокопьева^{1*}, Т.П. Ветлугина¹, Е.В. Епимахова¹,
А.С. Бойко¹, Н.А. Бохан^{1,2}

¹ Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН,
Научно-исследовательский институт психического здоровья,
634014 Томск, Россия; электронная почта: valyaprok@mail.ru

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, 634050 Томск, Россия

Поступила в редакцию 29.05.2024

После доработки 26.07.2024

Принята к публикации 24.08.2024

Фундаментальной проблемой наркологии является уточнение механизмов развития алкогольной зависимости (АЗ), в патогенезе которой важную роль играют нарушения окислительно-восстановительных процессов и воспаление. Выявление ассоциаций биологических и клинических показателей проясняет молекулярные механизмы патогенеза заболевания. Целью работы было изучение периферических маркеров окислительного стресса (ОС) у больных АЗ в ранний период постабstinентного состояния и выявление их взаимосвязи с клиническими характеристиками заболевания и факторами воспаления. Определяли показатели 84 больных АЗ мужчин (средний возраст – 44,3 ± 8,2 года). Анализировали клинические характеристики: возраст пациента, возраст формирования алкогольного абстинентного синдрома (ААС), давность заболевания, продолжительность ААС. В плазме крови определяли маркеры ОС – продукты окисления белков (карбонилы белков, КБ) с использованием 2,4-динитрофенилгидразина; липидов (продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), ТБК-РП); ДНК (8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин, 8-OH-dG). В сыворотке крови определяли медиаторы воспаления – провоспалительные цитокины (ИФН γ , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17А, ФНО α). Контроль при биологических исследованиях – образцы крови 80 условно здоровых мужчин (средний возраст – 40,9 ± 9,6 года). У больных АЗ выявлено повышение КБ, ТБК-РП и всех цитокинов по сравнению с контролем; концентрация 8-OH-dG не отличалась от контроля. Обнаружены: прямая связь ТБК-РП с давностью заболевания; обратная связь КБ с возрастом формирования и продолжительностью ААС. КБ имели обратную связь с ИЛ-6. Между 8-OH-dG и ИЛ-6, ТБК-РП и ИЛ-8, ТБК-РП и ФНО α выявлены положительные корреляции. Таким образом, ранний период постабstinентного состояния у больных АЗ характеризуется выраженным ОС и воспалением. Полученные результаты расширяют знания об интегративном вкладе факторов ОС и воспаления в патогенез АЗ и могут быть применены для разработки новых методов лечения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: маркеры окислительного стресса, провоспалительные цитокины, алкогольная зависимость.

DOI: 10.31857/S0320972524110042 EDN: IKUKUM

ВВЕДЕНИЕ

Современные исследования в области биологической наркологии показывают, что течение алкоголизма (алкогольной зависимости, АЗ), как и многих патологических состояний, сопровождается окислительным стрессом (ОС). При алкого-

лизме, помимо общих механизмов формирования и развития ОС, имеются специфические, которые связаны с дополнительными источниками генерации свободных радикалов, в том числе и активных форм кислорода (АФК), в результате трансформации этанола и его основного метаболита ацетальдегида в организме [1–3].

Алкоголь преодолевает гематоэнцефалический барьер, вызывая активацию микроглии,

* Адресат для корреспонденции.

приводя к усилению продукции провоспалительных цитокинов, нейровоспалению в центральной нервной системе, нарушению нейроиммунной коммуникации, что отражается на поведенческих реакциях пациентов [4–6]. Кроме того, длительное употребление алкоголя ослабляет кишечный барьер, способствуя выходу в кровь бактериальных компонентов, таких как липополисахариды (ЛПС), которые активируют иммунную систему главным образом через рецепторы иммунных клеток (TLR4), с повышением уровня циркулирующих цитокинов, развитием воспалительного процесса и опосредованым алкоголем поражением внутренних органов [7].

Активированные клетки иммунной системы генерируют АФК, воспалительный процесс всегда сопровождается окислительным стрессом [8, 9]. Нарушения антиоксидантной и иммунной защиты при длительном потреблении алкоголя способствуют формированию у пациентов сопутствующей соматической патологии, в существенной мере снижающей эффективность стандартной терапии. На основе данных о молекулярных механизмах повреждающего действия этанола на клетки системы и органы разрабатываются и внедряются в практику новые вспомогательные терапевтические подходы, которые заключаются в дополнительном назначении к стандартной терапии различных препаратов, направленных на молекулярные мишени токсического воздействия этанола, что позволяет существенно повысить эффективность лечения [10]. Важная информация о фундаментальных процессах, вовлеченных в патогенез АЗ, необходимая для совершенствования существующих и разработки новых методов лечения, может быть получена при изучении особенностей ОС на разных этапах течения заболевания и выявлении клинико-биологических ассоциаций.

Целью настоящей работы было изучение периферических маркеров окислительного стресса у больных алкогольной зависимостью в ранний период постабstinентного состояния и выявление их взаимосвязи с клиническими характеристиками заболевания и факторами воспаления.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализировали показатели 84 больных алкоголизмом мужчин в возрасте 30–60 лет (средний возраст – $44,3 \pm 8,2$ года), поступивших на

лечебие в клинику НИИ психического здоровья с диагнозом по МКБ-10 «Психические и поведенческие расстройства в результате употребления алкоголя (синдром зависимости – F10.21 и синдром отмены – F10.30)», с давностью заболевания $13,6 \pm 8,0$ лет. Диагностическую оценку и клиническую верификацию диагноза проводили врачи-наркологи отделения аддиктивных состояний (научный руководитель отделения – академик РАН Н.А. Боян). На каждого пациента заполняли «Карту стандартизованного описания обследуемого», в которую, кроме общих идентифицирующих данных, вносили клинические характеристики заболевания, среди них – возраст на момент обследования; возраст формирования алкогольного абстинентного синдрома (AAC); давность заболевания, которую исчисляли от возраста формирования AAC до возраста пациента на дату обследования; продолжительность AAC после отмены приема алкоголя. Контролем при биологических исследованиях служили образцы крови 80 условно здоровых мужчин (средний возраст – $40,9 \pm 9,6$ года), не имеющих проблем с употреблением алкоголя, а также хронических соматических заболеваний в стадии обострения и признаков перенесенных острых инфекционных заболеваний. Из 37 образцов крови здоровых мужчин была получена плазма, которую затем использовали для определения маркеров ОС. Кровь других 43 условно здоровых мужчин использовали для получения сыворотки крови, в которой определяли медиаторы воспаления.

Кровь у пациентов брали на 3–5 день их поступления в стационар после алкогольной детоксикации, направленной на удаление из токсических веществ и редукцию AAC. Периферическую венозную кровь у больных АЗ и лиц группы контроля отбирали утром натощак с использованием стерильной системы однократного применения Vacutainer («Becton Dickinson», США) в пробирки, покрытые гепарином (для получения плазмы крови) и активатором свертывания крови (для получения сыворотки крови). Кровь центрифугировали, сыворотку и плазму разливали по аликовотам и хранили при температуре -80°C до использования.

В плазме крови определяли продукты окисления белков по концентрации карбонилов белков (КБ) с использованием метода, основанного на реакции взаимодействия карбонильных производных белков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов [11].

Принятые сокращения: AAC – алкогольный абстинентный синдром; АЗ – алкогольная зависимость; ИЛ – интерлейкин; ИФН γ – интерферон гамма; КБ – карбонилы белков; ОС – окислительный стресс; ПОЛ – перекисное окисление липидов; ТБК – тиобарбитуровая кислота; ТБК-РП – ТБК-реактивные продукты; ФНО α – фактор некроза опухоли альфа; 8-OH-dG – 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин(8-оксо-7,8-дигидро-2'-дезоксигуанозин).

Использовали 2,4-динитрофенилгидразин («Rapigreac», Испания). Концентрацию КБ выражали в нмоль/мг белка. Общий белок определяли с помощью набора Total Protein 120 («Cormay», Польша), выражали в мг/мл. Продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по концентрации реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) реактивных продуктов (ТБК-РП) с использованием набора ТВА AGAT («Агат-Мед», Россия), концентрацию ТБК-РП выражали в нмоль/мл. Измерение концентрации продукта окислительного повреждения ДНК – 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина (8-OH-dG) – проводили иммуноферментным методом с использованием набора DNA Damage Competitive Elisa Kit («Thermo Fisher Scientific», США), концентрацию 8-OH-dG выражали в нг/мл. Измерение оптической плотности проб и расчет концентраций окисленных продуктов макромолекул плазмы крови осуществляли на приборе EPOCH («Bio Tek Instruments», США).

Факторы воспаления оценивали по уровню провоспалительных цитокинов в сыворотке крови. Определяли концентрацию интерферона гамма (ИФН γ); интерлейкина 1 бета (ИЛ-1 β); интерлейкина 6 (ИЛ-6); интерлейкина 8 (ИЛ-8); интерлейкина 17А (ИЛ-17А) и фактора некроза опухоли альфа (ФНО α) – на мультиплексном анализаторе MAGPIX («Luminex», США) (ЦКП «Медицинская геномика», Томский НИМЦ) с использованием наборов реагентов MILLIPLEX MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel («Merck», Германия), выражали в пг/мл.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы SPSS, версия 23.0 для Windows. Описательная статистика представлена медианой и межквартильным интервалом Me [Q₁–Q₃]. Возраст участников исследования и длительность заболевания представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ($M \pm \sigma$). Проверку на нормальность распределения значений переменных проводили по критерию Шапиро–Уилка. Для межгруппового сравнения использовали критерий Манна–Уитни. Корреляционный анализ проводили с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена.

Таблица 2. Периферические маркеры окислительного стресса в плазме крови больных алкоголизмом и здоровых лиц; Me [Q₁–Q₃]

Показатель	Больные алкоголизмом, n = 84	Контроль, n = 37	p между группами
КБ, нмоль/мг белка	0,42 [0,35–0,49]	0,33 [0,27–0,39]	<0,001
ТБК-РП, нмоль/мл	2,97 [2,50–3,55]	2,40 [2,10–2,80]	<0,001
8-OH-dG, нг/мл	13,30 [9,84–16,08]	12,84 [11,16–16,45]	0,908

Примечание. n – Количество обследованных лиц; КБ – карбонилы белков; ТБК-РП – ТБК-реактивные продукты; 8-OH-dG – продукт окислительной модификации ДНК.

Корреляционные взаимосвязи и различия между группами считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В табл. 1 приведены данные клинического обследования пациентов.

Биологические исследования у больных алкоголизмом проведены в ранний период постабstinентного состояния после алкогольной детоксикации.

В табл. 2 представлены результаты сравнительного изучения периферических маркеров ОС у больных АЗ и здоровых лиц.

В табл. 3 приведены результаты исследования периферических цитокинов – медиаторов воспаления – у больных алкоголизмом.

Основной целью нашего исследования явилось выявление взаимосвязей маркеров ОС с клиническими характеристиками заболевания и факторами воспаления. Проведенный корреляционный анализ выявил статистически значимые взаимосвязи, представленные в табл. 4.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерение периферических маркеров окислительного стресса – продуктов окисления липидов

Таблица 1. Клинические характеристики больных алкоголизмом (n = 84); Me [Q₁–Q₃]

Возраст, лет	44,50 [38,00–50,00]
Возраст формирования ААС, лет	30,00 [25,00–35,00]
Давность заболевания, лет	12,50 [7,00–19,00]
Продолжительность ААС, сутки	4,00 [2,00–4,00]

Примечание. n – Количество обследованных лиц; ААС – алкогольный абстинентный синдром.

Таблица 3. Концентрация провоспалительных цитокинов у больных алкоголизмом и здоровых лиц; Me [Q_L–Q_U]

Показатель	Больные алкоголизмом, n = 31	Контроль, n = 43	p между группами
ИФН γ , пг/мл	32,46 [29,36–35,44]	3,07 [0,88–5,47]	p < 0,001
ИЛ-1 β , пг/мл	5,56 [4,91–6,41]	0,68 [0,25–2,46]	p < 0,001
ИЛ-6, пг/мл	5,96 [4,74–10,47]	1,26 [0,35–4,06]	p < 0,001
ИЛ-8, пг/мл	26,38 [19,72–40,53]	8,59 [5,69–13,78]	p < 0,001
ИЛ-17А, пг/мл	24,27 [22,53–27,82]	2,83 [1,07–5,17]	p < 0,001
ФНО α , пг/мл	30,03 [28,55–38,67]	9,75 [7,00–12,49]	p < 0,001

Примечание. n – Количество обследованных лиц; ИФН γ – интерферон гамма; ИЛ-1 β – интерлейкин 1 бета; ИЛ-6 – интерлейкин 6; ИЛ-8 – интерлейкин 8; ИЛ-17А – интерлейкин 17А; ФНО α – фактор некроза опухоли альфа.

Таблица 4. Корреляционные связи периферических маркеров окислительного стресса с клиническими характеристиками и факторами воспаления у больных алкоголизмом

Параметры	Коэффициент Спирмена (rs)	p
ТБК-РП и давность заболевания	0,201	0,049
КБ и возраст формирования ААС	-0,245	0,025
КБ и продолжительность ААС	-0,246	0,024
КБ и ИЛ-6	-0,620	0,003
8-ОН-dG и ИЛ-6	0,433	0,044
ТБК-РП и ИЛ-8	0,457	0,049
ТБК-РП и ФНО α	0,468	0,037

Примечание. КБ – Карбонилы белков; ТБК-РП – ТБК-реактивные продукты; 8-ОН-dG – продукт окислительной модификации ДНК; ААС – алкогольный абстинентный синдром; ИЛ-6 – интерлейкин 6; ИЛ-8 – интерлейкин 8; ФНО α – фактор некроза опухоли альфа.

дов, белков и ДНК плазмы крови – у больных алкоголизмом в ранний период постабstinентного состояния показало наличие у пациентов выраженного окислительного стресса. Это следует из статистически значимо повышенных концентраций карбонилов белков и ТБК-реактивных продуктов плазмы крови у пациентов по сравнению с контролем (табл. 2). О значительном увеличении периферических маркеров ОС – продукта ПОЛ малонового диальдегида и карбонилов белков в сыворотке крови больных алкоголизмом, по сравнению со здоровыми лицами, сообщается в работах других авторов [12, 13].

В то же время концентрация продукта окислительной модификации ДНК у больных АЗ не отличалась от контроля (табл. 2). Ранее мы сообщали о повышении концентрации 8-ОН-dG в образцах плазмы крови, полученных у больных АЗ при поступлении в стационар в состоянии ААС [14]. В литературе есть данные о повышении уровня 8-ОН-dG у больных алкоголизмом как в состоянии ААС, так и после 1-недельной детоксикации [15]. Разные результаты можно объяснить этапами заболевания, на которых проводились исследования, а также большим разнообразием механизмов, которые в организме человека могут влиять на уровень продуктов окисления ДНК в плазме крови. Анализ литературных данных о биомедицинских свойствах, механизмах действия и возможных терапевтических эффектах таких метаболитов ДНК проведен в обзоре Черникова и др. [16]. Известно более 30 продуктов окислительной модификации азотистых оснований нуклеиновых кислот, среди которых наиболее изучены 8-оксо-7,8-дигидрогуанин (8-око-G) и 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин (8-ОН-dG). Образование 8-око-G является наиболее распространенным видом окислительного повреждения нуклеиновых кислот [17], а 8-ОН-dG считаются одними из основных биомаркеров окислительного стресса [15, 18]. Показано, что свободный 8-око-G играет роль медиатора стрессовой сигнализации в клетке, запуская и потенцируя воспалительные и иммунные реакции с целью поддержания гомеостаза при действии внешних агентов, в то время как 8-ОН-dG может проявлять выраженные противовоспалительные и антиоксидантные свойства [16]. В другой работе – обзоре литературных источников, касающихся биологической роли 8-оксо-2'-dG [19], – при рассмотрении антиоксидантных и противовоспалительных свойств этого соединения отмечается, что в ряде работ показано повышение содержания этого продукта

окисления ДНК в первое время действия стрессового фактора, а затем – возвращение к нормальным или даже пониженным значениям. Отмечается, что в период компенсации происходит резкий рост активности антиоксидантных и репаративных ферментов. Вопрос, сам ли продукт окисления ДНК вызывает усиление экспрессии генов этих ферментов или это происходит в результате действия других факторов, остается нерешенным. Однако, кроме того, что 8-OH-dG довольно давно и успешно используется в качестве биомаркера ОС, есть данные, свидетельствующие об участии этого соединения в регуляции экспрессии генов, в процессах репарации ДНК, контроле воспалительных и аутоиммунных реакций, запуске антиоксидантных систем [19]. Таким образом, факт отсутствия различий в уровне продукта окисления ДНК 8-OH-dG в плазме крови больных АЗ, по сравнению с контролем, в нашем исследовании вполне объясним, поскольку этот метаболит не только накапливается в организме во время ОС, но и активно включается в регуляцию метаболических процессов, которые, в свою очередь, могут влиять на его концентрацию в плазме крови.

Определение провоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных алкоголизмом показало, что концентрация всех исследованных медиаторов воспаления существенно выше контроля ($p < 0,001$ во всех случаях). Наибольшее повышение концентрации (более чем на порядок) обнаружено у ИФН γ (табл. 3). Ранее, при изучении спонтанной продукции цитокинов (ИФН γ , ИЛ-17А, ИЛ-1Р α , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО α) иммунокомпетентными клетками, было выявлено значительное повышение спонтанной продукции цитокинов в супернатантах культур образцов крови больных АЗ по сравнению со здоровыми лицами [20]. Установлены корреляционные взаимосвязи между спонтанной продукцией цитокинов клетками крови больных АЗ и продуктами окисления белков и липидов плазмы крови этих больных [21]. Обнаруженные корреляции косвенно свидетельствуют о стимулирующем влиянии этанола и продуктов его метаболизма на иммунокомпетентные клетки *in vivo*. При этом продукты окисления этанола могут по-разному модулировать синтез цитокинов, что было продемонстрировано на модели потребления алкоголя (на крысах) при оценке роли алкоголь-индукции окислительного стресса в модуляции выработки цитокинов в гепатоцитах и клетках Купфера печени [22]. Выявлено, что продукты окисления по-разному модулируют синтез провоспалительных цитокинов/хемокинов через транскрипционный фактор NF-кB, ацетилирование гистонов, нарушение стабильности мРНК. Так, пероксид

водорода (H_2O_2) стимулировал ЛПС-индукционное производство цитокинов/хемокинов в клетках Купфера, в то время как 4-гидроксиненаль оказывал ингибирующее действие.

Изучение корреляционных связей маркеров окислительного стресса и клинических характеристик заболевания выявило отрицательные ассоциации концентрации КБ с возрастом формирования ААС, а также с продолжительностью ААС после отмены алкоголя (табл. 4). В механизмах формирования и развития алкогольной зависимости задействованы многие молекулярные пути, и однозначно объяснить выявленные взаимосвязи не представляется возможным. Тем не менее можно определенно говорить о том, что карбонилы белков вовлечены в эти механизмы.

Выявлена также прямая связь уровня продуктов перекисного окисления липидов (ТБК-РП) с давностью заболевания. Известно, что старение связано с увеличением количества продуктов окисления биомакромолекул [23–25]. В работе Spiteller [25] приводятся доказательства того, что продукты ПОЛ образуются в результате процессов, индуцированных изменениями структуры клеточной мембранны, которые происходят при старении, а также при действии неблагоприятных факторов, к которым можно отнести и систематическое длительное потребление алкоголя. Структурные изменения биомембран при действии этанола приводят к активации мембраносвязанных фосфолипаз, что индуцирует приток ионов Ca^{2+} и активацию липоксигеназ, превращающих полиненасыщенные жирные кислоты в гидроперекиси липидов, которые могут разлагаться под действием ферментов до сигнальных соединений. Индуцируются процессы неферментативного ПОЛ, продолжается накопление продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой – ТБК-РП [24]. Выявленная в нашей работе корреляция ТБК-РП с давностью заболевания может быть связана с этим механизмом накопления продуктов ПОЛ у больных алкогольной зависимостью.

Обнаруженные в настоящем исследовании корреляционные связи параметров окислительного стресса и провоспалительных цитокинов подтверждают тесную взаимосвязь воспаления и ОС [8, 9]. Особенно значимой является связь маркеров ОС с ИЛ-6 – важнейшим медиатором воспаления, индуцирующим синтез белков острой фазы. Отметим наиболее сильную из всех выявленных ассоциаций обратную связь КБ с ИЛ-6 и прямую связь умеренной силы 8-OH-dG с этим цитокином (табл. 4). Как уже упоминалось, есть данные, что 8-OH-dG проявляет выраженные антиоксидантные свойства [16, 19]. Одним из объяснений полученных ассоциаций может быть

следующее: в результате воспалительного процесса при нарастании ИЛ-6 происходит окисление макромолекул плазмы крови с повышением, в том числе продуктов окисления ДНК (8-OH-dG), отсюда прямая связь ИЛ-6 с 8-OH-dG. Поскольку 8-OH-dG может оказывать антиоксидантный эффект, его накопление в крови может препятствовать окислению белков, снижать концентрацию карбонилов белков крови. Это, в свою очередь, может приводить к выявленной в нашей работе отрицательной корреляции между ИЛ-6 и концентрацией КБ.

Приведенные объяснения ассоциаций маркеров ОС с клиническими характеристиками заболевания и медиаторами воспаления являются лишь гипотетическими. Необходимы дальнейшие исследования и накопление данных для выявления взаимовлияния метаболических путей на разных этапах течения алкогольной зависимости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что ранний период постабstinентного состояния у больных с алкогольной зависимостью сопровождается выраженным окислительным стрессом с накоплением в крови продуктов окислительной модификации белков и липидов.

Выявлены взаимосвязи маркеров ОС с давностью заболевания, возрастом формирования алкогольного абстинентного синдрома, продолжительностью ААС. Обнаружены корреляции между КБ, ТБК-РП, 8-OH-dG и провоспалительными цитокинами, концентрация которых статистически значимо повышена у пациентов с АЗ.

В совокупности показано, что исследуемые периферические биомаркеры отражают интегративный вклад окислительного стресса и воспаления в патогенез алкогольной зависимости. Полученные результаты расширяют имеющиеся знания о патогенезе алкоголизма и могут быть применены при разработке новых методов лечения пациентов с дополнительным включением препаратов, действие которых направлено на нормализацию оксидативного статуса и снижение процессов воспаления.

Вклад авторов. В.Д. Прокопьева, Т.П. Ветлугина, Н.А. Бохан – концепция и руководство работой; Е.В. Епимахова, А.С. Бойко – проведение экспериментов; В.Д. Прокопьева, Т.П. Ветлугина, Е.В. Епимахова – обсуждение результатов исследования и написание текста; Т.П. Ветлугина, Н.А. Бохан – редактирование текста статьи.

Финансирование. Исследование выполнено за счет бюджетного финансирования ГЗ № 075-00712-24-00, тема НИР № 122020200053-1.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в финансовой или какой-либо иной сфере.

Соблюдение этических норм. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием людей, соответствуют этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 года и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом при НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 147 от 22 ноября 2021 г., дело № 147/5.2021).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zima, T., Albano, E., Ingelman-Sundberg, M., Arteel, G. E., Thiele, G. M., Klassen, L. W., and Sun A. Y. (2005) Modulation of oxidative stress by alcohol, *Alcoholism*, **29**, 1060-1065, <https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000168168.43419.54>
2. Huang, M. C., Chen, C. H., Peng, F. C., Tang, S. H., and Chen C. C. (2009) Alterations in oxidative stress status during early alcohol withdrawal in alcoholic patients, *J. Formos. Med. Assoc.*, **108**, 560-569, [https://doi.org/10.1016/S0929-6646\(09\)60374-0](https://doi.org/10.1016/S0929-6646(09)60374-0).
3. Прокопьева В. Д., Ветлугина Т. П. (2023) Особенности окислительного стресса при алкоголизме (обзор), *Биомед. Хим.*, **69**, 83-96, <https://doi.org/10.18097/PBMC20236902083>.
4. Coleman, L. G. Jr., and Crews, F. T. (2018) Innate immune signaling and alcohol use disorders, *Handb. Exp. Pharmacol.*, **248**, 369-396, https://doi.org/10.1007/164_2018_92.
5. Crews, F. T., Lawrimore, C. J., Walter, T. J., and Coleman, L. G. Jr. (2017) The role of neuroimmune signaling in alcoholism, *Neuropharmacology*, **122**, 56-73, <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.01.031>.
6. Airapetov, M., Eresko, S., Lebedev, A., Bychkov, E., and Shabanov, P. (2021) The role of Toll-like receptors in neurobiology of alcoholism, *Biosci. Trends.*, **15**, 74-82, <https://doi.org/10.5582/bst.2021.01041>.
7. Erickson, E. K., Grantham, E. K., Warden, A. S., and Harris, R. A. (2019) Neuroimmune signaling in alcohol use disorder, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **177**, 34-60, <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2018.12.007>.

8. Agita, A., and Alsagaff, M. T. (2017) Inflammation, immunity, and hypertension, *Acta Med. Indone.*, **49**, 158-165.
9. Yan, C., Hu, W., Tu, J., Li, J., Liang, Q., and Han, S. (2023) Pathogenic mechanisms and regulatory factors involved in alcoholic liver disease, *J. Transl. Med.*, **21**, 300, <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04166-8>.
10. Ветлугина Т. П., Прокопьева В. Д., Бохан Н. А. (2023) *Биологические основы адъювантной терапии алкоголизма*, Томск, Изд-во Томского государственного университета, 208 с.
11. Levine, R. L. (2002) Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging and disease, *Free Radic. Biol. Med.*, **32**, 790-796.
12. Yildirim, T., Armutcu, F., Hasgul, R., Yuksel, R. N., Sengezer, T., and Erdamar, H. (2013) Oxidative stress markers, alpha-fetoprotein and alpha-fetoprotein-L3 levels of alcohol dependent subjects, *Oxid. Antioxid. Med. Sci.*, **2**, 303-307, <https://doi.org/10.5455/oams.031013.or.053>.
13. Galicia-Moreno, M., Rosique-Oramas, D., Medina-Avila, Z., Álvarez-Torres, T., Falcón, D., Higuera-de la Tijera, F., Béjar, Y. L., Cordero-Pérez, P., Muñoz-Espinosa, L., Pérez-hernández, J. L., Kershenobich, D., and Gutierrez-Reyes, G. (2016) Behavior of oxidative stress markers in alcoholic liver cirrhosis patients, *Oxid. Med. Cell Longev.*, **9370565**, <https://doi.org/10.1155/2016/9370565>.
14. Прокопьева В. Д., Ярыгина Е. Г., Плотников Е. В., Ветлугина Т. П. (2019) Исследование эффектов солей лития в присутствии этанола на продукт окислительного повреждения ДНК плазмы крови здоровых лиц и больных алкоголизмом, *Сиб. Вестн. Психиатр. Наркол.*, **1**, 5-11, [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2019-1\(102\)-5-11](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2019-1(102)-5-11).
15. Chen, C. H., Pan, C. H., Chen, C. C., and Huang, M. C. (2011) Increase oxidative DNA damage in patients with alcohol dependence and its correlation with alcohol withdrawal severity, *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **35**, 338-344, <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2010.01349>.
16. Черников А. В., Гудков С. В., Усачева А. М., Брусков В. И. (2017) Экзогенный 8-оксо-7,8-дигидро-2'-дезокси-гуанозин: биомедицинские свойства, механизмы действия, терапевтический потенциал, *Усп. Биол. Хим.*, **57**, 267-302, <https://doi.org/10.1134/S0006297917130089>.
17. Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., and Lunec, J. (2003) Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease, *FASEB J.*, **17**, 1195-1214.
18. Kasai, H. (1997) Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis, *Mutat. Res.*, **387**, 147-163.
19. Мармий Н. В., Есипов Д. С. (2015) Биологическая роль 8-оксо-2'-дезоксикуанозина, *Вестник Моск. Универ. Сер. Биол.*, **4**, 19-23.
20. Ветлугина Т. П., Никитина В. Б., Мандель А. И., Бойко А. С., Прокопьева В. Д., Бохан Н. А. (2019) Факторы иммуноэндокринной регуляции при алкогольной зависимости на этапе формирования терапевтической ремиссии, *Росс. Иммунол. Журн.*, **13**, 183-186, <https://doi.org/10.31857/S102872210006447-6>.
21. Ветлугина Т. П., Прокопьева В. Д., Епимахова Е. В., Бойко А. С., Никитина В. Б., Бохан Н. А. (2022) Продукция цитокинов в культуре клеток крови больных алкогольной зависимостью и маркеры окислительного стресса аутологичной плазмы, *Клет. Технол. Биол. Мед.*, **1**, 45-48, <https://doi.org/10.47056/1814-3490-2022-1-45-48>.
22. Dong, D., Zhong, W., Sun, Q., Zhang, W., Sun, X., and Zhou, Z. (2016) Oxidative products from alcohol metabolism differentially modulate pro-inflammatory cytokine expression in Kupffer cells and hepatocytes, *Cytokine*, **85**, 109-119, <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.06.014>.
23. Jacob, K. D., Noren Hooten, N., Trzeciak, A. R., and Evans, M. K. (2013) Markers of oxidant stress that are clinically relevant in aging and age-related disease, *Mech. Ageing Dev.*, **134**, 139-157, <https://doi.org/10.1016/j.mad.2013.02.008>.
24. Gladyshev, V. N., Kritchevsky, S. B., Clarke, S. G., Cuervo, A. M., Fiehn, O., de Magalhães, J. P., Mau, T., Maes, M., Moritz, R., Niedernhofer, L. J., Van Schaftingen, E., Tranah, G. J., Walsh, K., Yura, Y., Zhang, B., and Cummings, S. R. (2021) Molecular damage in aging, *Nat. Aging*, **1**, 1096-1106, <https://doi.org/10.1038/s43587-021-00150-3>.
25. Spiteller, G. (2001) Lipid peroxidation in aging and age-dependent diseases, *Exp. Gerontol.*, **36**, 1425-1457, [https://doi.org/10.1016/s0531-5565\(01\)00131-0](https://doi.org/10.1016/s0531-5565(01)00131-0).

ASSOCIATIONS OXIDATIVE STRESS PERIPHERAL MARKERS WITH CLINICAL CHARACTERISTICS AND INFLAMMATORY FACTORS IN ALCOHOLIC PATIENTS

V. D. Prokopieva^{1*}, T. P. Vetlugina¹, E. V. Epimakhova¹,
A. S. Boiko¹, and N. A. Bokhan^{1,2}

¹ Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
634014 Tomsk, Russia, e-mail: valyaprok@mail.ru

² Tomsk State University, 634050 Tomsk, Russia

A fundamental problem in narcology is to clarify the mechanisms of development of alcohol dependence (AD), in the pathogenesis of which disturbances in redox processes and inflammation play an important role. Identification of associations between biological and clinical parameters clarifies the molecular mechanisms of disease pathogenesis. The aim of the work was to study peripheral markers of oxidative stress (OS) in patients with AD in the early period of post-abstinence state and to identify their relationship with the clinical characteristics of the disease and inflammatory factors. The parameters of 84 male AD patients were determined; the average age was 44.3 ± 8.2 years. Clinical characteristics were analyzed: patient age, age of alcohol withdrawal syndrome (AWS) formation, duration of the disease, duration of AWS. OS markers were determined in blood plasma – protein oxidation products (carbonyl proteins, CP) using 2,4-dinitrophenylhydrazine; lipids (products reacting with thiobarbituric acid (TBA), TBA-RP); DNA (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, 8-OH-dG). Inflammatory mediators – proinflammatory cytokines (IFNy, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17A, TNF α) were determined in blood serum. Control for biological studies – blood samples of 80 conditionally healthy men, average age 40.9 ± 9.6 years. In patients with AD, an increase in CP, TBA-RP and all cytokines was detected compared to controls ($p < 0.001$); the concentration of 8-OH-dG did not differ from the control. The following were found: a direct connection between TBA-RP and the duration of the disease; inverse relationship between CP and the age of formation and duration of AWS. CP had an inverse relationship with IL-6. Positive correlations were found between 8-OH-dG and IL-6, TBA-RP and IL-8, TBA-RP and TNF α . Thus, the early period of the post-withdrawal state in AD patients is characterized by pronounced OS and inflammation. The results obtained expand knowledge about the integrative contribution of OS and inflammation factors to the pathogenesis of AD and can be used in the development of new treatment methods.

Keywords: oxidative stress markers, proinflammatory cytokines, alcohol dependence