

Изменение концентрации малонового диальдегида в сыворотке крови при однократном и многократном введении этанола и ацетальдегида

Досліджували зміни концентрації малонового діальдегіду (МДА) у сироватці крові щурів при дії етанолу та ацетальдегіду (кожного окремо та обох разом) за умов однократного (гострого) та багатократного (хронічного) їх введення. В окремих серіях дослідів ацетальдегід та етанол застосовували у комбінації з тетурамом. Показано, що за умов гострої інтоксикації етанолом підвищення концентрації МДА обумовлено дією ацетальдегіду. При хронічному введенні етанолу концентрація МДА підвищувалася значно більше, ніж при гострому. Підтверджується уявлення про те, що при гострій та хронічній інтоксикації етанолом перекисне окислення ліпідів стимулюється внаслідок метаболізму етанолу. Ацетальдегід займає важливе місце серед факторів, які спричиняють порушення метаболізму клітин в тваринному організмі, викликають підвищення концентрації МДА у сироватці крові.

Введение

Этаноловая интоксикация характеризуется глубокими изменениями метаболизма, что приводит к нарушению функций печени, мозга, сердца, желудочно-кишечного тракта, гормональной регуляции. Несомненно, что свой вклад в развитие патологических отклонений при этом вносит стимуляция перекисного окисления липидов (ПОЛ) [3]. Активация этих процессов связана с индукцией микросомальных ферментов, генерированием высокотоксичных радикалов и накоплением малонового диальдегида (МДА) [1]. Это сопряжено с серьезными нарушениями биогенеза клеток в результате модификации структуры белков. Некоторые из них приобретают цитотоксические свойства, становятся объектом иммунных реакций [16]. Возможно, гиперпродукция кислорода и последующее окисление ненасыщенных липидов мембран клеток играют ведущую роль в негативных эффектах этанола, однако многие данные не подтверждают эту точку зрения [1]. Не решен вопрос о том, способны ли этанол, ацетальдегид или оба они в равной мере индуцировать ПОЛ. Эти предпосылки послужили основанием для выполнения работы, задача которой состояла в исследовании концентрации МДА сыворотки крови при однократном и многократном введении этанола и ацетальдегида, а также при моделировании условий, которые способствуют выяснению преимущественного значения каждого из этих соединений.

Методика

В опытах использовали 169 беспородных крыс-самцов массой 250 г, которые были условно разделены на 13 групп. Животные 1-й группы — контрольные. Эта группа состояла из нескольких подгрупп животных, которых использовали для контроля разных вариантов воздействия в одновременных постановках опыта. Контрольные крысы получали инъекции дистиллированной воды, служившей растворителем в острых и хронических опытах с этанолом и ацетальдегидом, в объеме и временном интервале, идентичных таковым при введении растворенных препаратов подопытным животным. В отдельном контрольном эксперименте выясняли эффект суспензии крахмала. При сопоставлении полученных значений концентрации МДА в сыворотке крови у животных всех контрольных подгрупп не обнаружено статистически достоверных

различни
в одну г

В се
ного вве
до нача
этанол
группы
У живо
кации в
после 4
этанол
ской ал
Животн
торый в
в течен
этих жи
Животн
и ацета
шинно
достато
что уже
ций сер
выборе
центра
разова
высоко
торые
состав
дили а
Ж
тетура
групп
действ
Живот
этанол
дегида
многок
ко дей
С
МДА
в бута
лотой.
моляр
вали

Резули

Резули
(остро
конце
при ос
введен
ции М
наблюд
Д
нолом
тивир
трикл
ных ж
разли
дестр

различий, что послужило основанием для объединения этих животных в одну группу.

В семи постановках экспериментов исследовали эффекты однократного введения этанола и ацетальдегида. Животные 2-й группы — за 1 ч до начала исследования получали внутривенно 25 %-ный раствор этанола (1 г/кг). Животные 3-й группы отличались от предыдущей группы лишь тем, что вводимая им доза этанола составляла 4 г/кг. У животных 4-й группы изучали эффект острой этанольной интоксикации на фоне многократного его введения. В этом случае животные после 4-недельной алкоголизации дополнительно получали инъекцию этанола (3 г/кг) и через 1 ч их брали в эксперимент. Схема хронической алкоголизации описана в ранее опубликованных работах [5, 6]. Животные 5-й группы получали этанол (1 г/кг) на фоне тетурама, который в этой и других сериях исследований предварительно вводили в течение 3 сут по 0,2 г/кг в суспензии, содержащей 1 % крахмала; этих животных брали в эксперимент через 1 ч после введения этанола. Животным 6-й группы совместно однократно вводили этанол (4 г/кг) и ацетальдегид (1 %-ный раствор, из расчета 20 мг/кг) внутривенно за 20 мин до начала исследования. Тетурам применяли в дозе, достаточной для развития тетурам-алкогольной реакции, с учетом того, что уже двухкратное ее превышение сопровождается нарушением функций сердечно-сосудистой и дыхательной систем, катаlepsией [12]. При выборе дозы ацетальдегида исходили из того, что его начальная концентрация должна быть сравнима с концентрацией, которая может образоваться в случае поступления в организм крысы дозы этанола невысокой токсичности. Принимали во внимание данные литературы, которые свидетельствуют о том, что скорость окисления этанола у крыс составляет $0,3 \text{ (г/кг)} \cdot \text{ч}^{-1}$ [11]. Животным 7-й группы однократно вводили ацетальдегид.

Животным 8-й группы вводили ацетальдегид (однократно) на фоне тетурама в указанных выше дозах. МДА в крови животных 9—12-й групп регистрировали на следующие сутки после многократного воздействия этанолом или ацетальдегидом (введение в течение 1 мес). Животные 9-й группы подвергались только многократному влиянию этанола, 10-й — этанола в комбинации с однократным введением ацетальдегида в последний день экспериментов, 11-й — ацетальдегида, 12-й — многократному действию ацетальдегида на фоне тетурама, 13-й — только действию тетурама.

Сыворотку крови получали центрифугированием. Концентрацию МДА в ней определяли спектрофотометрически при длине волны 532 нм в бутанольных экстрактах продуктов реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой. Для расчета значений концентрации использовали коэффициент молярной экстинкции $1,56 \cdot 10^5 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [9]. Результаты обрабатывали статистически с использованием критерия *t* Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Результаты, представленные в таблице, показывают, что однократное (острое) введение этанола (4 г/кг) животным вызывает уменьшение концентрации МДА в сыворотке крови. Такой же эффект отмечался при остром введении этанола в близкой дозе на фоне хронического его введения (4-я группа). Следует отметить, что уменьшение концентрации МДА в сыворотке крови под влиянием этанола или ацетальдегида наблюдалось лишь в двух из 12 постановок экспериментов.

Данные литературы позволяют судить о том, что интоксикация этанолом в большинстве случаев сопровождается стимуляцией ПОЛ. Активирование этого процесса наблюдалось в различных тканях и внутриклеточных структурах у больных алкоголизмом и у экспериментальных животных. Как правило, это связано с возрастанием содержания в различных объектах исследования одного из продуктов окислительной деструкции перекисей липидов — МДА. В печени алкоголь по фермен-

тативному и неэнзиматическому механизмам увеличивал скорость образования МДА сильнее, чем другие гепатотоксические вещества [3]. Этанол рассматривается как индуктор цикла каскадного усиления гиперпродукции альдегидов [7].

Этому представлению о механизмах действия алкоголя соответствуют полученные нами результаты, свидетельствующие, что концентрация МДА в сыворотке крови увеличивается после однократного введения животным этанола (1 г/кг, 2-я группа). Наблюдавшееся неожиданное различие направленности изменений этого показателя при однократном введении этанола в исследуемых дозах может быть обусловлено несколькими причинами. Одна из них — существенность фактора времени. Как уже упоминалось, концентрацию МДА мы определяли через 1 ч после острой алкоголизации. Между тем, по данным литературы, его концентрация достоверно не изменяется через 3 ч и возрастает лишь через 5—9 ч после приема этанола. За это время в организме за счет окисления значительно уменьшается [17] содержание этанола.

Сформировалось направление исследований, задача которого заключается в дифференциации физиологических эффектов собственно этанола и продуктов его превращения. Выяснилось, что особенности обмена катехоламинов [8], изменения структуры и функции белков тканей и сыворотки крови [4], функции генома клеток [2] могут быть обусловлены непосредственным влиянием ацетальдегида, а этанол может оказывать защитное действие при повреждении миокарда [13]. Острая алкоголизация, способствующая повышению содержания супероксиддисмутазы, защищает клетки слизистой оболочки желудка при эмоционально-болевым стрессе [10]. Отмечается способность низких доз этанола подавлять свободно-радикальное окисление [13]. Принимая во внимание эти данные, можно предположить, что при однократном введении (4 г/кг) за время эксперимента успевает окислиться не все количество поступившего в организм этанола, ингибируется окислительная дегградация липидов, МДА оказывается сниженной.

Негативное действие этанола на обменные процессы может быть прямым или опосредованным его метаболитами. Полагают, что ключе-

Изменение концентрации малонового диальдегида (мкмоль/л) в сыворотке крови крыс при действии этанола и ацетальдегида ($\bar{x} \pm Sx$)

Условие опыта	Число опытов	
Введение дистиллированной воды (контроль)	40	0,96±0,02
Однократное (острое) введение следующего исследуемого вещества:		
этанола (1 г/кг)	5	1,06±0,001
этанола (4 г/кг)	5	0,81±0,05
этанола (3 г/кг) на фоне многократного предварительного введения этанола	5	0,74±0,09
этанола (1 г/кг) на фоне многократного предварительного введения тетурама	10	1,09±0,07
этанола (4 г/кг) и ацетальдегида (однократное введение)	16	1,06±0,03
ацетальдегида	12	1,33±0,06
ацетальдегида на фоне многократного предварительного введения тетурама	10	1,66±0,04
Многократное (хроническое) введение следующего исследуемого вещества:		
этанола	19	1,58±0,04
этанола и ацетальдегида (однократное введение)	18	1,67±0,09
ацетальдегида	9	1,23±0,06
ацетальдегида на фоне многократного предварительного введения тетурама	10	1,50±0,06
тетурама	10	1,39±0,04

Примечание. Изменения всех значений показателей статистически достоверны по сравнению с контролем.

вая роль
ния — аце
положной
дения отл
ложить, ч
преимуще
да. Вероя
результат
подтверж

Получ
чае однок
дегидом
му превра
концентра
ется по с
только а
ции МДА
ние (до
с тетурам
рация М
с контрол
этанола
о том, ч
молекуль
сомальны

Таки
ключить
центрац
ПОЛ, об
ния свид
ний кон
кации, к
ме чело
ней мер
крови, и
темы, а
гидроген
ленных
рация М
нению с
ях допо
па). Рез
дении а
суются
центра
возраст
в комби

Кол
ацеталь
фективн
определ
тальдег
мен ка
торое ч
Ка
далось
быть о
в резул
стимул
ся с пр
Не

вая роль в токсичности алкоголя принадлежит продукту его окисления — ацетальдегиду [3]. Результаты, свидетельствующие о противоположной направленности изменений концентрации МДА в случае введения отличающихся размерами доз этанола, дают основание предположить, что возрастание концентрации МДА сыворотки крови также преимущественно зависит от непосредственного действия ацетальдегида. Вероятно, нарушение ПОЛ происходит после окисления этанола в результате дегидрогеназной реакции. Это предварительное заключение подтверждается в последующих экспериментах.

Полученные результаты показывают (5-я и 6-я группы), что в случае однократного введения этанола (4 г/кг) в комбинации с ацетальдегидом или при моделировании условий, препятствующих дальнейшему превращению ацетальдегида (инъекция этанола на фоне тетурама), концентрация МДА в сыворотке крови подопытных животных повышается по сравнению с таковой в крови контрольных животных. Введение только ацетальдегида вызывает значительное возрастание концентрации МДА (7-я группа) в сыворотке крови, а еще большее ее возрастание (до 137 %) наблюдается при совместном введении ацетальдегида с тетурамом. При однократном введении только ацетальдегида концентрация МДА в сыворотке крови увеличивается на 38 % по сравнению с контрольной. Между тем эффект совместного однократного введения этанола и ацетальдегида был меньше на 28 %. Все это свидетельствует о том, что ПОЛ усиливается в результате метаболизма этанола. Его молекулы сами по себе могут выступать в качестве ингибиторов микросомальных монооксигеназ [15].

Таким образом, на основании полученных результатов можно заключить, что в условиях острой интоксикации этанолом повышение концентрации МДА сыворотки крови, связанное, по-видимому, с индукцией ПОЛ, обусловлено действием ацетальдегида. В пользу этого заключения свидетельствуют результаты, полученные при исследовании изменений концентрации МДА в условиях хронической этанольной интоксикации, которая характеризуется накоплением ацетальдегида в организме человека и животных. В этом процессе принимают участие, по крайней мере, три механизма: стимуляция алкогольдегидрогеназы печени и крови, индукция цитохромов микросомальной этанолюкисляющей системы, а также угнетение всех изоферментов, обладающих альдегиддегидрогеназной активностью [3]. Как видно из результатов, представленных в таблице, в условиях хронического действия этанола концентрация МДА в сыворотке крови составляла 164 % (9-я группа) по сравнению с контрольными условиями и увеличивалась до 174 % в условиях дополнительного введения ацетальдегида на этом фоне (10-я группа). Результаты определения концентрации МДА при хроническом введении ацетальдегида животным не противоречат и качественно согласуются с выводом о его самостоятельном прооксидантном влиянии: концентрация МДА сыворотки крови повышалась (11-я группа), эффект возрастал еще на 28 % в случае хронического введения ацетальдегида в комбинации с тетурамом (12-я группа).

Количественное соответствие при сравнении действия этанола и ацетальдегида может быть достигнуто в результате определения эффективной дозы этанола и продуктов его превращения. Однако такому определению препятствует модифицирующее влияние этанола и ацетальдегида на множество метаболических процессов (например, на обмен катехоламинов или на функцию антиоксидантных систем [3]), которое часто оказывается трудно регистрируемым.

Как видно из таблицы, действие только тетурама также сопровождалось увеличением концентрации МДА в сыворотке крови, что может быть обусловлено повышением содержания эндогенного ацетальдегида в результате ингибирования альдегиддегидрогеназ или самостоятельным стимулированием ПОЛ. Во всяком случае, эти сведения не согласуются с предположением об антиоксидантной активности тетурама [3].

Необходимо подчеркнуть, что при хронической интоксикации эта-

полом концентрация МДА возрастала значительно сильнее, чем при острой. Это может объясняться еще и тем, что хроническое действие этанола, которое сопровождается устойчивым накоплением ацетальдегида, приводит к взаимодействию последнего и его собственных метаболизирующих систем. В итоге, ингибируются дегидрогеназный и оксигеназный пути превращения альдегидов [14].

Таким образом, результаты работы свидетельствуют в пользу представления о том, что при острой и хронической интоксикации этанолом ацетальдегид занимает важное место среди факторов, которые определяют нарушение метаболизма организма животных, вызывая существенное увеличение концентрации МДА в сыворотке крови.

G. Kh. Bozhko, E. I. Strelyanaya, P. V. Voloshin

CHANGE IN CONCENTRATION OF THE BLOOD SERUM MALONE DIALDEHYDE AT SINGLE AND LONG-TERM ETHANOL AND ACETALDEHYDE ADMINISTRATION

Changes in concentration of the rat blood serum malone dialdehyde (MDA) at separate and combined action of ethanol and acetaldehyde under conditions of their single and long-term administration have been investigated. In some series of experiments acetaldehyde and ethanol were administered together with teturame. The obtained data permit supposing that under conditions of acute ethanol intoxication an increase of the MDA concentration is caused by the acetaldehyde action. The long-term ethanol intoxication induces a significantly higher (if compared with acute intoxication) increase the MDA concentration. The results confirm the concept of the lipid peroxidation process at acute and chronic intoxication due to ethanol metabolism. Acetaldehyde is an important factor among those determining disturbances of cell biogenesis in the animal organism, causing an increase of the blood serum MDA.

V. P. Protopopov Research Institute
of Neurology and Psychiatry, Ukraine, Kharkov

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арчаков А. И. Микросомальное окисление. — М.: Наука, 1975. — 326 с.
2. Божко Г. Х., Хоменко Е. И. Сравнение взаимодействия этанола и ацетальдегида с компонентами хроматина ядер клеток печени крыс // *Вопр. мед. химии.* — 1988. — 34, № 2. — С. 19—23.
3. Божко Г. Х. Роль ацетальдегида в механизме действия этанола // *Усп. физиол. наук.* — 1990. — 21, № 3. — С. 98—116.
4. Божко Г. Х., Волошин П. В. Этанол и биосинтез белков в печени животных // *Вопр. мед. химии.* — 1990. — 36, № 4. — С. 2—5.
5. Божко Г. Х., Бойко Т. П., Волошин П. В. Катехоламины тканей и крови крыс при действии ацетальдегида и этанола // *Физиол. журн.* — 1991. — 37, № 1. — С. 49—53.
6. Божко Г. Х., Бойко Т. П. Ацетальдегид в механизмах кардиотоксических эффектов алкоголя: Действие на катехоламины сердца и надпочечников // *Кардиология.* — 1991. — 31, № 9. — С. 73—75.
7. Божко Г. Х. Алкоголь как индуктор цикла каскадного усиления гиперпродукции альдегидов // *Неврология и психиатрия.* — 1991. — № 20. — С. 81—84.
8. Волошин П. В., Бойко Т. П., Божко Г. Х. Роль ацетальдегида в действии алкоголя на центральные катехоламинергические механизмы // *Журн. невропатол. и психиатрии им. С. С. Корсакова.* — 1991. — 91, № 10. — С. 63—66.
9. Гаврилов В. Б., Гаврилова А. П., Мажуль Л. М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // *Вопр. мед. химии.* — 1987. — 33, № 1. — С. 118—122.
10. Зверихановский Ф. А., Симонян М. А., Дегтяр В. В. Защитное действие супероксиддисмутазы при повреждении слизистой желудка у крыс при эмоционально-болевым стрессе на фоне кратковременной и длительной алкоголизации // *Физиол. журн.* — 1988. — 34, № 1. — С. 81—86.
11. Hobara N., Watanabe A., Kobajashi M. Quinone derivatives lower blood and liver acetaldehyde but not ethanol concentrations following ethanol loading to rats // *Pharmacology.* — 1988. — 37, N 4. — P. 264—267.
12. Jensen J. Ch., Faiman M. D. Disulfiram-ethanol reaction in the rat. I. Blood alcohol, acetaldehyde, and liver aldehyde dehydrogenase relationship // *Alcoholism.* — 1986. — 10, N 1. — P. 45—49.
13. Kobajashi M., Ashraf M., Minami M. Moderating effect of low doses of ethanol on reoxygenation injury in the anoxic myocardium // *Phatol. Res. and Pract.* — 1987. — 182, N 6. — P. 810—816.