

УДК 577.16:591.133.1

©Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ СИСТЕМ МЕТАБОЛИЗМА ЭТАНОЛА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ КРЫС

Н.Э. Петушок^{1}, Т.Ч. Гроховская², Н.Г. Мельниченко², С.П. Пронько¹*

¹Гродненский государственный медицинский университет, 230015, Беларусь,
Гродно, ул. Горького 80; тел.: (810)+375 0152 435559; эл. почта: pena-n@tut.by

²Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Гродно

Исследовали роль отдельных систем метаболизма этанола (альдегиддегидрогеназа, каталаза, цитохром P450 2E1) в активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в желудочно-кишечном тракте крыс, используя ингибиторы каждой из названных систем. Интенсивность процессов ПОЛ оценивали хемилюминесцентным методом и по концентрации продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. Выявлено, что в индуцировании ПОЛ в слизистом эпителии пищеварительного тракта ведущую роль играет метаболизм ацетальдегида..

Ключевые слова: этанол, желудочно-кишечный тракт, перекисное окисление липидов.

ВВЕДЕНИЕ. Согласно современным представлениям, активные формы кислорода (АФК) вносят свой вклад в повреждение слизистой оболочки органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) при алкогольной интоксикации. [1, 2]. Известно, что из трёх ферментных систем, окисляющих этанол в печени: алкогольдегидрогеназы, каталазы и микросомальной этанолюкисляющей системы последняя является важнейшим источником образования свободных радикалов [3, 4]. Индуцируемый этанолом цитохром P450 2E1 вносит основной вклад в окисление этанола в микросомах печени. В последние годы показано, что по сравнению с печенью, метаболизм этанола в ЖКТ количественно значительно ниже, но и там обнаружены важнейшие ферментные системы метаболизма этанола, включая алкогольдегидрогеназу, цитохром P450 2E1 и каталазу [5]. Таким образом, в слизистой оболочке различных отделов ЖКТ может происходить образование ацетальдегида и свободных радикалов в результате окисления этанола. Преобладание алкогольдегидрогеназного и каталазного путей окисления этанола в желудке не предполагает активной выработки свободных радикалов. В то же время в кишечнике обнаружена форма цитохрома P450 2E1, индуцируемая

* - адресат для переписки

при хроническом введении этанола, которая способна генерировать наибольшее количество активных соединений кислорода при окислении этанола по сравнению с другими формами цитохрома P450. В прямой кишке и толстом кишечнике, где высокая активность ферментов окисления этанола алкогольдегидрогеназы, каталазы и микросомальной этанолюкисляющей системы – сочетается с наиболее низкой, по сравнению с другими отделами ЖКТ, активностью альдегиддегидрогеназы, создаются предпосылки для накопления при алкогольной интоксикации токсичного и реакционноспособного ацетальдегида, альдегидных продуктов перекисного окисления. Роль ацетальдегида в усилении перекисидации при употреблении этанола до сих пор не ясна, хотя показано, что ацетальдегид индуцирует перекисное окисление липидов (ПОЛ) в системах *in vitro* и *in vivo* [6]. Нами проведены эксперименты, направленные на выяснение роли отдельных систем метаболизма этанола в активации процессов перекисного окисления липидов в желудке, тонком и толстом кишечнике, прямой кишке крыс.

МЕТОДИКА. Эксперименты выполнены на половозрелых крысах-самцах линии Wistar CRL:(WI)WUBR массой 200-220 г. Каждая группа состояла из 6 животных. Подопытным животным вводились вещества, блокирующие ту или иную систему метаболизма этанола. Нами использовались цианамид натрия (50 мг/кг, в/бр) для ингибирования альдегиддегидрогеназы, азид натрия (10 мг/кг, в/бр) для ингибирования каталазы и диаллилсульфид (100 мг/кг, в/бр) для ингибирования цитохрома P450 2E1. Через определенные промежутки времени, необходимые для проявления эффектов ингибиторов, моделировали острую алкогольную интоксикацию путём внутрижелудочного введения 25% раствора этилового спирта в дозе 5 г на кг массы тела. Контрольным животным вводили аналогичный объём изокалорического раствора глюкозы. Как опытные, так и контрольные крысы перед этой процедурой голодали не менее 12 ч. Эвтаназию осуществляли через 3 ч путём цервикальной дислокации. Из тела животного извлекались желудок, часть тонкого и толстого кишечника, прямая кишка, которые немедленно промывались в охлаждённом изотоническом растворе NaCl. Эпителий получали путём аккуратного соскабливания скальпелем. Концентрацию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РП), и интенсивность хемилюминесценции определяли в прозрачном растворе клеточного содержимого, полученном в результате центрифугирования гомогенатов при 5000 g.

Содержание ТБК-РП в тканях определяли, используя метод, предложенный Placer с соавторами [7]. Интенсивность хемилюминесценции определяли на хемилюминометре ХЛМИЦ-01. В кювету добавляли по 0,2 мл гомогената и буфера, содержащего 105 мМ KCl, 20 мМ KH_2PO_4 (pH 7,4). “Быструю” вспышку свечения вызывали добавлением FeSO_4 в конечной концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ М и фиксировали на счётчике число фотонов за 1 мин [8].

Результаты проанализированы методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента и методом достоверности сравниваемых величин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Оценка интенсивности ПОЛ при в/ж введении этанола в дозе 5 г/кг (25% раствор) позволила выявить интенсификацию этих процессов в слизистой желудка и тонкого кишечника. На это указывает усиление хемилюминесценции этих тканей и увеличение содержания в них ТБК-РП. В слизистой толстого кишечника и прямой кишки достоверных изменений исследуемый показателей не наблюдается (табл. 1).

Таблица 1. Интенсивность перекисного окисления липидов в желудочно-кишечном тракте крыс при внутрижелудочном введении этанола в дозе 5 г/кг.

Отдел ЖКТ	Хемилюминесценция, имп/мин		ТБК-РП, ммоль/г ткани	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Желудок	1132±124	2110±141*	57,4±3,8	72,1±7,1
Тонкий кишечник	932±119	1955±282*	97,1±6,8	136,5±12,7*
Толстый кишечник	1335±198	1789±74	88,3±10,5	84,3±7,3
Прямая кишка	1299±158	1815±223	83,5±7,0	83,8±11,2

Примечание: здесь и в таблицах 2 и 3 приведены средние арифметические ± ошибки средних;
* - $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Данные, характеризующие интенсивность ПОЛ в отделах пищеварительной системы крыс, получавших этанол на фоне применения ингибиторов его метаболизма, представлены в таблицах 2 и 3. При ингибировании АДГ (введение цианамида натрия) интенсивность ПОЛ в слизистой желудка достигает контрольных значений, в тонком кишечнике ХЛ остаётся повышенной, а концентрация ТБК-РП нормализуется.

Таблица 2. Хемилюминесценция в желудочно-кишечном тракте крыс после введения этанола на фоне применения ингибиторов его метаболизма.

Отдел ЖКТ	Хемилюминесценция, имп/мин		
	Этанол+ цианамид натрия	Этанол + азид натрия	Этанол+ диаллилсульфид
Желудок	1686±293	2897±293 ^{ab}	3255±693 ^a
Тонкий кишечник	1482±182 ^a	2383±220 ^a	2299±263 ^a
Толстый кишечник	1043±92 ^b	1957±243	3092±461 ^{ab}
Прямая кишка	1328±299	2625±210 ^{ab}	3320±712 ^{ab}

Примечание: здесь и в таблице 3: а - $p < 0,05$ в сравнении с контролем, b - $p < 0,05$ в сравнении с животными, получавшими этанол).

Таблица 3. Содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой в желудочно-кишечном тракте крыс после введения этанола на фоне применения ингибиторов его метаболизма.

Отдел ЖКТ	ТБК-РП, ммоль/г ткани		
	Этанол+ цианамид натрия	Этанол + азид натрия	Этанол+ диаллилсульфид
Желудок	42,7±6,1 ^b	70,2±3,4 ^a	59,8±6,9
Тонкий кишечник	92,9±10,6 ^b	122,0±10,8	53,5±7,9 ^{ab}
Толстый кишечник	84,8±5,2	88,5±6,7	53,1±7,8 ^{ab}
Прямая кишка	85,3±1,9	80,5±3,6	44,0±6,4 ^{ab}

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛ-МЕТАБОЛИЗИРУЮЩИХ СИСТЕМ НА ПОЛ У КРЫС

При ингибировании каталазы (введение азида натрия) мы наблюдали активацию свободнорадикальных процессов в эпителии желудка, тонкого кишечника и прямой кишки. Во всех названных отделах усиливается ХЛ. В клетках эпителия желудка отмечен и повышенный уровень ТБК-РП.

При ингибировании цитохрома P450 2E1 (введение диаллилсульфида) во всех исследованных отделах пищеварительной трубки мы зарегистрировали усиление ХЛ, при этом концентрация вторичных продуктов ПОЛ в тонком, толстом кишечнике и прямой кишке достоверно снижается как по отношению к контрольным животным, так и в сравнении с крысами, получавшими этанол.

Анализ приведённых данных позволяет предположить, что существенный вклад в интенсификацию ПОЛ в желудочно-кишечном тракте крыс при острой алкогольной интоксикации вносит альдегиддегидрогеназа. При ингибировании именно этого фермента наблюдается наименьшее количество отклонений исследуемых параметров от показателей контрольных животных. Это согласуется с наблюдениями других исследователей, которые отметили снижение накопления малонового диальдегида в крови и печени крыс после совместного введения этанола с цианамидом [9]. Известно, что сочетанное действие этих веществ ведёт к многократному росту концентрации ацетальдегида в плазме крови. Это, в свою очередь, ингибирует абсорбцию этанола в кишечнике крыс [10]. Такие эффекты исследователи объясняют снижением количества крови, циркулирующей в кишечной стенке, которое происходит под действием высоких концентраций ацетальдегида, стимулирующих холинергические нервы [11]. Однако известно, что при острой алкогольной интоксикации угнетается моторика желудка и тонкого кишечника [12], что ведёт к задерживанию введенного алкоголя в желудке и верхней части тонкого кишечника. Сам этанол, как правило, усиления пероксидации не вызывает. Это мы и наблюдаем в данном случае.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Таким образом, опираясь на имеющиеся в литературе данные о способности введенного *in vivo* ацетальдегида активировать ПОЛ, и результаты наших экспериментов с ингибитором альдегиддегидрогеназы, мы можем заключить, что не сам ацетальдегид, а процессы его метаболизма в клетках отвечают за индуцированное этанолом в слизистом эпителии пищеварительного тракта процессы ПОЛ.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Б99М – 136).

ЛИТЕРАТУРА

1. Totnwall M., Smith G., Barreto J. (1993) Dig. Dis. Science, **38**, 2294-2298.
2. Bagchi D., Carryl O.R., Tran M.X., Krohn R.L., Bagchi D.J., Garg A., Bagchi M., Mitra S., Stohs S.J. (1998) J. Appl. Toxicology, **18**(1), 3-13.
3. Lucas D. (2001) Alcohol and Alcoholism, **36**(5), 440.
4. Mari M., Cederbaum A. (2001) Alcohol and Alconolism, **36**(5), 439.
5. Seitz H., Poschl G. (1997) Alcohol and Alcoholism, **32**(5), 543-549.
6. Seitz H., Simanovsky U., Garzon F. (1990) Gastroenterology, **98**, 406-413.
7. Placer Z.A., Cushman L., Johnson B.C. (1966) Anal. Biochem., **18**, 515-519.
8. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. (1972) Перекисное окисление липидов в биологических мембранах, Наука, М.
9. Пронько П.С., Кузьмич А.Б., Абакумов Г.З. (1999) Укр. біохім. журнал, **71**(4), 75-79.

10. *Kinoshita H., Ijiri I., Ameno S.* (1996) Alcoholism: Clinical and Experimental Research, **20**, 510-513.
11. *Kinoshita H., Ameno S., Kubota T.* (2001) Alcohol and Alcoholism, **36**(5), 377-380.
12. *Izbeki F., Wittmann T., Csati S., Jeszenszky E., Lonovics J.* (2001) Alcohol and Alcoholism, **36**, 304-308.

Поступила: 25. 09. 2009.

**INFLUENCE OF ETHANOL-METABOLISING SYSTEMS ON INTENSITY
OF LIPID PEROXIDATION PROCESSES IN GASTROINTESTINAL TRACT OF RATS**

N.E. Petushok¹, T.Ch. Grohovskaya², N.G. Melnichenko², S.P. Pronko¹

¹State Medical University, 80 Gorky Str., 230015 Grodno, Belarus; tel.: +375 0152 435559;
e-mail: pena-n@tut.by

²Institute of Pharmacology and Biochemistry, National Academy of Sciences of Belarus,
Grodno, Belarus

The effects of some ethanol-metabolising systems (aldehyde dehydrogenase, catalase, cytochrome P450 2E1) on activation of lipid peroxidation (LPO) processes in gastrointestinal tract of rats have been studied using inhibitors of these systems. The intensity of LPO processes was evaluated by thiobarbituric acid-reactive products and chemiluminescence intensity. It was found, that the acetadehyde metabolism play the main role in the indiction of lipid peroxidation in the gastrointestinal tract of rats.

Key words: ethanol, gastrointestinal tract, lipid peroxidation.