

УДК 616.36-099:547.262-06:612.075.3]-092.9

І. Р. БЕКУС, М. В. КИРИЛІВ, І. Я. КРИНИЦЬКА, І. Б. ІВАНУСА

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського»

ВПЛИВ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА ЛІПІДНИЙ ПРОФІЛЬ ПЕЧІНКИ ТА КРОВІ БІЛИХ ЩУРІВ

У даній роботі ми зупинилися на моделі експериментального токсикозу, індукованого етиловим спиртом, оскільки зловживання алкоголем часто обумовлює розвиток соматичних пошкоджень і нерідко призводить до інвалідності і смерті хворих. Встановлено, що токсичний вплив алкоголю на ліпідний спектр є значним. Виявлені зміни обміну ліпідів при алкогольній інтоксикації підтверджують гіпотезу про цитотоксичний вплив великих доз етанолу навіть при однократному його застосуванні.

Ключові слова: алкогольне отруєння; загальні ліпіди; фосфоліпіди; неетерифіковані жирні кислоти

ВСТУП

Алкоголізм – важлива медична і соціальна проблема. Зловживання алкоголем негативно впливає на всі органи, проте найбільше його впливу зазнає печінка, оскільки саме тут окиснюється етанол [6, 8, 14]. Етанол є одночасно джерелом енергії і сильним фармакологічним агентом. Його надлишок в організмі порушує або блокує функціонування окремих реакцій метаболізму, змінює всмоктування і транспорт багатьох незамінних нутрієнтів [9]. Надходження етанолу в організм у дозах, що не викликають прямого пошкодження тканин, починається з його дії на клітину. Гостра і хронічна токсичність етанолу здебільшого зумовлені продуктом його метаболізму – ацетальдегідом [2, 10]. Летальна доза етанолу складає 4-10 г/кг і обумовлена ступенем адаптації до нього, індивідуальними особливостями і станом функцій серця, печінки, наднирників.

Ацетальдегід обумовлює значну частину токсичних ефектів етанолу. Основними з них є: підсилення пероксидного окиснення ліпідів, порушення електронно-транспортного ланцюга в мітохондріях, пригнічення репарації ДНК, порушення функції мікротрубочок, утворення комплексів з білками, стимуляція продукції активних форм кисню, індукція імунопатологічних реакцій, стимуляція синтезу колагену [4, 11, 13, 15]. Одним з важливих гепатотоксичних ефектів ацетальдегіду, що проявляється в результаті підсилення пероксидного окиснення ліпідів і формування стійких комплексних сполук з білками, є порушення функції важливого структурного компонента клітинних мембран – фосфоліпідів. Це веде до підвищення проникності мембран, порушення трансмембранного транспорту, функціонуван-

ня клітинних рецепторів і мембранозв'язаних ферментів [12, 13, 17].

Зважаючи на це, метою нашої роботи було дослідити його вплив на деякі показники ліпідного спектра.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліди проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 170-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. У роботі використовували етиловий спирт, який попередньо розводили у 0,9 % розчині натрію хлориду з розрахунку 12,5 мл 40 % розчину етанолу на 1 кг маси тіла тварини [1].

Піддослідні тварини були поділені на 2 групи: I – інтактні, II – уражені етанолом. Щурів декапітували під тіопенталовим наркозом на 3-тю, 5-ту і 7-му добу після введення етилового спирту. Як контроль використовували інтактних статевозрілих тварин. Для дослідження брали плазму крові і тканину печінки.

Для вивчення ліпідного обміну використовували такі методи: визначення загальних ліпідів у сироватці крові за допомогою фосфорнованілінового реактиву з утворенням забарвленого в рожевий колір комплексу [5], фосфоліпідів – за утворенням гідрофобного комплексу з феротіоціанатом амонію [3], для визначення триацилгліцеролів (ТГ) ліпіди з печінки екстрагували хлороформ-метаноловою сумішшю, гліцерин, звільнений в процесі гідролізу ТГ окиснювали до формальдегіду за допомогою періодату натрію. Утворені при цьому йодати і періодати відновлювали у йодиди надлишком арсеніту натрію, після чого визначали формальдегід за кольоровою реакцією з хромотропною кислотою [16], вираховували також співвідношення ліпід/білок та фосфоліпід/загальні ліпіди, вміст білка визначали біуретовим методом [7], НЕЖК визначали за методом [5],

© Бекус І. Р., Кирилів М. В., Криницька І. Я., Івануса І. Б., 2014

Таблиця 1

**ДИНАМІКА ВМІСТУ ЗАГАЛЬНИХ ЛІПІДІВ
У КРОВІ ТА ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ З ГОСТРИМ
АЛКОГОЛЬНИМ ОТРУЄННЯМ (M±m, n=6)**

Інтактні тварини	Група тварин уражені етанолом		
	3 доба	5 доба	7 доба
	Плазма крові, г/л		
5,22±0,13	7,12±0,05 p ₁ <0,001	7,87±0,07 p ₁ <0,001	6,48±0,14 p ₁ <0,001
Тканина печінки, г/кг			
36,8±0,18	76,4±0,27 p ₁ <0,001	80,4±0,36 p ₁ <0,001	74,3±0,25 p ₁ <0,001

Примітки: тут і в наступних таблицях даного розділу P₁ – різниця достовірна у порівнянні з інтактними тваринами.

який ґрунтується на тому, що ліпіди сироватки крові екстрагують сумішшю ізопропілового спирту і гептану в кислому середовищі. Після додавання води і гептану відбувається розділення екстрагуючої суміші на двофазну систему. Ліпіди виявляються у верхньому гептановому шарі. Титруючи водним розчином лугу, визначають кількість неестерифікованих жирних кислот у цьому екстракті ліпідів.

Отримані цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За даними, наведеними у табл. 1, вміст загальних ліпідів у сироватці крові інтактних тварин становив 5,22 г/л. Гостре алкогольне отруєння супроводжувалось значними змінами даного інтегрального показника обміну ліпідів. У печінці уражених тварин на 3-тю добу від моменту введення етанолу досліджуваний показник зростав у 2 рази, що достовірно вище від показника в інтактних тварин. До 5-ї доби концентрація загальних ліпідів зросла ще більше і становила 218 % від рівня в інтактних тварин. У подальшому нами відмічено деяке зниження даного показника, однак він і надалі був достовірно вищим

Таблиця 2

**КОНЦЕНТРАЦІЯ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА ТА
СПІВВІДНОШЕННЯ ЛІПІДИ/БІЛОК У ПЛАЗМІ
КРОВІ ЩУРІВ З ГОСТРИМ АЛКОГОЛЬНИМ
ОТРУЄННЯМ (M±m, n=6)**

Інтактні тварини	Група тварин уражені етанолом		
	3 доба	5 доба	7 доба
	Загальний білок, г/л		
78,4 ± 2,4	74,1±1,8 p ₁ <0,05	68,2±1,6 p ₁ <0,05	69,4±1,7 p ₁ <0,05
Співвідношення ліпіди/білок			
0,067± 0,007	0,096±0,006 p ₁ <0,05	0,115±0,007 p ₁ <0,02	0,093±0,018 p ₁ <0,05

Таблиця 3

**КОНЦЕНТРАЦІЯ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА
ТА СПІВВІДНОШЕННЯ ЛІПІДИ/БІЛОК
У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ З ГОСТРИМ
АЛКОГОЛЬНИМ ОТРУЄННЯМ (M±m, n=6)**

Інтактні тварини	Група тварин уражені етанолом		
	3 доба	5 доба	7 доба
	Загальний білок, г/кг		
155,9±7,6	120,0±12,0 p ₁ <0,001	117,1±10,3 p ₁ <0,001	134,8±6,2 p ₁ <0,001
Співвідношення ліпіди/білок			
0,47±0,04	0,63±0,05 p ₁ <0,05	0,68±0,05 p ₁ <0,02	0,55±0,06 p ₁ <0,05

за рівень у інтактних тварин. У плазмі крові на 3-тю добу від моменту потрапляння етилового спирту в організм тварин зареєстровано збільшення концентрації загальних ліпідів в 1,4 рази у порівнянні з інтактними щурами. Найвищого рівня цей показник сягнув на 5-ту добу від моменту отруєння алкоголем, що становило 151 % від норми, знижуючись до 7-ї доби експерименту до 124 %.

Таким чином, ураження тварин етиловим спиртом призводило до статистично вірогідного збільшення вмісту загальних ліпідів.

Одним з показників, за допомогою якого можна оцінити якісні зміни хімічного складу печінки і плазми крові в результаті несприятливих впливів, є співвідношення ліпіди/білок. Провівши відповідні розрахунки, ми помітили, що співвідношення ліпіди/білок у плазмі крові тварин, уражених етиловим спиртом, на 3-тю добу дослідження становило 0,096, що в 1,4 рази більше за рівень у інтактних тварин. Максимальні зміни ми зафіксували на 5-ту добу експерименту – 172 % від рівня в інтактних тварин (табл. 2). На 7-му добу цей показник дещо зменшився і становив 139 % від норми.

Аналогічні зміни спостерігали і у печінці (табл. 3). На 3-тю добу з введення токсичної дози етанолу співвідношення ліпіди/білок зросло в 1,3 рази, на 5-ту і 7-му доби – відповідно в 1,5 і 1,2 рази.

Отримані нами результати, а саме, підвищення концентрації загальних ліпідів у плазмі крові і печінці не дозволяють скласти уявлення про те, за рахунок яких фракцій ліпідного спектра відбуваються ці зміни. З огляду на це ми провели дослідження вмісту триацилгліцеролів і фосфоліпідів у плазмі крові і печінці досліджуваних тварин.

За даними, наведеними в табл. 4, видно, що у плазмі крові тварин, яким вводили етанол у токсичній дозі, концентрація ТГ суттєво зростала у порівнянні з рівнем у інтактних тварин, що становило 254 % на третю добу, 256 % на 5-ту добу і 249 % на 7-у добу з часу отруєння. Високий рівень триацилгліцеролів у плазмі крові є адаптивною реакцією, яка, проте, у

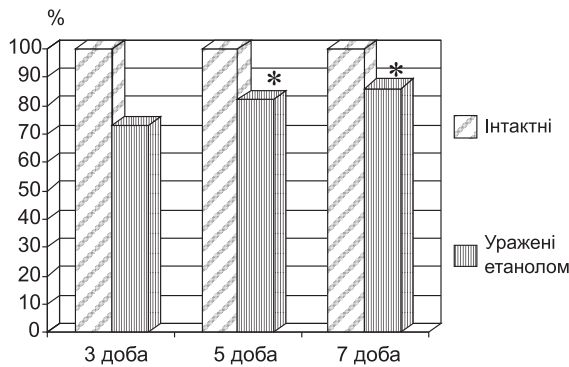


Рис. 1. Зміни концентрації фосфоліпідів плазми крові у тварин, уражених алкоголем.

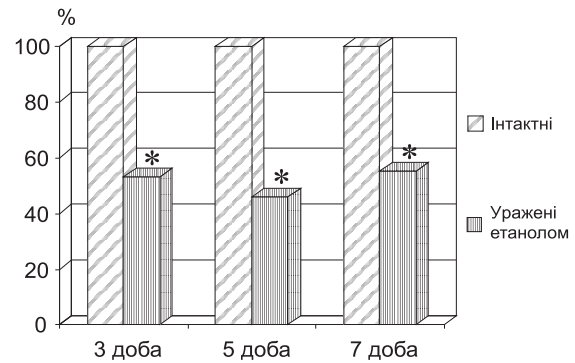


Рис. 2. Зміни співвідношення фосфоліпідів/загальні ліпіди у печінці тварин, уражених етанолом.

Таблиця 4

ДИНАМІКА ЗМІН КОНЦЕНТРАЦІЇ ТРИАЦИЛГЛІЦЕРОЛІВ І НЕЕСТЕРИФІКОВАНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ У ЩУРІВ З ГОСТРИМ АЛКОГОЛЬНИМ ОТРУЄННЯМ (M±m, n=6)

Інтактні тварини	Група тварин уражених етанолом		
	3 доба	5 доба	7 доба
ТГ, плазма крові, ммоль/л			
0,86±0,06	2,19±0,11 $p_1 < 0,01$	2,21±0,14 $p_1 < 0,01$	2,14±0,12 $p_1 < 0,01$
ТГ, тканина печінки, ммоль/кг			
5,32±0,26	8,66±0,31 $p_1 < 0,01$	8,63±0,28 $p_1 < 0,01$	8,74±0,26 $p_1 < 0,01$
НЕЖК, плазма крові, ммоль/л			
0,51±0,05	0,81±0,01 $p_3 < 0,05$	0,68±0,07 $p_3 > 0,05$	0,56±0,04 $p_3 > 0,05$

майбутньому може перетворитися на фактор агресії і сприяти розвитку жирової інфільтрації і порушенню основних функцій печінки.

На наш погляд, зростання рівня триацилгліцеролів за гострого токсичного ураження етанолом відбувається за таким механізмом. Етанол за надмірного надходження заміщує жирні кислоти, як нормальне паливо для мітохондрій. Окиснення етанолу зумовлює підвищення витрат коферменту НАД⁺ і збільшення співвідношення НАД⁺-Н/НАД⁺. Наслідком підвищеного синтезу гліцерол-3-фосфату, який при цьому має місце, є посилення естерифікації жирних кислот і синтезу триацилгліцеролів. Разом з цим, наростання концентрації НАД⁺-Н супроводжується зниженням швидкості окиснення жирних кислот на рівні піруват- та ізоцитратдегідрогеназних реакцій, що також сприяє їх відкладенню в печінці: жирні кислоти швидко включаються у триацилгліцероли.

Для більш повного уявлення про досліджувані процеси нами було проведено дослідження вмісту неестерифікованих жирних кислот у плазмі крові. В умовах екстремального стану біологічний сенс посилення процесу ліполізу в жировій тканині обумовлений мобілізацією НЕЖК, необхідних для забезпе-

чення периферійних органів і тканин достатньою кількістю енергетичного матеріалу.

За результатами досліджень, наведених у табл. 4, у тварин з гострим алкогольним отруєнням концентрація НЕЖК у плазмі крові достовірно зростала лише на 3-тню добу з моменту інтоксикації (159 %).

На 5-ту і 7-му добу даний показник знаходився майже на рівні інтактних тварин. На наш погляд, такі результати можна трактувати наступним чином: активізація ліполітичної активності у жировій тканині у цій ситуації носить лише транзиторий характер, як наслідок стресової реакції у відповідь на гостре отруєння. У подальшому цей процес нормалізується, а надмірний вміст триацилгліцеролів у плазмі і печінці в ці періоди можна пояснити зниженням їх розпаду за умов, коли має місце надлишок відновлювальних еквівалентів нікотинамідних коферментів.

Ще один показник, який має важливе значення для інтерпретації порушень обміну ліпідів, – концентрація фосфоліпідів. Фосфоліпіди є переважаючими компонентами клітинних мембран і представлені фосфатидною кислотою, холінфосфатидом, етаноламінофосфатидом, серинфосфатидом, полігліцерофосфатидами. За гострого алкогольного отруєння нами зафіксовано лінійне зростання даного показника у плазмі крові (рис. 1).

Тенденцію до зростання рівня фосфоліпідів у тварин з гострим алкогольним отруєнням ми відмітили і при дослідженні тканини печінки. Так, показники на 3-тню, 5-ту і 7-му добу становили 110 %, 101 % і 120 % відповідно.

Аналізуючи отримані результати, можна констатувати, що за алкогольного отруєння відбувається накопичення усіх класів ліпідів, хоча у порівнянні з триацилгліцеридами зростання фосфоліпідів було значно меншим. Вираховуючи співвідношення фосфоліпідів/загальні ліпіди, яке більш об'єктивно виражає тенденції змін цих класів ліпідів, ніж абсолютні показники, ми відмітили достовірне його зниження у плазмі крові і в печінці отруєнних тварин у порівнянні з інтактними. При гострій алкогольній інтоксикації досліджуваний показник на 3-тню добу у плазмі

крові становив 97 %, на 5-ту – 94 %, а на 7-му навіть дещо перевищував рівень у інтактних тварин, проте не достовірно. У печінці співвідношення фосфоліпідів до загальних ліпідів мало аналогічну тенденцію, проте було більш вираженим, ніж у плазмі крові (рис. 2).

Так, у групі тварин з введенням етанолу на 3-тю добу показник становив 53 %, на 5-ту – 46 %, на 7-му – 55 %, що достовірно нижче від норми.

ВИСНОВКИ

Отже, етиловий спирт порушує глюконеогенез у печінці, пригнічує окиснення жирних кислот. Таким чином, гостре ураження спричиняє порушення обміну ліпідів. Це проявляється у підвищенні концентрації загальних ліпідів у плазмі і печінці, зміні ліпідного спектра і зростанні співвідношення фосфоліпідів/загальні ліпіди.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Барабой В. А. Влияние некоторых про- и антиоксидантов на спонтанную хемилюминесценцию сыворотки крови крыс / В. А. Барабой, Е. Б. Ли // Укр. биохим. журн. – 1982. – № 3. – С. 330-331.
2. Божко Г.Х. Действие этанола на белки тканей и сыворотки крови человека и животных / Г.Х. Божко, П. В. Волошин // Успехи современной биол. – 1989. – Т. 108, № 1. – С. 58-65.
3. Бондаренко В. В., Ханжин Р. В. Анализ структуры острых отравлений алкоголем в Харьковском регионе за последние 13 лет // Актуальні питання та перспективи розвитку судової медицини та криміналістики: міжнар. наук.-практ. конф. судових медиків та криміналістів. – Х., 2005. – С. 80.
4. Войціцький В. Біоенергетика клітини / В. Войціцький, К. Верещагіна-Янко // Біол. і хімія в школі. – 2000. – № 6. – С. 14-21.
5. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А. М. Горячковский. – Одесса: Экология, 2005. – 607 с.
6. Калинин А. В. Вопросы патогенеза, клиники и лечения алкогольной болезни печени / А. В. Калинин // Клини. перспективы гастроэнтерол., гепатол. – 2001. – № 4. – С. 8-14.
7. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – С. 521-551.
8. Махов В. М. Желудочно-кишечный тракт при острой и хронической алкогольной интоксикации / В. М. Махов, М. В. Юраж // Рос. мед. журн. – 2000. – № 2. – С. 3-10.
9. Островский Ю. М. Метаболические предпосылки и последствия потребления алкоголя / Ю. М. Островский, В. И. Сатановская, С. Ю. Островский. – Мн: Наука и техника, 1988. – 263 с.
10. Пауков В. С. Алкоголизм и алкогольная болезнь / В. С. Пауков // Терапевт. архив. – 2001. – Т. 73, № 2. – С. 65-67.
11. Подымова С. Д. Болезни печени / С. Д. Подымова. – М.: Медицина, 1993. – 544 с.
12. Сирота Н. А., Ялтонский В. М. Профилактика зависимости от наркотиков и других психоактивных веществ: [руководство по наркол.]. В 2-х т. / Под ред. Н. Н. Иванца. – М., 2002. – Т. 2. – 187 с.
13. Сухарева Г. В. Алкогольная болезнь печени / Г. В. Сухарева // Мед. вестник. – 2003. – Т. 05, № 3. – С. 1-3.
14. Титов В. Н. Патофизиологические основы лабораторной диагностики заболеваний печени / В. Н. Титов // Клини. и лабораторная диагностика. – 1996. – № 1. – С. 3-9.
15. Харченко Н. К. Влияние ацетальдегида на формирование алкогольной зависимости в экспериментах на животных / Н. К. Харченко // Укр. биохим. журн. – 1998. – Т. 70, № 5. – С. 122-127.
16. Carlson L.A. Serum lipids in normal men / L. A. Carlson. – N-Y., 1960. – 167 p.
17. Hall P. M. Pathological spectrum of alcoholic liver disease. In: Alcoholic Liver Disease / P. M. Hall. – London: Edward Arnold, 1995. – P. 41-68.

УДК 616.36-099:547.262-06:612.075.3]-092.9**И. Р. Бекус, М. В. Кырылив, И. Я. Криницкая, И. Б. Ивануса****ВЛИЯНИЕ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА ЛИПИДНЫЙ ПРОФИЛЬ ПЕЧЕНИ И КРОВИ ЖИВОТНЫХ**

Проведенные нами исследования показали, что при остром алкогольном отравлении концентрация общих липидов достоверно повышается. Нами также проведено исследование концентрации фосфолипидов в плазме крови и печени животных, отравленных алкоголем. Мы зафиксировали рост их уровня в течение всего эксперимента. Нами было рассчитано соотношение фосфолипиды/общие липиды, которое дает возможность сопоставить, насколько изменения этих показателей пропорциональны. Вычисляя этот показатель, мы зафиксировали достоверное его снижение по сравнению с интактными животными.

Ключевые слова: алкогольное отравление; общие липиды; фосфолипиды; неэтерифицированные жирные кислоты

UDC 616.36-099:547.262-06:612.075.3]-092.9**I. R. Bekus, M. V. Kyryliv, I. Ya. Krynytska, I. B. Ivanusa****INFLUENCE OF ALCOHOL INTOXICATION ON LIPID LIVER AND BLOOD ANIMALS**

This scientific work is devoted to researching the dynamic changes in lipid metabolism in rats with acute alcohol poisoning. It was determined, that poisoning of animals by ethanol is manifested in lipid synthesis liver function violation and dyslipidemia development, increased atherogenic factors in plasma and liver of animals. We recorded a growth of phospholipids during the entire experiment. Calculating indicator phospholipids – total lipids, we recorded a significant reduction in its compared to intact animals.

Key words: alcoholic poisoning; total lipids; phospholipids; unesterified fatty acids

Адреса для листування:

46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1.

Тел. 0352-52-44-92.

Тернопільський державний медичний університет

Надійшла до редакції 29.01.2014 р.