

УДК 577.152.361:616.092

**ДИНАМІКА ВМІСТУ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ  
У ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ТРИВАЛОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ**

**К. Дудок\*, О. Мороз\*\*\*, І. Влох\*\*\*, Р. Влох\*\*,  
М. Особа\*, Н. Гринчишин\*\*\*, Н. Ільчишин\***

*\* Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна*

*\*\* Інститут фізичної оптики МОН України  
вул. Драгоманова, 23, м. Львів 79005, Україна*

*\*\*\* Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького  
вул. Пекарська, 69, м. Львів 79010, Україна*

Досліджено вміст молекул середньої маси (МСМ) у плазмі крові щурів у нормі та за умов алкогольної інтоксикації. Тривалість алкогольної інтоксикації – один–шість місяців. Визначено вміст МСМ у плазмі крові батьківського покоління (Р) та декількох наступних поколінь ( $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$ ). З'ясовано, що вміст МСМ у контрольних щурів становив  $1,78 \pm 0,12$  г/л. Після одномісячного споживання 15 % розчину етилового спирту вміст МСМ підвищився до  $4,10 \pm 0,27$  г/л, за дво–шестимісячного – перевищував контрольний у 2,13–1,34 раза. У наступних поколіннях алкоголізованих щурів вміст МСМ також зростає. У першого покоління вміст МСМ у  $1,78$ – $2,38$  раза перевищував контрольний рівень; у другого – у 2,54; у третього – у 3,10 раза. Обговорено можливі механізми збільшення вмісту МСМ у плазмі крові алкоголізованих щурів у потомстві.

*Ключові слова:* молекули середньої маси, алкогольна інтоксикація, алкоголізація, щурі, потомство.

У патогенезі алкоголізму простежуються глибокі зміни метаболізму, завдяки яким порушується біогенез, структура і функції клітин. Численні дослідження дали змогу виявити, що алкогольна інтоксикація негативно впливає на головні етапи біосинтезу білків, зокрема на активацію амінокислот, регуляцію на рівні генетичного апарату клітини [1]. За умов гострої алкогольної інтоксикації суттєво змінюється обмін замінних амінокислот, які активно метаболізує печінка; серед них такі, як треонін, глютамін, аланін, цистеїн та ін. [11]. Отже, можна сказати, що етанол, потрапляючи в організм, призводить до дисбалансу амінокислот. Цей ефект може бути зумовлений як порушенням транспортування амінокислот, так і зміною активності трансаміназ. Дисбаланс амінокислот, відповідно, може призвести до порушення синтезу окремих поліпептидів як крові, так і інших тканин.

Важливу роль у молекулярних механізмах алкогольної інтоксикації відіграє ацетальдегід. Цей метаболіт здатний модифікувати білки, призводячи до порушення їхніх функцій, викликати зміни мембранних, цитоплазматичних і хроматинових структур, біогенних амінів, коферментів та окремих пептидів [1, 7, 9, 11, 13, 17, 20].

Останніми роками накопичена значна кількість даних, які свідчать, що в патогенезі багатьох захворювань (отруєння, травми, голодування, загострений туберкульоз, опіки, гнійні захворювання, алкогольна інтоксикація та ін.) у плазмі крові з'являється

особлива група сполук – молекул середньої маси (МСМ) [4, 6, 10, 12]. МСМ мають різну природу, проте більшість учених вважає, що головними компонентами цієї групи сполук є пептиди, похідні глюкуронової кислоти й олігоспиртів, кініни, енкефаліни, фрагменти колагену, серотонін [5, 6, 10, 12, 18]. Як звичайно, поява цих речовин пов'язана з інтоксикацією організму.

Сьогодні у клініці щораз ширше застосовують методи визначення МСМ як об'єктивного критерію оцінки ступеня інтоксикації організму. З'ясовано, що максимальну токсичність має фракція з молекулярною масою 1000–5000 Da [5, 8].

Однак функція МСМ в організмі не обмежена лише токсичною дією. У складі фракції МСМ є сполуки, які виконують регуляторні функції. Отже, однією із найважливіших властивостей МСМ є їхня поліфункціональність. Припускають, що МСМ можуть відігравати адаптивну протекторну роль у разі стресів різної етіології. МСМ виявляють антиоксидантні властивості. Це явище чітко зафіксоване за термічних травм, де спостерігали виділення так званих термічних токсинів, які належать до МСМ і здатні регулювати процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у печінці та головному мозку [15, 16].

У літературі є дані про те, що із тканин мозку виділено понад 50 пептидів, які належать до МСМ і названі нейропептидами. Виявлено, що вони впливають на деякі форми поведінки людей [14, 15, 21]. Особливу увагу привертають результати досліджень впливу МСМ на процеси тканинного дихання й окисного фосфорилування. Одержані дані свідчать про майже повне роз'єднання окиснення і фосфорилування та порушення механізмів регуляції дихання аденіловими нуклеотидами [5, 16].

Оскільки алкогольна інтоксикація супроводжується синдромами, характерними для таких станів, як печінкова недостатність, гіпоксія, то ми дослідили динаміку вмісту МСМ у плазмі крові щурів, яких піддавали довготривалій алкогольній інтоксикації, та їхнього потомства (таких систематичних даних у літературі нема).

У дослідженнях використовували білих безпородних щурів самців і самок масою 250–300 г та їхнє перше, друге і третє покоління ( $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$ ) масою 150–200 г. Тварин утримували на раціоні віварію. Алкогольну інтоксикацію забезпечували додаванням у раціон щурів щоденно замість води 15% розчин етилового спирту. Щурів для дослідів відбирали за схильністю до алкоголю, застосовуючи “двопляшковий” метод [2]. Тварин розподіляли на групи. До першої групи зачисляли інтактних тварин, до другої – тварин, які протягом одного–шести місяців споживали алкоголь; до третьої – перше покоління щурів ( $F_1$ ), яке виросло після спарювання особин алкоголізованих одно-, дво- та шести-місячних щурів; до четвертої – друге покоління щурів ( $F_2$ ), яке виросло після спарювання тримісячних алкоголізованих щурів першого покоління; до п'ятої – третє покоління щурів ( $F_3$ ), яке виросло після спарювання тримісячних алкоголізованих щурів другого покоління. Кожне наступне молоде покоління щурів споживало алкоголь. Окрему групу становило молоде покоління щурів, які споживали воду. Досліди тривали протягом 2002–2004 років. З метою врахування впливу сезонних факторів кожного разу паралельно ставили контроль. Кров для аналізів брали із хвостової вени, або після декапітації. Вміст МСМ у плазмі крові визначали за методом Ніколайчика [10], концентрацію білка – за методом Лоурі [19].

Відомо, що за алкогольної інтоксикації змінюється білковий спектр плазми крові. Зокрема, незаперечний факт абсолютного і відносного зниження вмісту альбуміну та деяких інших білків у плазмі крові. Причиною таких змін є пригнічення синтезу білків у печінці [1]. Однак не можна виключати і того факту, що за алкогольної інтоксикації активуються протеолітичні системи, в результаті чого знижується вміст окремих полімерів і збільшується кількість продуктів їхньої деструкції у плазмі крові. Власне, такими продуктами можуть бути МСМ.

З отриманих нами експериментальних даних, наведених у табл. 1, випливає, що за тривалої алкогольної інтоксикації щурів (один–шість місяців) значно зростає вміст МСМ у плазмі крові. Наприклад, уже після першого місяця споживання алкоголю кількість МСМ у плазмі піддослідних тварин у 2,3 раза перевищує контроль. Після двоп'ятимісячного споживання алкоголю вміст МСМ збільшується у 2,0–2,1 раза, після шести місяців – у 1,34 раза. Така реакція організму може бути зумовлена стресом від етанолу та його похідних. У цьому випадку ендогенна інтоксикація, очевидно, пов'язана з неспроможністю печінки активно здійснювати інтоксикацію. Після шестимісячного вживання алкоголю вміст МСМ у плазмі крові щурів зростав лише в 1,3 раза. Отримані результати дають підстави стверджувати, що довготривале безперервне споживання алкоголю призводить до реакцій, які певною мірою запобігають розвитку процесів, пов'язаних з утворенням МСМ.

Відомо, що етанол легко проникає через стінки капілярів, клітинні мембрани і тканинні структури, так звані бар'єри, які перешкоджають за нормальних умов надходженню шкідливих агентів (метаболітів) до важливих органів. До таких бар'єрів належать оболонки мозку (гематоенцефалічний бар'єр), а також плацента (плацентарний бар'єр), які захищають плід від проникнення шкідливих речовин [4, 9, 13]. Згубну дію алкоголю на плід пояснюють тим, що алкоголь дуже швидко проникає у кровоносну систему плоду. З'ясовано, що алкоголь у плоді людини не знешкоджується у перші 12 тижнів, оскільки плід починає виробляти власну алкогольдегідрогеназу лише у другій половині вагітності [16]. Головне у цьому випадку полягає в тому, що новонароджений організм може бути пристосований до високої

Таблиця 1

Вміст молекул середньої маси у плазмі крові щурів  
за алкогольної інтоксикації, г/л,  $M \pm m$

Тривалість алкогольної інтоксикації	<i>n</i>	Вміст МСМ, г/л плазми	% до контролю
	Група I		
Контроль	3	1,78±0,12	-
	Група II		
Один місяць	5	4,10±0,27*	230
Два місяці	3	3,74±0,04*	207
Три місяці	3	3,62±0,08*	203
Чотири місяці	3	3,80±0,15*	213
П'ять місяців	9	3,75±0,11*	210
Шість місяців	3	2,40±0,21*	134

\* Вірогідні зміни щодо контролю,  $p > 0,95$

Таблиця 2

Вміст молекул середньої маси у плазмі крові першого покоління  
алкоголізованих щурів, г/л,  $M \pm m$

Тривалість алкогольної інтоксикації		<i>n</i>	Вміст МСМ, г/л плазми	% до контролю
<i>P</i>	<i>F</i> <sub>1</sub>			
Група I				
Контроль	Контроль	3	1,56±0,07	-
Група III				
Один місяць	Три місяці	3	3,72±0,10*	238
Два місяці	Чотири місяці	3	3,20±0,16*	200
Два місяці	Шість місяців	4	2,78±0,06*	178
Шість місяців	Три місяці H <sub>2</sub> O	3	2,30±0,15*	147

\*Зміни щодо контролю вірогідні,  $p > 0,95$

концентрації як алкоголю, так і продукту його перетворення – ацетальдегіду, який, реагуючи з біологічно активними структурами, може модифікувати їх, спричиняючи глибокі порушення багатьох ланок обміну речовин [5].

Наступним етапом дослідження стало визначення МСМ у плазмі крові першого покоління щурів ( $F_1$ ), народженого після спарювання особин батьківського покоління, яке споживало алкоголь протягом одного, двох, шести місяців (табл. 2).

Аналіз результатів, наведених у табл. 1 і 2, дає підставу стверджувати, що тривале споживання алкоголю призводить до достовірного зростання вмісту МСМ у плазмі крові як батьківського, так і наступного покоління. Варто звернути особливу увагу на те, що покоління, яке виросло після спарювання шестимісячних алкоголізованих щурів і яке споживало протягом трьох місяців воду, також мало підвищений вміст МСМ у плазмі крові.

Зазначені ефекти були виявлені й під час дослідження МСМ у плазмі крові другого та третього поколінь щурів (табл. 3, 4).

Можна припустити, що деяке відносне зниження вмісту МСМ у плазмі крові молодих поколінь щурів, які є нащадками алкоголізованих батьків, свідчить про те, що у них, очевидно, виникають адаптивні системи, які зв'язують, розщеплюють, інактивують ацетальдегід. З іншого боку, дефіцит ацетальдегіду призводить до порушення окиснювальних процесів. Це, відповідно, викликає потяг до вживання алкоголю [5, 22]. У молодому

Таблиця 3

Вміст молекул середньої маси у плазмі крові алкоголізованих щурів  
другого ( $F_2$ ) покоління, г/л,  $M \pm m$

Тривалість алкогольної інтоксикації		<i>n</i>	Вміст МСМ, г/л плазми	% до контролю
Група I				
Контроль		3	1,85±0,08	-
Група IV				
Три місяці		6	4,70±0,20*	254
Три місяці + один місяць H <sub>2</sub> O		3	3,12±0,16*	168
Три місяці H <sub>2</sub> O		3	2,55±0,18*	138

\*Вірогідні зміни щодо контролю,  $p > 0,95$

Таблиця 4

Вміст молекул середньої маси у плазмі крові алкоголізованих щурів другого ( $F_2$ ) та третього ( $F_3$ ) покоління, г/л,  $M \pm m$

Покоління, тривалість алкогольної інтоксикації	<i>n</i>	Вміст МСМ, г/л	% до контролю
Група I			
Контроль	4	1,62±0,03	-
Група V			
$F_2$ , шість місяців	3	2,32±0,02*	143
$F_2$ , три місяці + три місяці $H_2O$	3	1,93±0,04*	119
$F_3$ , три місяці	3	5,05±0,02*	310
$F_3$ , нема, три місяці $H_2O$	3	2,79±0,15*	172

\* Вірогідні зміни щодо контролю,  $p > 0,95$

організмі, який щоденно вживає алкоголь, така динаміка сприяє підвищенню рівня системи етанол–ацетальдегід. Знову ж таки, підвищений рівень ацетальдегіду призводить до порушення багатьох ланок обміну речовин і, найголовніше, білкового. Про це опосередковано можна судити за вмістом МСМ (див. табл. 3, 4).

Третє покоління щурів отримане від другого, яке до спарювання споживало алкоголь три місяці. Їхнє перше покоління споживало алкоголь також три місяці. Батьківське покоління, яке дало початок наступним, споживало алкоголь чотири місяці (див. табл. 4).

Отже, одержані результати дають підстави стверджувати, що за хронічної алкогольної інтоксикації збільшення вмісту МСМ пов'язане зі зменшенням тривалості життя окремих білків плазми крові, пришвидшенням їхнього протеолізу. На користь цього свідчать дані, які відображають достовірне зниження вмісту білків плазми крові за алкогольної інтоксикації [1, 5]. Крім того етанол інактивує тромбін, денатурує протромбін [23]. Ще одним субстратом для утворення МСМ може бути гемоглобін, який надходить у плазму після руйнування еритроцитів. Систематичні дослідження стабільності еритроцитарних мембран, виконані нами, доводять достовірне скорочення тривалості життя еритроцитів за алкогольної інтоксикації [19]. Хоча гемоглобін утворює комплекси із гаптоглобіном, вміст якого за алкогольної інтоксикації значно зростає, однак кількість гаптоглобіну може бути недостатньою для повного зв'язування гемоглобіну, внаслідок чого він піддається неповному протеолізу, роблячи внесок у пул МСМ.

Дослідження виконані за фінансування Міністерства освіти та науки України (Державного фонду фундаментальних досліджень, проект №501).

1. Божко Г.Х., Волошин П.В. Действие этанола на белки тканей и сыворотки крови человека и животных // Успехи совр. биологии. 1989. Т. 108. Вып. 1. С. 58-65.
2. Буров Ю.В., Ведерникова А.Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма. М.: Медицина. 1985. 239 с.
3. Владыка А.С., Левицкий Р.Э., Поддубная Л.П., Габриэлян Н.И. Средние молекулы и проблема эндогенной интоксикации при критических состояниях различной этиологии // Анестезиология и реаниматология. 1987. № 2. С. 3-9.
4. Громышевская Л.Л. «Средние молекулы» как один из показателей «метаболической интоксикации» в организме // Лаб. диагностика. 1997. № 1. С. 11-16.

5. Гулий М.Ф. Про метаболічні порушення та корекція їх за алкоголізму та наркоманії // Укр. біохім. журн. 2000. Т. 72. № 6. С. 103-105.
6. Иванов В.Т., Карелин А.А. Выделение, структура и свойства новых эндогенных пептидов // Биооргани. химия. 1992. Т.18. № 10. С. 1271-1311.
7. Копытова Т.В., Добротина Н.А., Боровков И.Н., Четверина О.В. Значение среднемолекулярных пептидов сыворотки крови при острых формах ишемической болезни сердца // Лаб. дело. 1991. № 10. С. 18-21.
8. Лурье В.Л., Лобаков А.И., Калиман И.М. Влияние плазмофореза на содержание пептидов среднемолекулярной массы при тяжелых гнойно-септических осложнениях // Лаб. диагностика. 1986. № 2. С. 95-97.
9. Мишук Д.О., Капля А.А. Влияние этанола на структурно-функциональные характеристики мембран коры головного мозга крыс *in vitro* // Укр. біохім. журн. 2003. Т. 75. № 2. С. 55-61.
10. Николайчик В.В., Моин В.В., Кирковский В.В. и др. Способ определения «средних молекул» // Лаб. дело. 1991. № 10. С. 13-18.
11. Островский С.Ю., Горенштейн Б.И., Гриневич В.П. и др. Аминокислоты печени и мозга у крыс с портокавальным анастомозом при острой алкогольной интоксикации // Укр. биохим. журн. 1995. Т. 67. № 5. С. 93-98.
12. Протас А.Ф. Влияние среднемолекулярных пептидов крови на структуру и матричную активность хроматина // Биополимеры и клетка. 1995. Т. 11. № 6. С. 62-67.
13. Селедцов А.М. Перекисное окисление и состояние антиоксидантных систем при опийной наркомании, хроническом алкоголизме, токсикомании, обусловленной вдыханием органических растворителей // Вопросы мед. химии. 1995. Т. 41. № 3. С. 50-53.
14. Сыромятникова Е.Д., Федорова Н.В., Ильяшенко К.К. и др. Изменение уровня нейромедиаторов и среднемолекулярных пептидов у больных с острыми отравлениями опийными наркотиками // Клинич. лаб. диагностика. 2000. № 10. С. 16-17.
15. Тузикова З.А., Осипович В.К. Влияние средних молекул, выделенных из сыворотки крови обожженных пациентов на состояние процессов перекисного окисления липидов в тканях животных // Вопросы мед. химии. 1990. Т. 36. № 3. С. 24-26.
16. Тузикова З.А. Среднемолекулярные уремические токсины // Вопросы мед. химии. 1993. Т. 39. С. 2-8.
17. Харченко Н.К. Влияние ацетальдегида на формирование алкогольной зависимости в экспериментах на животных // Укр. биохим. журн. 1998. Т. 70. № 5. С. 122-127.
18. Шепилова К.И., Валякин С.О. Диагностическое значение определения средних молекул при некоторых деструктивных патофизиологических процессах // Лаб. дело. 1984. № 9. С. 546-549.
19. Dudok K.P., Moroz O.M., Dudok T. et al. Spectroscopic Study of Haemoglobin Ligand Forms and Erythrocyte Membrane Dynamics at Alcohol Intoxication of White Rats // Ukr. J. Phys. Opt. 2004. Vol. 5. N 1. P. 32-35.
20. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr R. L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193. N 2. P. 265-275.

21. *Collins M.A.* In alcohol and opiates: neurochemical and behavioral mechanisms / Ed. by K. Blum. New York, 1977. P. 155-166.
22. *Smith Brain R., Spivak Karen J., Amit Lalman.* Does acetaldehyde play a role in alcoholism. Behavioral versus biochemical analysis // *Rev. Alcohol and Drug Probl.* 1990. Vol. 10. P. 1-13.
23. *Vogel W., Evans B.D.* Stress and alcohol // *Alcohol and Hormones: Drug and Alcohol Abuse Reviews.* 1995. Vol. 6. P. 227-244.

**DYNAMICS IN THE CONTENT OF MIDDLE WEIGHT MOLECULES  
IN THE BLOOD PLASMA OF THE RATS AT THE DURATION  
OF ETHANOL INTOXICATION**

**K. Dudok\*, O. Moroz\*\*\*, I. Vlokh\*\*\*, R. Vlokh\*\*,  
M. Osoba\*, N. Grinchishin\*\*\*, N. Ilchishin\***

*\*Ivan Franko National University of Lviv  
4 Hrushevskogo Str., Lviv, 79005, Ukraine*

*\*\*Institute of Physical Optics  
23 Dragomanov Str., Lviv, 79005, Ukraine*

*\*\*\*Danylo Galickii National Medical University,  
69 Pekarska Str., Lviv, 79010, Ukraine*

The content of middle weight molecules (MWM) in the blood plasma of the rats at the normal state and at the ethanol intoxication has been studied. The duration of ethanol intoxication was one-six month. It has been shown that content of MWM in the control group of rats is  $1.78 \pm 0.12 \text{g/l}$ . After the once month using of 15% ethanol solution the content of MWM exceed the control in 1.34–2.13 time. The content of MWM in the next generations of rats also increases. The level of MWM of first generation exceed the control one in 1.78–2.38 time, in second – 2.54 time and in third – in 3.10 time.

*Key words:* middle weight molecules, ethanol intoxication, rats, generation.

Стаття надійшла до редколегії 18.11.2004

Прийнята до друку 23.12.2004