

## Отношение структурных фракций воды в крови и головном мозге крыс как показатель повреждающего действия этанола

ФАРАЩУК Н.Ф.

д.м.н., профессор, зав. кафедрой общей и медицинской химии,  
Смоленская государственная медицинская академия

СМИРНОВА Л.М.

к.б.н., доцент кафедры общей и медицинской химии, Смоленская государственная медицинская академия

*Острая алкогольная интоксикация у крыс вызывает нарушения процессов гидратации в крови и в головном мозге, что выражается в увеличении содержания свободной и уменьшении содержания связанной воды. Эти нарушения при однократном введении этанола являются основной причиной «разжижающего» эффекта алкоголя на мембраны клеток и первичным неспецифическим механизмом его действия на ткани.*

### Введение

В работах разных авторов, изучавших мембранотропные эффекты этанола, сообщаются близкие в качественном и количественном отношении результаты. Этот факт контрастирует с противоречивыми данными о других эффектах этанола, в частности с влиянием на нейромедиаторные системы. Характерной особенностью мембранотропных эффектов этанола является их универсальный характер в отношении различных клеточных субклеточных мембран нейронов, эритроцитов, миелиновых и митохондриальных мембран, синапсом, а также искусственных мембран. D. Goldstein и J. Chin [6] сформулировали концепцию, согласно которой мембранотропные эффекты этанола являются его истинным первичным действием, тогда как все остальные эффекты — производные от действия на мембраны. Данные литературы указывают, что однократное введение алкоголя сопровождается повышением текучести мембран [7].

Многие авторы предполагают, что в основе изменения текучести мембран, нарушения их функций при алкогольной интоксикации лежат структурные перестройки в гидрофобном слое липидов [4]. Внимание исследователей в плане выяснения структурных перестроек мембран под влиянием этанола направлено, главным образом, на изучение содержания и соотношения в мембране холестерина и фосфолипидов. Однако существуют доказательства, что этанол непосредственно влияет на встроенные в липидный слой белки, а изменения самих липидов имеют характер вторичных [10]. Несмотря на определенную практическую и теоретическую значимость представленных в литературе данных, они свидетельствуют о трудности для экспериментаторов в установлении причинно-следственных связей между различными изменениями в структуре мембран.

Очевидно, каков бы ни был механизм мембранотропных эффектов алкоголя, они проявляются в нарушении способности биополимеров к активной конформации [8]. При этом необходимо учитывать, что стабилизатором нативной структуры макромолекул является вода, содержание которой в мембране составляет 25—35% по массе. Перестройки водно-белкового комплекса сопровождают все изменения активности ферментов, трансмембранного переноса, т.е. существенным образом влияют на функции мембран. Принимая во внимание, что в сложной системе взаимодействий этанола и биомолекул ключевым звеном является структура воды, мы исследовали количественное соотношение структурных фракций воды в крови и тканях головного мозга крыс при острой алкогольной интоксикации.

В живых системах выделяют две структурные фракции воды: связанную воду гидратных оболочек компонентов клеток (макромолекул, мицелл, органелл) и свободную воду, не участвующую в процессе гидратации. Соотношения между ними определяют конформации и биологические функции биомолекул и, следовательно, физиологическое состояние системы и организма в целом.

Как известно, при однократном приеме алкоголь быстро преодолевает тканевые барьеры и через 1,5 ч устанавливается динамическое равновесие с максимальным содержанием его во всех тканях и органах. Причем на начальном этапе этанол концентрируется в крови, а затем накапливается в мозге. Поэтому интерес представляло изучение процессов гидратации именно в этих тканях. Уязвимость их к действию алкоголя и первичные нарушения установлены, но механизм нарушений на молекулярном уровне остается открытым.

### Материалы и методы исследования

Опыты проводились на белых крысах-самцах линии Vistar весом 150—170 г. Этанол вводили однократно внутривенно в виде 40%-ного раствора из расчета 4 г 96%-ного спирта на 1 кг массы тела. Забой животных производили путем одномоментной декапитации через 1,5 ч после введения алкоголя. К этому времени содержание алкоголя в крови достигает максимума и соответствует средней степени тяжести алкогольной интоксикации у человека. Контрольные животные получали в таком же объеме дистиллированную воду, их декапитировали в тех же условиях.

Содержание фракций воды определяли в цельной крови и одновременно в плазме и форменных элементах крови капиллярным дилатометрическим методом, разработанным в нашей лаборатории (А.с. №1544381, 22.10.1989; А.с. №1710000, 8.10.1991). Для исследования брали головной мозг животного полностью и гомогенизировали до получения однородной массы. Содержание структурных фракций воды в мозге определяли термогравиметрическим методом, также разработанным в нашей лабо-

ратории (Патент №2195651, 27.12. 2002). Коэффициент гидратации ткани головного мозга рассчитывали как отношение количества связанной воды к количеству свободной.

### Результаты и обсуждение

Результаты исследования процессов гидратации в крови и ее компонентах представлены в табл. 1.

Из таблицы следует, что уровень общей воды в цельной крови и в плазме достоверно повышается через час после введения алкоголя животным, причем в плазме этот эффект сохраняется в течение суток. В эритроцитах, напротив, наблюдается обезвоживание, которое максимально выражено через час и сохраняется в течение трех суток. Но наиболее характерным показателем интоксикации было снижение содержания связанной воды во всех компонентах крови. Как в плазме, так и в эритроцитах снижение связанной воды наблюдалось через 1 ч, максимальным оно было через 24 ч, причем особенно выраженным оказалось в эритроцитомассе. Эти изменения довольно стойко сохранялись в течение трех суток, после чего результаты приближались к контрольным показате-

Таблица 1

Содержание фракций воды в цельной крови и компонентах крови крыс при острой алкогольной интоксикации

| Группы животных    | Общая вода, % | Свободная вода, % | Связанная вода, % |
|--------------------|---------------|-------------------|-------------------|
| Цельная кровь      |               |                   |                   |
| Контроль           | 78,04±0,14    | 63,60±0,21        | 14,44±0,23        |
| 1 ч                | 78,94±0,38*   | 66,21±0,42*       | 12,73±0,21*       |
| 24 ч               | 78,77±0,41    | 66,12±0,36*       | 12,65±0,34*       |
| 2 сут.             | 77,92±0,33    | 64,81±0,28*       | 13,11±0,56*       |
| 3 сут.             | 78,55±0,49    | 65,42±0,41*       | 13,13±0,61*       |
| Плазма             |               |                   |                   |
| Контроль           | 89,24±0,19    | 76,26±0,12        | 12,98±0,25        |
| 1 ч                | 90,96±0,28*   | 79,60±0,74*       | 11,36±0,38*       |
| 24 ч               | 90,73±0,21*   | 79,44±0,56*       | 11,29±0,41*       |
| 2 сут.             | 89,69±0,75    | 79,11±0,34*       | 11,32±0,26*       |
| 3 сут.             | 89,53±0,56    | 78,56±0,64*       | 10,97±0,48*       |
| Форменные элементы |               |                   |                   |
| Контроль           | 66,72±0,24    | 42,85±0,18        | 23,87±0,22        |
| 1 ч                | 64,94±0,33*   | 44,35±0,64*       | 20,59±0,71*       |
| 24 ч               | 65,29±0,58*   | 45,09±0,49*       | 20,20±0,53*       |
| 2 сут.             | 65,88±0,41*   | 45,29±0,66*       | 20,59±0,36*       |
| 3 сут.             | 65,55±0,81    | 44,57±0,36*       | 20,98±0,41*       |

Примечание. \* — достоверное отличие от контроля

лям. Содержание свободной воды во всех компонентах крови характеризовалось противоположными изменениями — повышение уровня, обнаруженное через час после введения этанола, удерживалось трое суток. Приведенные результаты отчетливо свидетельствуют о значительной потере жидкости клеточными компонентами крови.

Известно, что эритроцитарные мембраны обладают высокой чувствительностью к нарушениям гомеостаза и различным повреждающим воздействиям. Ряд авторов рассматривает эритроциты в качестве универсальных моделей для изучения мембранотропных эффектов этанола, поскольку мембраны этих клеток имеют сходные характеристики с мембранными структурами других тканей [6]. В частности, между эритроцитарными и синаптосомальными мембранами имеется практически полное совпадение по выраженности воздействия алкоголя и дозам, при которых оно проявляется [5]. Наши исследования процессов гидратации при однократном введении этанола в организм показали, что их характер в крови и в тканях головного мозга идентичен. Как следует из табл. 2, содержание общей воды в ткани мозга достоверно повышалось, примерно на 4,2% ( $p < 0,01$ ). Это подтверждает известный факт гидратации головного мозга при алкогольной интоксикации. Нами впервые установлено, что одновременно, как и в крови, идет процесс перераспределения структурных фракций воды. Содержание связанной, несмотря на увеличение общей воды, снижается на 2,7% ( $p < 0,01$ ), а содержание свободной увеличивается на 6,9% ( $p < 0,01$ ). Коэффициент гидратации мозга в результате воздействия этанола снижается на 30% (с 0,21 до 0,148;  $p < 0,01$ ). Это говорит о том, что биомакромолекулы и клеточные структуры в определенной степени теряют способность стойко удерживать воду и структура гидратных оболочек будет существенно меняться.

Установленное нами увеличение содержания общей воды, а главное, изменение соотношения ее структурных фракций в головном мозге и в крови при однократном введении этанола животным представляет интерес в плане выяснения системы наиболее раннего реагирования в организме на алкоголизацию.

Существует мнение, что «уровень сознания» определяется прежде всего содержанием в головном мозге воды, а не электролитными сдвигами [2]. В таком случае регуляция содержания воды в головном мозге может быть основой для объяснения некоторых симптомов алкогольной интоксикации.

Лабильность физико-химического состояния и структуры воды является одним из важнейших механизмов регуляции гомеостаза, обеспечения наиболее адекватных условий для протекания метаболических реакций. Вода не только участвует в организации пространственной структуры биологических мембран, но и активно воздействует на происходящие в них процессы. Выявленное нами достоверное увеличение уровня свободной и уменьшение уровня связанной воды в тканях головного мозга и во всех компонентах крови, очевидно, является основной причиной «разжижающего» действия алкоголя на мембраны. Этот эффект обусловлен нарушением способности биомакромолекул к активной конформации и выражается в появлении свободных пространств в фосфолипидном бислое и в образовании дефектов «упаковки» мембран. Понятно, что такой характер процессов гидратации при однократном введении этанола является универсальным в отношении различных тканей организма.

По мнению ряда авторов, накопление свободной воды в тканях за счет уменьшения количества связанной с биосубстратами воды является основным повреждающим фактором при различных патологиях [3]. Применительно к алкогольной интоксикации это обстоятельство может означать изменение физиологического состояния организма, так как установлено, что фармакологическим коррелятом мембранотропного эффекта этанола является его наркотическое действие. Распространено мнение, что наркотическое действие алкоголя неспецифично и его эффект находится в ряду таких депрессантов ЦНС, как анестетики и инертные газы [1]. Применяя гипотезу Л. Полинга неспецифического действия этих веществ, можно предположить, что алкоголь, как и другие депрессанты, разрушает гидратную оболочку мембрановыстилающих белков, уменьшая их гидрофильность. В результате белки отслаиваются, а появившаяся но-

Таблица 2

Содержание фракций воды (%) в гомогенатах головного мозга крыс

| Группа животных        | n  | Общая вода  | Связанная вода | Свободная вода | Коэффициент гидратации |
|------------------------|----|-------------|----------------|----------------|------------------------|
| Контроль               | 44 | 76,78±0,12  | 13,16±0,07     | 63,62±0,16     | 0,21±0,005             |
| После введения этанола | 54 | 80,99±0,12* | 10,45±0,06*    | 70,53±0,12*    | 0,148±0,00*            |

Примечание. \* — достоверное отличие от контроля

вая граница раздела нарушает ионную проводимость межклеточной мембраны. Это вызывает потерю чувствительности клеток к нервным импульсам [9].

Таким образом, на основании результатов наших исследований мы считаем, что нарушение процессов гидратации тканей является основным первичным и неспецифическим механизмом действия, а соотношение структурных фракций воды — наиболее динамичным критерием, отражающим эффект воздействия алкоголя на ткани, в то время как выявление других физико-химических показателей может быть затруднено. Дальнейшие исследования в этом направлении позволят расширить физико-химическую основу для объяснения физиологических процессов, протекающих в организме при алкогольной интоксикации.

### Список литературы

1. Буров Ю.В., Ведерникова Н.Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма. — М.: Медицина, 1985. — 240 с.
2. Коржевский Д.Э., Отеллин В.А. Структурные основы становления гематоликворного барьера у человека // Успехи физиол. наук. — 2002. — Т. 33, №4. — С. 43—52.
3. Фаращук Н.Ф., Рахманин Ю.А. Вода — структурная основа адаптации. — Москва, Смоленск, 2004. — 180 с.
4. Branche M.E., Buydens-Branche L. Are the effect of chronic ethanol administration on erythrocyte membrane mediated by changes in plasma lipids? // Drug and Alcohol Depen. — 1990. — Vol. 25, №1. — P. 67—71.
5. Chin J., Goldstein D. Effects of low concentrations of ethanol on the fluidity of spin-labeled erythrocyte and brain membranes // Molec. Pharmacol. — 1977. — Vol. 13. — P. 435—441.
6. Goldstain D., Chin J. Interaction of ethanol with biological membranes // Fed. Proc. — 1981. — Vol. 40. — P. 2073—2076.
7. Hilldom M.E., Kast M. Effect of ethanol on blood viscosity and erythrocyte flexibility in healthy men // Europ. Journ. Clin. Invest. — 1983. — Vol. 13, №1. — P. 45—48.
8. Schlenk M., Bopp Rh. Et al. Structure and dynamics of water on membrane surfaces and in narrow transmembrane channels. Molecular dynamics simulations // Transp. Through Membranes: Channels and Pumps. — Dordrecht ets. — 1988. — P. 219—235.
9. Vasilescu V., Catona E. New data concerning the role of water in biosystems // Rev. Roum. Morfol. Embriol. et Physiol. Ser. Physiol. — 1980. — Vol. 17, №1. — P. 3—17.
10. Wood W.G., Schroder F. Effect of ethanol on biological membranes. Relative significance of changes in membrane layer // Life Sci. — 1988. — Vol. 43, №6. — P.467—473.

## RELATIONSHIP BETWEEN STRUCTURAL FRACTIONS OF WATER IN BLOOD AND IN BRAIN AS AN INDEX OF ETHANOL NEGATIVE INFLUENCE ON TISSUES

**PHARASCHUK N.Ph.** Dr. med. sci., professor, Smolensk State Medical Academy  
**SMIRNOVA L.M.** Cand. biol. sci., Smolensk State Medical Academy

*Acute alcohol intoxication in rats causes the disorders of hydration processes in tissues. It has been shown increased percentage of «free» water and reduced percentage of «linked» water in brain and in blood. These disorders of hydration processes are evidently the main reason of increased cell membrane fluidity in acute ethanol administration.*