

Maria Rodo*, Małgorzata Bednarska-Makaruk**, Anna Stajniak**,
Hanna Wehr*

Zakład Genetyki Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie*
Zakład Biochemii Klinicznej Instytutu Kardiologii w Warszawie**

PRODUKTY PEROKSYDACJI LIPIDÓW I WITAMINA E U UZALEŻNIONYCH OD ALKOHOLU

1. Wstęp

Znaczenie stresu oksydacyjnego i peroksydacji lipidów w szkodliwym działaniu alkoholu było podkreślane wielokrotnie, jakkolwiek mechanizm w jaki alkohol wywołuje te zjawiska nie został jeszcze całkowicie wyjaśniony [2], [6]. Stwierdzono, że spożywanie alkoholu związane jest ze zwiększoną produkcją reaktywnych rodników tlenowych. Może to powodować m.in. utlenienie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych stanowiących część składową różnych lipidów. Na szkody narażone są najbardziej wątroba i układ nerwowy. Peroksydacji lipidów przypisuje się istotną rolę w powstawaniu poalkoholowego uszkodzenia wątroby [11], [7].

Powszechnie stosowaną metodą pomiaru peroksydacji lipidów jest oznaczanie związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym określanych nazwą TBARS, które stanowią niskocząsteczkowe produkty rozkładu wyżej wspomnianych kwasów tłuszczowych powstałe w końcowych stadiach kaskady peroksydacji. U uzależnionych od alkoholu w stanie intoksykacji obserwowano również wzrost ilości związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym w osoczu. Stężenie ich spadało po okresie abstynencji [10], [14].

Wiele tkanek i płynów ustrojowych zawiera czynniki antyoksydacyjne, które w znacznym stopniu hamują proces utleniania lipidów. Należą do nich określone układy enzymatyczne jak również antyoksydanty niskocząsteczkowe - jednym z nich jest witamina E (α -tokoferol). W wątrobie i w

mózgu stwierdzano po podawaniu alkoholu zmniejszenie procesów obrony antyoksydacyjnej [7].

W tej pracy próbowano ocenić czy istnieje bezpośredni związek między obecnością produktów peroksydacji lipidów (TBARS) w osoczu i poziomem α -tokoferolu, który jest głównym czynnikiem antyoksydacyjnym osocza.

2. Materiał i metody

Badania wykonano u 16 osób uzależnionych od alkoholu przyjmowanych na leczenie nie później niż 1 dzień po przerwaniu okresu intensywnego picia, u 10 uzależnionych od alkoholu nie pijących co najmniej od miesiąca i u 9 osób pijących alkohol tylko okolicznościowo (w ilości nie przekraczającej 150 g czystego alkoholu na tydzień), które stanowiły grupę kontrolną. W celu zahamowania możliwej peroksydacji lipidów już po pobraniu krwi materiał pobierano do próbek zawierających EDTA (końcowe stężenie 1mg/ml).

Związki reagujące z kwasem tiobarbiturowym oznaczano metodą Yagi [16]. Wyniki wyrażano w nanomolach MDA (aldehyd dwumalonowy) na ml i na mg cholesterolu całkowitego.

Stężenie α -tokoferolu oznaczano przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) według Patela i i.[9] w modyfikacji własnej [12]. Wyniki wyrażano w nanomolach α -tokoferolu w ml osocza oraz na mg cholesterolu całkowitego.

Cholesterol oznaczano stosując zestawy enzymatyczne firmy Boehringer.

Do porównania grup stosowano test t-Studenta, a do obliczania korelacji test r-Pearsona.

3. Wyniki

Średnie wartości TBARS osocza były w istotnym stopniu podwyższone w grupie intoksykowanych w porównaniu z dwiema pozostałymi grupami (tabela 1).

Poziom α -tokoferolu w osoczu był trochę niższy u uzależnionych od alkoholu niż w grupie kontrolnej jednak nie wykazano statystycznie istotnych różnic (tabela 2).

Nie stwierdzono korelacji między ilością TBARS i poziomem α -tokoferolu w żadnej z badanych grup.

Dyskusja

U uzależnionych od alkoholu opisywano niski poziom czynników antyoksydacyjnych w osoczu [5]. Niski poziom α -tokoferolu stwierdzano często u tych pacjentów, u których występowały objawy ze strony układu nerwowego [1].

Wykazano, że peroksydację lipidów w preparatach lipoprotein poprzedzał spadek w nich zawartości α -tokoferolu [4] jednak obserwowane przez nas podwyższenie ilości TBARS w osoczu intoksykowanych osób nie wykazywało związku z obniżeniem poziomu witaminy E.

Możliwy jest wpływ innych czynników obrony antyoksydacyjnej jak np. β -karoten. Suzukawa wykazał, że po 4 tygodniach umiarkowanego spożywania alkoholu zawartość tego antyoksydanta w osoczu obniżała się w istotny sposób podczas gdy poziom α -tokoferolu nie wykazywał różnic. Ostatnio pojawiło się kilka doniesień na temat antyoksydacyjnych właściwości HDL [3], [8]. U uzależnionych od alkoholu obserwuje się w stanie intoksykacji w przeważającej ilości przypadków podwyższony poziom HDL [15], istnieje więc możliwość, że odgrywają one również jakąś rolę w obronie antyoksydacyjnej.

W leczeniu objawów wynikających z nadużywania alkoholu proponuje się podawanie środków antyoksydacyjnych [7]. Uzyskane przez nas wyniki są zgodne z takim poglądem.

Podsumowanie

Znaczenie stresu oksydacyjnego i peroksydacji lipidów w toksycznym działaniu alkoholu było wielokrotnie podkreślane. Stwierdzono, że podawanie alkoholu zwiększa wytwarzanie wolnych rodników i zmniejsza potencjał antyoksydacyjny w tkankach.

W osoczu intoksykowanych osób wykazano również podwyższony poziom substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS), które są końcowymi produktami peroksydacji lipidów.

W tej pracy próbowano ocenić czy istnieje związek między obecnością tych produktów a poziomem głównego antyoksydanta osocza α -tokoferolu (witaminy E).

Badania wykonano u 16 uzależnionych od alkoholu nie później niż jeden dzień po przerwaniu okresu intensywnego picia, u 10 uzależnionych od alkoholu, którzy nie pili co najmniej przez jeden miesiąc i u 9 osób nieuzależnionych od alkoholu, pijących tylko okolicznościowo, którzy stanowili grupę kontrolną.

TBARS oznaczano metodą Yagi, α -tokoferol przy zastosowaniu wysoko-sprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) i cholesterol przy użyciu enzymatycznych testów firmy Boehringer.

Średnie wartości TBARS były w istotnym stopniu podwyższone w grupie intoksykowanych osób w porównaniu z dwiema pozostałymi. Poziom α -tokoferolu nie wykazał istotnych różnic między grupami. Nie stwierdzono korelacji między poziomem TBARS i α -tokoferolu.

Przedyskutowano możliwość udziału innych czynników antyoksydacyjnych.

Tabela 1

Poziom w osoczu związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) średnia arytmetyczna σ i zakres wartości

	nmole/ml	nmole/cholesterolu
Uzależnieni od alkoholu po okresie picia n = 16	5,75 1,77 3,3-9,1 * p < 0,01 ** p < 0,05	3,12 0,95 2,1-4,6 * p < 0,02 ** p < 0,05
Uzależnieni od alkoholu po co najmniej 1 mies. abstynencji n = 10	4,11 1,49 2,6-6,77 * nieist.	2,23 0,96 1,1-2,7 * nieist.
Grupa kontrolna n = 9	3,64 1,39 1,8-6,3	2,02 1,13 1,1-4,3

*istotność statystyczna w stosunku do grupy kontrolnej

**istotność statystyczna w stosunku do grupy abstynentów

Tabela 2

Poziom α -tokoferolu w osoczu średnia arytmetyczna σ

	nmole/ml	nmole/mg cholesterolu
Uzależnieni od alkoholu po okresie picia n = 16	22,76 6,29	12,53 4,13
Uzależnieni od alkoholu po co najmniej 1 mies. abstynencji n = 10	23,90 3,64	13,43 4,01
Grupa kontrolna n = 9	29,10 15,15	12,92 1,37

Lipid peroxidation products and α -tocopherol in alcohol dependent patients

Summary

The role of oxidative stress and of lipid peroxidation in alcohol toxicity was repeatedly emphasized. It was shown that alcohol administration enhanced hepatic generation of oxygen derived species and decreased antioxidant systems in this tissue which resulted in enhanced lipid peroxidation.

Final products of lipid peroxidation - thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were shown to be elevated also in the plasma of recently drinking persons.

In this study an attempt to evaluate the relationship between the presence of these products and the main plasma antioxidant namely α -tocopherol (vitamin E) was undertaken.

The subjects consisted of 16 alcohol dependent patients examined non later than one day after a heavy drinking period, of 10 alcohol dependent individuals abstinent for at least one month and of 9 non alcohol dependent moderately drinking persons as controls.

TBARS were determined by Yagi method, α -tocopherol by high performance liquid chromatography (HPLC) and cholesterol by Boehringer enzymatic tests.

The results showed that TBARS were significantly elevated in the group of intoxicated patients as compared with both other groups. The differences in α -tocopherol levels between the groups were nonsignificant. No correlation was stated between TBARS and α -tocopherol plasma levels.

The possibility of a contribution of other antioxidant factors is discussed.

Key words: alcoholism, thiobarbituric acid reacting substances (TRABS).

Piśmiennictwo

1. Bjerneboe G-E.Aa., Johnsen J., Bjerneboe A., Marklund S. L., Skylv N., Hoiseth A., Bache-Wiig J-E., Morland J., Drevon C. A.: „Some aspects of antioxidant status in blood from alcoholics”. *Alcoholism: Clin. Exp. Res.* 1988, 12, 806-810.

2. Cederbaum A.A.: „Introduction: Role of lipid peroxidation and oxidative stress in alcohol toxicity” *Free Rad. Biol. Med.* 1989, 7, 537-539.

3. Chander R., Kapoor N. K.: „High density lipoprotein as a scavenger of superoxide anions” *Biochem. Pharmacol.* 1990, 40, 1663-1665.

4. Esterbauer H., Dieber-Rothenegder M., Waeg G., Striegl G., Juergens G.: „Biochemical, structural and functional properties of oxidized low-density lipoprotein” *Chem. Res. Toxicol.* 1990, 3, 77-92.

5. Girre C., Hispard E., Therond P., Guedj S., Bourdon R., Dally S.: „Effect of abstinence from alcohol on the depression of glutathione peroxidase activity and selenium and vitamin E levels in chronic alcoholic patients” *Alcoholism. Clin. Exp. Res.* 1990, 14, 909-912.

6. Hunt W.A.: „Role of free radical reactions in ethanol-induced brain damage: an introduction” in: *Alcohol induced brain damage: Res. Monograph - 22 National Institutes of Health* 1993 p. 327-338.

7. Nordmann R.: „Alcohol and antioxidant system” *Alc. Alcoholism* 1994, 29, 513-522.

8. Parthasarathy S., Barnett J., Fong L. G.: „High-density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein” *Biochim. Biophys. Acta* 1990, 1044, 275-283.

9. Patel H. R., Ashmore S. P., Barrow L., Tanner M. S.: „Improved high performance liquid chromatography technique for the determination of hepatic α -tocopherol” *J. Chromatogr.* 1989, 495, 269-274.

10. Rosnowska M., Langer D., Cendrowski W.: „Serum lipid peroxides in alcoholics” *Regional Symp. „Alcoholism and Other Dependencies”* Nov 1987 Warsaw Abstr 125.

11. Shaw S., Jayatilleke E., Lieber C. S.: „Lipid peroxidation as a mechanism of alcoholic liver injury: role of iron mobilization and microsomal induction” *Alcohol* 1988, 5, 135-140.

12. Stajniak A., Bednarska M., Kunicki P.: w przygotowaniu

13. Suzukawa M., Ishikawa T., Yoshida H., Hosoai K., Nishio E., Yamashita T., Nakamura H., Hashizume N., Suzuki K.: „Effects of alcohol consumption on antioxidant content and susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification” *J. Am. Coll. Nutr.* 1994, 13, 237-242.

14. Szacka E., Czartoryska B., Habrat B., Rodo M., Woronowicz B., Wehr H.: „Lipidy, apolipoproteiny i enzymy lizosomalne surowicy krwi jako wskaźniki nadużywania alkoholu” w przygotowaniu.

15. Wehr H., Naruszewicz M., Nowicka G., Woronowicz B., Mrozek S., Rosnowska M.: „Triglyceride level and changes in high density lipoproteins in intoxicated alcoholic patients” *Żyw. Człow. Metab.* 1983, 1, 69-74.

16. Yagi K.: „A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma” *Biochem. Med.* 1976, 15, 212-216.