

М. Я. Головенко, акад. АМН України, І. Ю. Борисюк, к.б.н.,
О. Б. Ліхота, В. Б. Ларіонов, к.б.н.

БАГАТОВЕКТОРНІСТЬ МЕХАНІЗМІВ ПЕРЕНОСУ АЦЕТАЛЬДЕГІДУ В ШЛУНКОВО- КИШКОВОМУ ТРАКТІ

Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, м. Одеса

Деякі токсичні і фармакологічні ефекти етилового спирту обумовлені структурою та фізико-хімічними властивостями його метаболітів, і перш за все, ацетальдегідом [1]. До них відносять [2, 3] токсичну дію сполуки, яка реалізується на різних рівнях: поведінковому (аверсія), фізіологічному (абстинетний синдром), біохімічному (кумуляція, активація перекисного окислення ліпідів, ферментативне утворення аддуктів з амінокислотами, білками, катехоламінами), морфологічному (хроматоліз базofilної речовини, дистрофічна зміна клітин глії та ін.).

Метаболізм етанолу в організмі експериментальних тварин і людини відбувається в основному в печінці [4]. На першому етапі він перетворюється в ацетальдегід і в нормальних умовах ця реакція каталізується трьома різними ферментами [5]: 1) алкогольдегідрогеназою, 2) мікросомною етанол-окислюючою системою (МЕОС), 3) каталазою. На другому етапі ацетальдегід окислюється до оцтової кислоти НАД-залежною альдегіддегідрогеназою.

При низьких концентраціях швидкість окислення етилового спирту відповідає кінетиці нульового порядку, тобто не залежить від часу і концентрації речовини [6]. Збільшення доз сприяє виникненню "ефекту первинного проходження" [7]. Це можливо для речовин, що метаболізують в печінці, і його оцінюють за допомогою порівняння АУС в крові при внутрішньовенному та пероральному введенні в еквівалентних дозах [8].

В літературі [9] є дані про те, що окислення етанолу може відбувати-

ся і в шлунково-кишковому тракті (ШКТ) і по активності алкогольдегідрогенази окремі його ділянки розміщуються в такій послідовності: пряма кишка > шлунок > товста кишка > тонка кишка.

Для етанолу та ацетальдегіду відмічено два шляхи їх транспорту в ШКТ: 1) проникнення (всмоктування, абсорбція) з порожнини кишечника і шлунку в кров (парацелюлярний шлях); 2) транспорт (транзит) вздовж ШКТ (шлунок — пряма кишка).

Враховуючи той факт, що в обох випадках основу процесу складає фізичний механізм (проста дифузія) можна припустити, що в деяких випадках має місце і третій шлях транспорту ацетальдегіду в ШКТ — оборотна абсорбція (реабсорбція). Теоретично таке явище може мати місце у тому випадку, коли концентрація ацетальдегіду в плазмі крові буде перевищувати таку у відповідних ділянках ШКТ, наприклад, в умовах патології та зменшення здатності організмів до елімінації. В цьому плані необхідно було довести можливість реабсорбції ацетальдегіду в ШКТ білих мишей в результаті змін концентрацій речовини в системі ШКТ-кров. Наявність такого явища дає змогу відповісти на деякі незрозумілі властивості етанолу відносно його токсичної дії, що обумовлена метаболітами та появою додаткових піків концентрації у крові.

Матеріали та методи дослідження
 ^{14}C -ацетальдегід (1,47 Кю/моль, 54,4 ГБк/моль) отримували окисленням ^{14}C -етанолу. Для цього до 10 см³ ^{14}C -етанолу додавали по краплям розчин 25 г $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ і 22 см³ H_2SO_4 в 90 см³ H_2O , а ацетальдегід,

що утворювався, відводили з током вуглекислого газу через зворотній холодильник (для виділення залишків етанолу і оцтової кислоти) в приймач, який охолоджується сумішшю льоду з сіллю. Отриманий сирий продукт переганяли на водяній бані, відбираючи фракцію з температурою кипіння 19–24 °С, додавали трьохкратний об'єм нерадіоактивного ацетальдегіду та після перемішування відбирали відповідний об'єм (0,2 – 0,4 см³) для визначення загальної радіоактивності методом рідинної сцинтиляційної фотометрії. Отриману сполуку вводили мишам (маса тіла 22–24 г) внутрішньовенно (10 ммоль/кг) та інтрагастрально (10, 20 і 40 ммоль/кг) в розчині 0,9 % NaCl за проміжки часу 0,083; 0,25; 0,5; 1; 2; 4 та 6 год до відбору біологічного матеріалу (плазма крові, ділянки ШКТ). Тварин утримували в умовах вільного доступу до води з попередньою добовою депривацією їжі. Для відбору біологічного матеріалу тварин наркотизували і декапітували, збираючи кров в гепаринізовані центрифужні пробірки. Визначення вмісту радіоактивного матеріалу в плазмі крові (4 тис. об./хв, 15 хв) проводили, відбираючи аліквоту (0,2 см³) в сцинтиляційні флакони, додаючи 0,5 – 1 см³ Тритону X-100, 10 см³ толуольно-спиртового сцинтилятора. Вміст радіоактивного матеріалу в відділах ШКТ (шлунок, тонка, товста і пряма кишки) проводили після попереднього розчинення в 1 см³ мурашиної кислоти на водяній бані (об'єм відібраної аліквоти 0,2 см³). Кількість радіоактивного матеріалу в пробах визначали на рідинному сцинтиляційному фотометрі Canberra PACKARD TRI CARB 2700. Отримані дані оброблено за допомогою статистичного пакету програм MS Excel.

Тварин утримували у відповідності з "Правилами проведення робіт з використанням експериментальних тварин".

Результати та їх обговорення

Отримані результати (рис. 1) демонструють високу швидкість надходження ^{14}C -ацетальдегіду в плазму крові при внутрішньовенному введенні і його максимальна концентрація реєструється в інтервалі 15–30 хв. Крім того відмічено дозозалежне надходження сполуки, тоб-

то при введенні 40 ммоль/кг та 20 ммоль/кг ^{14}C -ацетальдегіду концентрація в плазмі крові практично у всьому часовому інтервалі дослідження перевищує концентрацію при введенні 10 ммоль/кг в 4 і 2 рази, відповідно. Потім спостерігається деяке зниження концентрації ^{14}C -ацетальдегіду та вихід на стаціонарний рівень (2 – 6 год). Аналогічні дані були отримані іншими авторами [10], які досліджували надходження ацетальдегіду в кров собак при введенні 600 мг/кг сполуки. Відмічено високий процент всмоктування, однак швидкість і ступінь цього процесу не встановлена.

Значна розчинність ацетальдегіду в воді і наявність активних ферментних систем визначають достатньо високу швидкість його

розподілу в організмі і елімінації (рис. 1, 2). Параметри α -фази при внутрішньовенному та інтрагастральному шляхах введення достатньо високі ($2,6 \pm 0,4$ для внутрішньовенного введення), що обумовлює швидкий його розподіл між центральним і периферичним відсіками кінетичної схеми. Відсутність статистичних різниць даного показника при інтрагастральному введенні доз ацетальдегіду, які збільшуються ($1,63 \pm 0,23$ при 10 мМоль/кг, $1,15 \pm 0,17$ при 20 мМоль/кг, $1,10 \pm 0,29$ при 40 мМоль/кг) дозволяє припустити відсутність впливу дози на процес його всмоктування з ШКТ та подальший розподіл в організмі. Для ацетальдегіду, на відміну від етанолу, характерно менше значення параметру α -фази (для етанолу $\alpha = 2,8 \pm$

$0,18$), що приводить до більшої величини часу полурозподілу ($t_{\alpha 1/2}$ для ацетальдегіду $0,60 \pm 0,09$ год, а для етанолу $0,24 \pm 0,02$ год при інтрагастральному введенні в дозі 20 мМоль/кг [11]).

Величини міжкамерного обміну (переносу з центральної камери в периферичну ($k_{12} = 3,554 \pm 2,178 \text{ год}^{-1}$) та зворотно ($k_{21} = 0,533 \pm 0,189 \text{ год}^{-1}$) також свідчать про високу швидкість обміну ацетальдегіду в організмі та його елімінацію (k_{13} складає $0,204 \pm 0,088 \text{ год}^{-1}$ для внутрішньовенного введення). Зазначене, можливо, обумовлює і невисоку величину кінетичного об'єму розподілу ($102 \pm 33 \text{ см}^3/\text{кг}$ при внутрішньовенному та $346 \pm 66 \text{ см}^3/\text{кг}$ при інтрагастральному введенні ацетальдегіду в дозі 10 мМоль/кг, тоді як при інтрагастральному введенні етанолу вона складає $780 \pm 102 \text{ см}^3/\text{кг}$ [5]). Разом з тим, деяке збільшення загального кліренсу ацетальдегіду при його інтрагастральному введенні є наслідком більш швидкої елімінації в печінці, де, згідно [6], окислюється від 60% до 90% сполуки завдяки ефекту первинного проходження. При збільшенні дози, яку вводять інтрагастрально (10; 20; 40 мМоль/кг) спостерігається збільшення площі під фармакокінетичною кривою ($15,4 \pm 2,0$; 65 ± 11 і $120 \pm 44 \text{ мкМоль}/\text{см}^3\text{год}$, відповідно), але біодоступність ^{14}C -ацетальдегіду в дозі 10 мМоль/кг ($34 \pm 0,1$) практично в 2 рази нижча, ніж в більш високих дозах ($71 \pm 2,2$ при 20 мМоль/кг і $10 \pm 0,2$ при 40 мМоль/кг). Не виключена можливість, що зазначене є наслідком насиченості альдегіддегідрогеназ, що і забезпечує лінійність процесів масопереносу, які мають місце при введенні ацетальдегіду в дозах 20–40 мМоль/кг. На відміну цьому, біодоступність етанолу складає $0,7 \pm 0,13$ [11] і є наслідком як повільного (по відношенню з реакційноздатним ацетальдегідом) метаболізму, так і більш високим значенням ліпофільності, внаслідок чого він легше дифундує крізь клітинні мембрани.

Насиченість альдегіддегідрогеназ (лінійне збільшення швидкості метаболізму сполуки в плазмі крові в концентрації 10 мкМ [9]), можливо, є наслідком зменшення середнього часу утримання (MRT) радіоактивних продуктів в цій тканині.

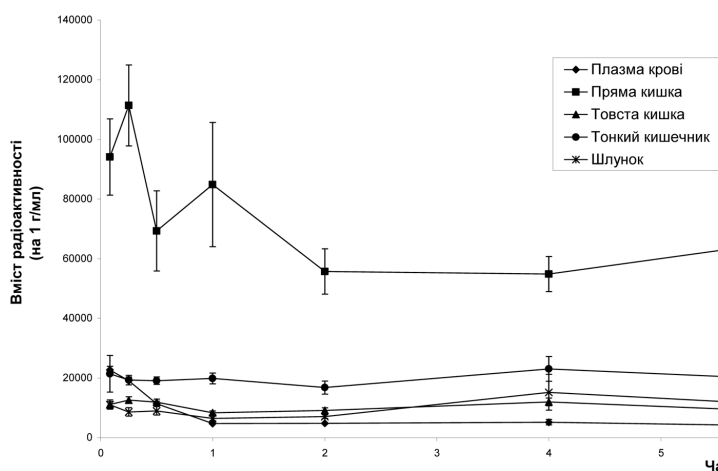


Рис. 1. Загальна радіоактивність (з розрахунку на 1 г для відділів кишечника та 1 мл для плазми крові) при внутрішньовенному введенні ^{14}C -ацетальдегіду в розчині 0,9% NaCl в дозі 10 ммоль/кг

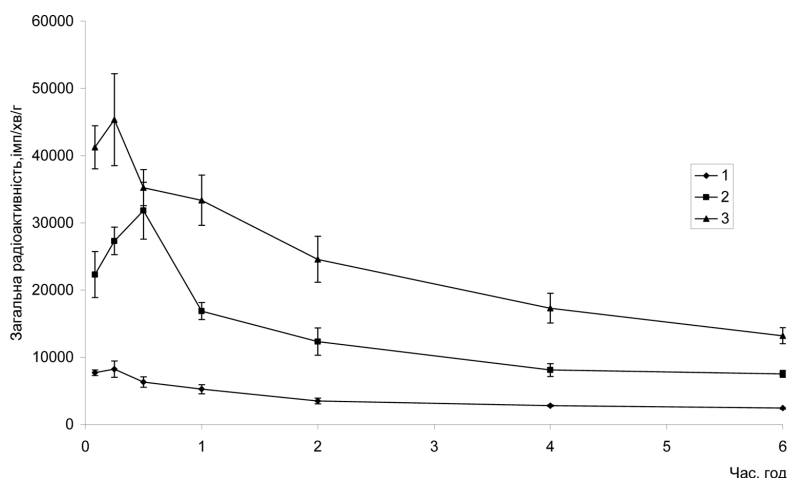


Рис. 2. Вміст загального радіоактивного матеріалу в плазмі крові при інтрагастральному введенні ^{14}C -ацетальдегіду в розчині 0,9% NaCl в дозах: 10 (1), 20 (2) та 40 (3) ммоль/кг

Оскільки ацетальдегід швидко метаболізує до оцтової кислоти [12], це призводить до більш довгої циркуляції продуктів його метаболізму в організмі і, як наслідок, до зменшення константи елімінації в організмі, тоді як при введенні в більших дозах (40 ммоль/кг) в умовах насиченості ферментів ацетальдегід швидше виводиться з організму.

і спостерігається всмоктування, також відмічено дозозалежне надходження. Стаціонарний рівень концентрації ^{14}C -ацетальдегіду в тонкій кишці при всіх дозах, що вводили, свідчить про постійну швидкість його надходження в цей відділ кишечника. Для товстого кишечника спостерігається однакова картина виведення ацетальдегіду та його мета-

товірних відмінностей для шлунку при введенні 10 ммоль/кг і 20 ммоль/кг не виявлено, в той час як при введенні 40 ммоль/кг ^{14}C -ацетальдегіду концентрація достовірно вища. У відділі тонкого кишечника, де в основному і відбувається всмоктування, також відмічені достовірні відмінності в концентрації препарату, що пояснюється різними дозами, які вводили тваринам. Достовірних різниць у відділах товстого кишечника і прямій кишці при введенні 10 ммоль/кг і 20 ммоль/кг ^{14}C -ацетальдегіду не виявлено, що дозволяє припустити про аналогічні швидкості виведення продуктів його метаболізму. Концентрація метаболітів ацетальдегіду при введенні 40 ммоль/кг в 4–5 раз достовірно вища.

Що стосується накопичення ацетальдегіду в порожнині товстої кишки, то як і у випадку етанолу, воно відбувається внаслідок кишкової мікробної ферментації [13, 14], що збільшує ризик захворювання раком ШКТ [15]. Його рівень різко збільшується при прийомі алкоголю [16, 17], крім того, велика кількість фармакологічних агентів може ще більш значно збільшити рівень ацетальдегіду в товстій кишці [17]. Різні механізми можуть приймати участь в ацетальдегід-індукованих пошкодженнях слизової оболонки і збільшувати ризик канцерогенезу. Один з таких механізмів може привести до втрати адгезії клітина-клітина.

Метаболізм ацетальдегіду в організмі, а також розподіл його і метаболітів в окремих відділах кишечника може приводити до перевищення концентрацій в циркулюючій крові по відношенню до вмісту в ШКТ. Виходячи з того, що низькомолекулярні добре розчинні у воді сполуки, до яких відноситься і ацетальдегід, проникають із ШКТ у кров простою дифузиею (закону Фіка), наявність високої концентрації в одному відсіку (плазма крові) призводить до її появи і вирівнювання в іншому відсіку (ШКТ). С метою перевірки нашої гіпотези ми розробили модель, в якій створили високі концентрації ацетальдегіду в крові і відсутність в ШКТ (інфузійне введення).

При внутрішньовенному введенні ^{14}C -ацетальдегіду його концентрація стрімко падає в плазмі крові (впродовж 1 год) та виходить

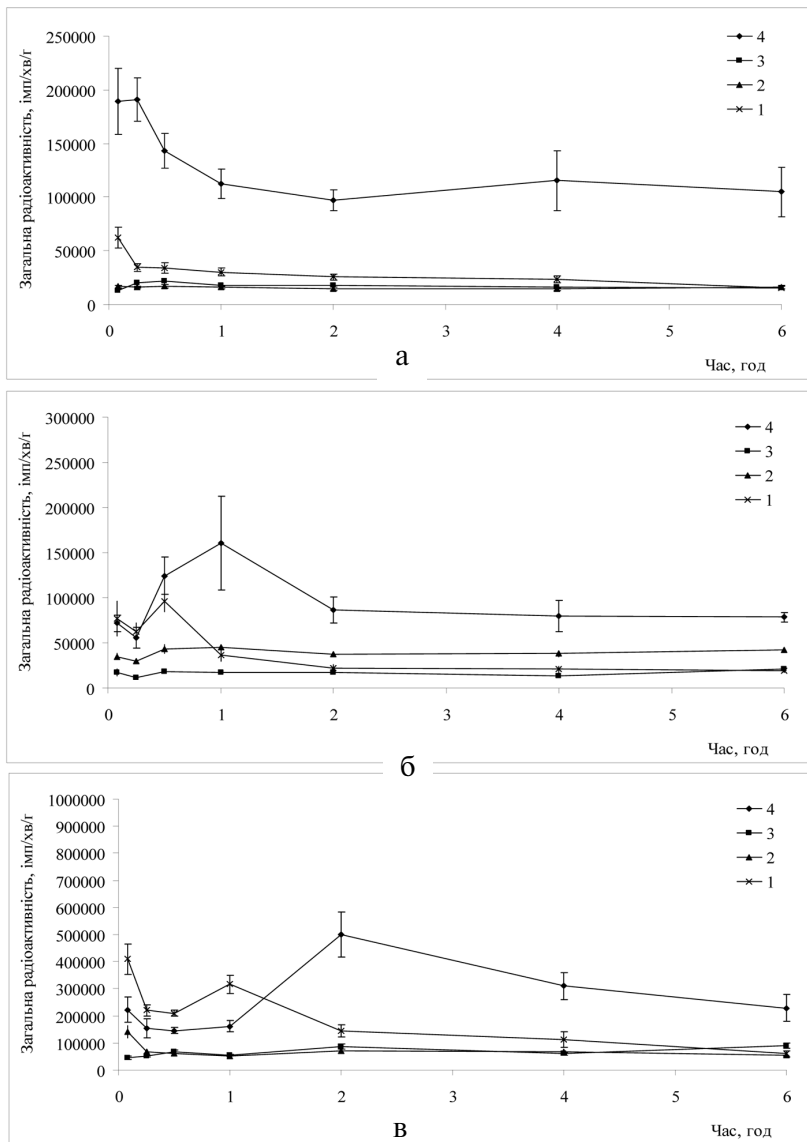


Рис. 3. Загальна радіоактивність при інтрагастральному введенні ^{14}C -ацетальдегіду в розчині 0,9% NaCl в дозах: 10 (а), 20 (б), 40 (в) ммоль/кг. 1 - шлунок, 2 - тонка кишка, 3 - товста кишка, 4 - пряма кишка

Надходження ацетальдегіду в кров після інтрагастрального введення супроводжується його транспортом (транзитом) вздовж ШКТ (рис. 3). Так, у шлунку високі концентрації ^{14}C -ацетальдегіду відмічені через 5 хв досліді, з часом концентрація падає і виходить на деякий стаціонарний рівень. Для шлунку і тонкого кишечника, де в основному

болітів при введенні 10 ммоль/кг і 20 ммоль/кг, а при введенні 40 ммоль/кг відмічається збільшення концентрації продуктів, що виводяться. В прямій кишці наявні найвищі концентрації радіоактивного матеріалу (метаболітів ацетальдегіду) в порівнянні з іншими відділами кишечника. Необхідно відмітити, що статистично дос-

на деякий стаціонарний рівень. Найвища концентрація в прямій кишці впродовж всього часу досліджу свідчить про те, що сполука з крові частково елімінує (рис. 1).

По вмісту ацетальдегіду в різних відділах ШКТ при його внутрішньовенному введенні їх можна розташувати таким чином: тонкий кишечник > шлунок > товста кишка > пряма кишка. В той же час, при інтрагастральному введенні цей показник (в еквіваленті 10 ммоль/кг) складає наступний ряд: шлунок > товста кишка > пряма кишка > тонкий кишечник. У першому випадку можна прогнозувати наявність процесу реабсорбції (кров → ШКТ). Однак, викликає непорозуміння наявність сполуки у шлунку, що свідчить про можливість цього процесу в ньому. Не виключено, що при внутрішньовенному введенні ¹⁴C-ацетальдегіду радіоактивність у шлунку обумовлена наявністю сполуки в його кровоносних судинах. В той же час, співставлення концентрації сполуки в плазмі крові і шлунку у визначені відрізки часу досліджу спростовують таке припущення. Накопичення ацетальдегіду у тонкій кишці та шлунку, у цьому випадку, свідчить про те, що як і у випадку етилового спирту "вікном всмоктування" для нього є перераховані відділи ШКТ.

Отже, при наявності концентрацій в крові ацетальдегіду, що перевищують цей показник в ШКТ (внутрішньовенне введення) мож-

лива його реабсорбція. Не виключена можливість, що значний вміст ацетальдегіду в кишечнику мишей є наслідком його проникнення у жовчний міхур, тобто сполука приймає участь в "кишково-печінковій" циркуляції [18], що потребує подальшого вивчення.

В умовах перорального введення ацетальдегіду характер розподілу радіоактивного матеріалу є наслідком типового транзиту сполуки вздовж ШКТ, що обумовлена його фізіологією (перистальтикою, кровотоком).

Зазначимо, що процес реабсорбції ацетальдегіду залежить від багатьох факторів ступінь зв'язування з білками сироватки крові, об'єм розподілу, ліпофільність, рKa, молекулярний розмір молекули та інтенсивність потоку крові в каналі травлення.

В процесі транспорту ацетальдегіду найбільш суттєвим фактором є ступінь зв'язування з протеїнами сироватки крові, оскільки незв'язані, вільні молекули здатні проникати через стінки капілярів ШКТ. Завдяки високій реакційній здатності карбонільної групи, ацетальдегід практично не існує в біологічних середовищах у вільному вигляді. Його здатність до прямої неферментативної взаємодії поширюється перш за все на білки і визначається можливістю вступати в ковалентну взаємодію з їх аміно- і сульфгідрильними групами [19]. При цьому виникають відносно нестійкі

зв'язки, які через недовгий проміжок часу стають незворотними. Так, близько 20% ацетальдегіду, що потрапляє з печінки в кров, зв'язується з білками плазми і, крім того, не менш 15% циркулюючого ацетальдегіду зв'язано с гемоглобіном [20, 21]. Отже, ступінь його повторного всмоктування буде значно нижчою.

Таким чином, ацетальдегід достатньо швидко надходить у плазму крові при інтрагастральному введенні, крім того відмічено дозозалежне надходження. В основній області всмоктування (тонкій кишці) відмічені достовірні відмінності в концентрації препарату при введенні різних доз (10, 20 і 40 мМоль/кг), але однакова швидкість виведення продуктів його метаболізму.

Розроблена модель демонструє наявність надходження ацетальдегіду з крові в порожнину шлунку, однак ми приводимо доказ того, що внаслідок зв'язування з білками плазми крові і гемоглобіном ступінь його повторного надходження буде значно нижчим. Тим не менш, цю величину можна збільшити підвищенням доз ацетальдегіду, що вводиться з метою насичення протеїнів сироватки крові, які його зв'язують.

При створенні фармакокінетичних моделей і особливо фізіологічних необхідно враховувати можливість реабсорбції ксенобіотиків при їх пероральному введенні, що потребує визначення допоміжних параметрів в системі ШКТ — кров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wilkinson P. K. Pharmacokinetics of ethanol: a review // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* — 1980. — V. 4, № 1. — P. 6-21.
2. Brien J. F., Loomis C. W. Pharmacology of acetaldehyde // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* — 1983. — V. 61. — P. 1-22.
3. Charles S., Lieber M. D. Alcohol and the liver. Metabolism of alcohol and its role in hepatic and extrahepatic diseases // *The mount Sinai Journals of medicine.* — 2000. — V. 67, № 1. — P. 84-94.
4. Umulis D., Giirmen N., Singh P. A physiology based model for ethanol and acetaldehyde metabolism in human beings // *Alcohol.* — 2005. — V. 35. — P. 3-12.
5. Riveros-Rosas H., Julian-Sanches A., Pina E. Enzymology of ethanol and acetaldehyde metabolism in mammals // *Arch. Med. Res.* — 1997. — V. 28. — P. 453-471.
6. Levit D. PKQuest: measurement of intestinal absorption and first pass metabolism -application to human ethanol pharmacokinetics // *BMC Clinical Pharmacology.* — 2002. — V. 2, № 4. — P. 40-62.
7. Kwan K. C. Oral bioavailability and first-pass effects // *Drug metabol. Disposit.* — 1997. — V. 25, № 12.-P. 1329-1336.
8. Wagner J. G., Wilkinson P., Ganes D. Parameters Vm and Km for elimination of alcohol in young male subjects // *Alcohol and Alcoholism.* — 1989. — V. 24. — P. 555-564.
9. Pronko P., Bardina L., Satanovskaya V. et al. Effect of chronic alcohol consumption on the ethanol — and acetaldehyde — metabolizing systems in the rat gastrointestinal tract // *Alcohol and alcoholism.* — 2002. — V. 37, № 2. — P. 229-235.
10. Booze T. F., Oehme F. W. An investigation of metaldehyde and acetaldehyde toxicities in dogs // *Fundam. Appl. Toxicol.* — 1986. — V. 6, № 3. — P. 440-446.
11. Головенко М. Я., Борисюк І. Ю., Ларіонов В. Б., Ліхота О. Б. Особливості фармакокінетики етанолу в організмі білих мишей // *Мед. хімія.* — 2007. — № 2. — С. 60-63.
12. Stowell A. R., Crow K. E., Greenway R. M., Batt R. D. Determination of acetaldehyde in blood using automated distillation and fluorometry // *Anal. Biochem.* — 1978. — V. 84, № 2. — P. 384-392.
13. Salaspuro M. Bacteriocolonic pathway for ethanol oxidation: characteristics and implications // *Ann. Med.* — 1996. — V. 28. — P. 195-200.
14. Salaspuro M. Acetaldehyde, microbes, and cancer of the digestive tract // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* — 2003. — V. 40. — P. 183-208.

15. Poschl G., Seitz H. K. Alcohol and Cancer. *Alcohol*. — 2004. — V. 39. — P. 155-165.
16. Rao R. K., Seth A., Slicht P. Intestinal permeability and endotoxemia in alcoholic liver disease // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* — 2004. — V. 286. — P. G881-G884.
17. Tillonen J., Vakevainen S., Salaspuro V. et al. Metronidazole increases intracolonic but not peripheral blood acetaldehyde in chronic ethanol-treated rats // *Alcohol Clin. Exp. Res.* — 2000. — V. 24. — P. 570-575.
18. Головенко Н. Я. Физико-химическая фармакология. — Одесса: Астропринт. — 2004. — 720 с.
19. Nicholls R., De Jersey J., Worrall S., Wice P. Modification of proteins and other biological molecules by acetaldehyde: adduct structure and functional significance // *Int. J. Biochem.* — 1992. — V. 24. — P. 1899-1906.
20. Gapstur S.M., de Master E.G., Potter J.D. et al. The formation of stable acetaldehyde-hemoglobin adducts in a red blood cell model // *Alcohol*. — 1992. — V. 9, № 6. — P. 563-569.
21. Worrall S., De Jersey J., Nicholls R., Wilce P.A. Acetaldehyde/protein interaction: are they involved in the pathogenesis of alcoholic liver disease? // *Dig. Dis.* — 1993. — V. 11. — P. 265-277.

*Н. Я. Головенко, И. Ю. Борисюк,
Е. Б. Лихота, В. Б. Ларионов*

**МНОГОВЕКТОРНОСТЬ МЕХАНИЗМОВ
ПЕРЕНОСА АЦЕТАЛЬДЕГИДА В ЖЕЛУДОЧНО-
КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ**

В статье установлено дозозависимое поступление (всасывание) ацетальдегида в плазму крови при интрагастральном введении и механизм его транспорта вдоль ЖКТ. При помощи разработанной модели показано наличие реабсорбции ацетальдегида из крови в полость желудка и другие отделы ЖКТ. Рассчитаны основные фармакокинетические параметры.

*N. Ya. Golovenko, I. Yu. Borisjuk,
E. B. Lihota, V. B. Larionov*

**MULTIVECTORIAL CHARACTER OF THE TRANS-
FER MECHANISMS OF ACETALDEHYDE IN GAS-
TROINTESTINAL TRACT**

Dose-dependent (absorption) of acetaldehyde into the blood plasma upon per oral administration and its transportation mechanism throughout gastrointestinal tract were shown. With help of designed model presence of reabsorption of acetaldehyde from the blood into the gastric cavity and other compartments of the gastrointestinal tract was shown. Basic pharmacokinetic parameters are estimated.