УДК. 612. 014.32

АКТИВНОСТЬ АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ПОКОЛЕНИЯХ КРЫС ПОСЛЕ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

Соловьева А.Г., Зимин Ю.В.
НИИ травматологии и ортопедии, Нижний Новгород
Подробная информация об авторах размещена на сайте
«Учёные России» - http://www.famous-scientists.ru

Изучены каталитические свойства неспецифической альдегиддегидрогеназы (КФ 1.2.1.3.), как основного молекулярного маркера альдегиддегидрогеназной системы биотрансформации, в поколениях крыс с термической травмой. Активность альдегиддегидрогеназы определяли по регистрации начальной скорости образования НАДН при дегидрогеназном окислении ацетальдегида в качестве субстрата. Показано уменьшение активности фермента через 6 месяцев после ожога. Отмечено снижение активности альдегиддегидрогеназы в I и II поколениях крыс с термической травмой.

Альдегиддегидрогеназы (АлДГ) (КФ 1.2.1.3.) – семейство ферментов, играющих важную роль в защите клеток от эндогенных и экзогенных альдегидов, которые в повышенных концентрациях оказывают отрицательное влияние на организм. Токсичные среднецепочечные альдегиды (алканали, алкенали, 4-гидроксиалкенали), малоновый диальдегид образуются в процессе перекисного окисления липидов, интенсивность которого возрастает при термической травме [7,8].

Тяжелая термическая травма сопровождается развитием интоксикации. В патогенезе ожоговой токсемии исключительно важным звеном является нарушение функций печени, поскольку печень является главным детоксицирующим органом. Известно, что сразу после термической травмы печень подвергается влиянию токсических веществ на фоне резко сниженной ее антитоксической функции [1]. В первую очередь подвергается действию токсических веществ, возникших в очаге поражения, кровь. Проведенные нами ранее исследования показали, что спустя час после термической травмы активность АлДГ печени и эритроцитов заметно снижается.

В свою очередь, A. Yoshida et al. (1998) отметили наличие генетических изменений фермента альдегиддегидрогеназы при ряде патологических состояний. W.H. Lewis, K.K. Sun (1990) были проведены исследования на сопоставление степени гипертрофии шрамов у пациентов с ранами от ожогов с дефицитом АлДГ2. Оказалось, что у людей с термотравмой аллель, ответственная за гипертрофию послеожогового шрама, - доминирующая.

Однако работы по изучению альдегиддегидрогеназы печени и эритроцитов при термической травме в отдаленные сроки после травмы в проанализированной литературе не обнаружены. Поэтому представляет интерес изучить влияние тяжелой термической травмы на изменения активности АлДГ. Особый интерес представляет изучение состояния АлДГ у потомства животных, перенесших тяжелую термическую травму.

Материал и методы исследования

Эксперименты были проведены на белых нелинейных крысах.

Под внутрибрюшинным наркозом крысам наносили контактный ожог IV степени на площади 30 см^2 на спине и в области бедер. В первые 7 суток после травмы внутрибрюшинно вводили по 10 мл физиологического раствора 2 раза в сутки в качестве противошоковой терапии. Через 5 недель раны зажили. Крысы попарно допущены к скрещиванию. В I поколении родилось 35 крыс без макроскопической патологии. После достижения животными половой зрелости продолжено скрещивание внутри популяции. Во II поколении родилось 38 крыс.

Все животные были поделены на следующие группы:

Контрольная группа – интактные животные без ожога;

I группа – животные через 6 месяцев после тяжелой термической травмы;

II группа – I поколение (в возрасте 6 месяцев) животных с тяжелой термической травмой;

III группа – II поколение (в возрасте 6 месяцев) животных с тяжелой термической травмой.

Исследовали активность АлДГ в печени и крови крыс без ожога, крыс с термической травмой спустя 6 месяцев после поражения и их потомства (животных I и II поколений, полученных от этих крыс с ожогом). Активность АлДГ определяли в гомогенате печени и эритроцитах. Для определений использовали гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде в соотношении 1:40. Приготовление гомогената печени осуществляли по Н.Д.Ещенко (1982) и Дж. Финдлей, У. Эванз (1990), определение активности альдегиддегидрогеназы (ацетальдегид: НАД-оксидоредуктазы, КФ 1.2.1.3.) по Б.М. Кершенгольц и Е.В. Серкиной (1981).

Результаты исследований обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента. Обработку данных осуществляли на персональном компьютере с помощью программы BIOSTAT. При рсчете t-критерия Стьюдента применяли поправку Бонферрони, позволяющую устранить ошибку первого рода, возникающую при сравнении более чем двух выборок данным методом [5].

Результаты и их обсуждение

Таблица 1. Активность альдегиддегидрогеназы в печени крыс с ожогом и их поколений

Показатель	Контрольная группа	I группа	II группа	III группа
Удельная акт-ть, нмоль НАДН/мин*мг белка	66,16+3,34 n=11	4,93+0,01* n=13	10,51+0,90* n=35	13,74+1,15 */**/*** n=38

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с контрольной группой; ** - достоверны по сравнению с I группой; *** - достоверны между II и III группами; n – количество животных

Таблица 2. Активность альдегиддегидрогеназы в эритроцитах крыс с ожогом и их поколений

Показатель	Контрольная группа	I группа	II группа	III группа
Удельная акт-ть, нмоль НАДН/мин*мг белка	15,36+1,46 n=17	0,26+0,04* n=13	1,56+0,16 */** n=29	0,93+0,13 */*** n=37

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с контрольной группой; ** - достоверны по сравнению с I группой; *** - достоверны между II и III группами; n – количество животных

Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что спустя полгода после ожога удельная активность АлДГ в печени подопытных животных ниже по сравнению с активностью альдегиддегидрогеназы в норме в 13,4 раза (табл. 1). Удельная активность фермента в эритроцитах через 6 месяцев после термической травмы также меньше активности АлДГ в контроле в 59 раз (табл. 2). Снижение активности альдегиддегидрогеназы является плохим прогностическим признаком, так как уменьшение активности фермента приводит к повышению содержания высокотоксичных альдегидов. Альдегиды в повышенных концентрациях нарушают структуру и функции плазматических и внутриклеточных мембран, выступают в качестве ингибиторов активности многих ферментов мембран и сыворотки крови, в результате прямого взаимодействия модифицируют белки крови и тканей, вызыва-

ют внутри- и межмолекулярные сшивки полипептидов [6].

Активность АлДГ в I и II поколениях ожоговых крыс выше по сравнению с активностью фермента у крыс, перенесших тяжелую термическую травму, но остается ниже нормы. Удельная активность АлДГ печени в I поколении достоверно ниже активности фермента здоровых крыс в 6,3 раза. Удельная активность альдегиддегидрогеназы печени во II поколении крыс достоверно выше активности фермента у животных, выживших после тяжелой термической травмы, в 2,8 раз и по сравнению с активностью АлДГ I поколения крыс в 1,3 раза, но остается достоверно ниже активности АлДГ здоровых крыс в 4,8 раза.

Таким образом, хотя активность альдегиддегидрогеназы печени увеличивается в последующих поколениях ожоговых крыс, но не достигает значений нормы. Термическая травма способствует уменьшению каталитической активности АлДГ не только у тех животных, которые получили ожог, но оказывает и долговременное влияние на исследуемый фермент, о чем можно судить по сниженной активности АлДГ через полгода после ожога, а также в I и II поколениях потомков.

Можно полагать, что термическая травма оказывает влияние на гены альдегиддегидрогеназы, в частности, на синтез белка, что проявляется в дефиците активности фермента в поколениях ожоговых крыс. В литературе отмечены нарушения метаболизма и выявлены клинические нарушения, связанные с мутациями генов АлДГ1, АлДГ2, АлДГ4, АлДГ10 [9]. Всего у людей идентифицированы 12 генов АлДГ. Эти гены, локализованные на различных хромосомах, кодируют группу ферментов, которые окисляют различные алифатические и ароматические альдегиды.

В свою очередь, нарушение каталитических свойств ферментов биотрансформации, в частности альдегиддегидрогеназы, приведет к нарушению обмена альдегидов, что отрицательно повлияет на метаболизм организма. Нами наблюдалось, что животные I и II поколений более слабые, менее выносливые, подвержены различным заболеваниям. Были отмечены уродства глаз, зубов у животных II поколения, полученных от скрещивания крыс с термической травмой.

Итак, можно предположить, что существует связь между нарушениями метаболизма и внешних проявлений организма после термической травмы с дефицитом АлДГ, т.к. уменьшение активности ферментов биотрансформации, в частности, альдегиддегидрогеназы способствует накоплению в организме высокотоксичных альдегидов.

Аналогично печени в эритроцитах удельная активность АлДГ крыс I поколения достоверно выше активности фермента при ожоге в 6 раз, но достоверно ниже нормы в 9,9 раз. Удельная активность АлДГ II поколения достоверно ниже активности АлДГ I поколения крыс и крыс здоровых соответственно в 1,7 и 16,5 раз.

Таким образом, в результате ожога снижается активность альдегиддегидрогеназы. Дефицит фермента отмечается не только сразу после ожога, но и спустя 6 месяцев после травмы, а также в I, и во II поколениях ожоговых крыс, что свидетельствует о приобретенной энзимопатии фермента биотрансформации альдегиддегидрогеназы после термической травмы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Федоров Н.А., Мовшев Б.Е., Недошивина Р.В., Корякина И.К. Ожоговая аутоинтоксикация. Пути иммунологического преодоления. – М.: Медицина, 1985. – 256с.

2. Ещенко Н.Д. // Методы биохимических исследований. – Ленинград: Издательство Ленинградского университета, 1982. – С. 29-33.

3. Финдлей Дж., Эванз У. Биологические мембраны. Методы: Пер. с англ. – М.: Мир, 1990. – 424с.

4. Кершенгольц Б.М., Серкина Е.В. // Лабораторное дело. 1981. №2.С.126.

5. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика. – 1999. – 459с.

6. Божко Г.Х. // Успехи физиологических наук. 1990. Т. 21. №3. С.98-114.

7. Reichard JF., Vasiliou V., Petersen DR. // Biochim Biophys Acta. 2000. V. 1487. №2-3. P. 222-232.

8. Townsend AJ., Leone-Kabler S., Haynes RL. // Chem Biol Interact. 2001. V. 130-138. №1-3. P. 261-273.

9. Yoshida A., Rzhetsky A., Hsu L.C., Chang C. // Eur. J. Biochem. 1998. № 251. P. 549-557.

10. Lewis WH., Sun K.K. // Burns. 1990. V. 16. №3. P. 176-178.

THE ACTIVITY OF ALDEHYDE DEHYDROGENASE IN RAT GENERATIONS AFTER THE BURN

Solovyeva A.G., Zimin Yu.V.
Research Institute of Traumatology and Orthopedic, Nizhny Novgorod

The catalytic properties of unspecific aldehyde dehydrogenase as the basic molecular marker of aldehyde dehydrogenase system of biotransformation in generations of rats with burn have been studied. The activity of aldehyde dehydrogenase were determined by the registration of initial velocity of the formation NADH during the dehydrogenase oxidation of acetaldehyde as substratum. The decrease of activity of the enzyme after six months after the burn has been shown. The decrease of activity of aldehyde dehydrogenase in I and II generations of rats with burn has been marked.