

Zdzisław Skrzydlewski, Krzysztof Worowski, Elżbieta Skrzydlewska

KRZEPNIĘCIE KRWI I FIBRYNOLIZA W ZATRUCIU ETANOLEM
I ACETALDEHYDEM

W homogenacie nerki szczurów zatrutowanych w ciągu 1 i 2 miesięcy etanolem i acetaldehydem zwiększa się aktywność tromboplastyczna, a w homogenacie płuca aktywność ta obniża się. Zatrucie acetaldehydem powoduje zwiększenie aktywności aktywatora plazminogenu w homogenacie nerki i płuca. W homogenacie nerki i płuca po 1 miesiącu zatrawiania, a w homogenacie żołądka po 1 i 2 miesiącach zatrawiania etanolem i acetaldehydem obniża się aktywność antyplazminy. W osoczu szczurów zatrutowanych etanolem i acetaldehydem skraca się nieznacznie czas rekalcynacji i czas protrombiny oraz podwyższa się poziom fibrynogenu. Po 2 miesiącach zatrawiania wydłuża się nieznacznie czas fibrynolizy euglobulin i zwiększa się nieznacznie poziom plazminogenu w osoczu. Aktywność antyplazminy w osoczu obniża się po 1 miesiącu zatrawiania, a po 2 miesiącach zatrawiania zwiększa się nieznacznie.

WSTĘP

Wpływ etanolu na krzepnięcie krwi [2, 4], fibrynolizę [4, 5] i funkcje hemostatyczne płytek krwi [1, 13] jest poznany jedynie fragmentarycznie. Brak jest danych o działaniu acetaldehydu na wymienione procesy.

Celem niniejszego artykułu jest ocena aktywności składników czynnych w procesie krzepnięcia i fibrynolizy w narządach i osoczu krwi szczurów zatrutowanych w ciągu 1 i 2 miesięcy etanolem i acetaldehydem.

MATERIAŁ I METODY

Zwierzęta doświadczalne stanowiło 90 szczurów rasy Wistar o wadze 180-200 g. Szczury te podzielono na 5 grup. Grupa 1 i 2, licząca po 15 zwierząt, była zatruwana w ciągu 1 i 2 miesięcy etanolem, podawanym w ilości 0,6 g/100 g wagi ciała. Grupa 3 i 4, licząca również po 15 zwierząt, była zatruwana w ciągu 1 i 2 miesięcy acetaldehydem podawanym w ilości 25 mg/100 g wagi ciała. Szczury grupy 5, liczącej 30 zwierząt, otrzymywały 0,9% roztwór NaCl. Roztwory związków toksycznych i 0,9% NaCl podawano codziennie sędą dożołądkowo. Po upływie 1 i 2 miesięcy pobierano krew, żołądek, wątrobę, nerkę i płuco. Krew pobierano bez antykoagulantu w celu uzyskania surowicy i do 0,1 M cytrynianu sodu w stodunku 9 : 1 (v/v) w celu uzyskania osocza. Z pobranych narządów sporządzono 10% homogenaty w 0,9% roztworze NaCl zawierającym 0,2% Tryton X-100. Homogenaty doprowadzano do pH 5,0 w celu agregacji organelli komórkowych i ich fragmentów a następnie poddawano wirowaniu przy 1500 x g, w ciągu 30 min [10]. Uzyskany płyn nadosadowy zobojętniano. W homogenatach oznaczano aktywność tromboplastyczną [3], aktywność antytrombinową [11], aktywność aktywatora plazminogramu [3], aktywność antyplazminy [11] i zawartość białka [6]. W osoczu krwi oznaczano czas rekalcynacji, czas protrombinowy, czas trombinowy, poziom fibrynogenu oraz zawartość plazminogenu i antyplazminy metodami opisanymi poprzednio [7, 11]. W surowicy krwi oznaczano aktywność fibrynolityczną euglobulin surowiczych [7] i białko [12].

WYNIKI

W homogenacie nerki aktywność tromboplastyczna zwiększa się po 1 i 2 miesiącach zatruwania etanolem i acetaldehydem (tab. 1). W homogenacie płuca aktywność tromboplastyczna obniża się. Natomiast w homogenacie żołądka i wątroby aktywność ta nie wykazuje zmian.

Homogenat żadnego z badanych narządów zarówno szczurów zatrutych, jak i zdrowych nie zawiera związków o działaniu antytrombinowym. Po 1 i 2 miesiącach zatruwania acetaldehydem zwiększa się znacznie aktywność aktywatora plazminogenu w homogenacie nerki i płuca (tab. 2). W zatruciu etanolem aktywność aktywatora plazmi-

Tabela 1

Aktywność tromboplastyczna homogenatu żołądka, wątroby, nerki i płuca szczurów zatrutowanych etanolem i acetaldehydem oraz szczurów zdrowych

Thromboplastic activity of the homogenate of stomach, kidney and lung of rats intoxicated with ethanol and acetaldehyde and of the healthy rats

Wyszczególnienie	Czas zatrucia (miesiące)	Narząd				Kontrola (0,9% NaCl)
		żołądek	wątroba	nerka	płuco	
		czas krzepnięcia (s)				
Szczury zatrute etanolem	1	113	112	53 ^b	83 ^a	135
	2	118	112	54 ^b	75 ^a	
acetaldehydem	1	111	97	45 ^a	82 ^a	
	2	117	104	50 ^a	79 ^a	
Szczury zdrowe	1	118	105	67	58	
	2	120	100	68	56	

U w a g a: Różnica istotna statystycznie w porównaniu ze szczurami zdrowymi
 a - $p < 0,001$, b - $p < 0,05$.

Tabela 2

Aktywność aktywatora plazminogenu homogenatu żołądka, wątroby, nerki i płuca szczurów zatrutowanych etanolem i acetaldehydem oraz szczurów zdrowych

Activity of plasminogen activator of the homogenate of stomach, liver, kidney and lung of the rats intoxicated with ethanol and acetaldehyde and of the healthy rats

Wyszczególnienie	Czas zatrucia (miesiące)	Narząd				Kontrola (0,9% NaCl)
		żołądek	wątroba	nerka	płuco	
		czas fibrynolizy (min)				
Szczury zatrute etanolem	1	54	219	102	49	198
	2	62	210	110	47	
acetaldehydem	1	55	200	62 ^a	38 ^b	
	2	58	185	76 ^a	43 ^b	
Szczury zdrowe	1	61	220	113	51	
	2	60	225	120	49	

U w a g a: Różnica istotna statystycznie w porównaniu ze szczurami zdrowymi
 a - $p < 0,001$, b - $p < 0,05$.

nogenu nie ulega w tych narządach zmianie. Nie ulega ona zmianie także w homogenacie żołądka i wątroby zarówno w zatruciu etanolem jak i acetaldehydem. Aktywność antyplazminy obniża się w homogenacie żołądka po 1 i 2 miesiącach zatruwania etanolem i acetaldehydem (tab. 3). W homogenacie wątroby aktywność antyplazminy nie ulega zmianie. Natomiast w homogenacie nerki i płuca aktywność antyplazminy obniża się zarówno w zatruciu etanolem, jak i acetaldehydem, ale tylko po 1 miesiącu zatruwania. Nie stwierdzono zmian zawartości białka w homogenatach badanych narządów.

Czas rekalcynacji i czas protrombinowy osocza szczurów zatrutowanych etanolem i acetaldehydem skraca się jedynie nieznacznie w porównaniu z osoczem szczurów zdrowych (tab. 4). Czas trombinowy nie ulega zmianie. Poziom fibrynogenu zwiększa się w zatruciu etanolem i w większym stopniu w zatruciu acetaldehydem. Zmiany te nasilają się po 2 miesiącach zatruwania. Czas fibrynolizy euglobulin nie zmienia się po 1 miesiącu i wydłuża się nieznacznie po 2 miesiącach zatruwania. W tym samym czasie zwiększa się nieznacznie zawartość plazminogenu. Aktywność antyplazminy obniża się nieznacznie po 1 miesiącu zatruwania szczurów etanolem i acetaldehydem. Natomiast po 2 miesiącach zatruwania zawartość antyplazminy nieznacznie się zwiększa. Nie stwierdzono zmian zawartości białka w surowicy krwi badanych grup szczurów.

T a b e l a 3

Aktywność antyplazminy homogenatu żołądka, wątroby, nerki i płuca szczurów zatrutowanych etanolem i acetaldehydem oraz szczurów zdrowych

Antiplasmin activity of the homogenate of stomach, liver, kidney and lung of the rats intoxicated with ethanol and acetaldehyde and of the healthy rats

Wyszczególnienie	Czas zatrucia (miesiące)	Narząd				Kontrola (0,9% NaCl)
		żołądek	wątroba	nerka	płuco	
		μM Tyr/ml/h				
Szczury zatrute etanolem	1	478 ^b	259	249 ^a	111 ^a	598
	2	515 ^b	269	192	61	
acetaldehydem	1	471 ^b	244	212 ^b	168 ^a	
	2	461 ^b	262	197	60	
Szczury zdrowe	1	417	250	182	77	
	2	413	261	189	62	

U w a g a: Różnica istotna statystycznie w porównaniu ze szczurami zdrowymi
a - $p < 0,001$, b - $p < 0,05$.

T a b e l a 4

Składniki układu krzepnięcia i fibrynolizy osocza krwi
szczurów zatrutowanych etanolem i acetaldehydem oraz szczurów kontrolnych

Components of the coagulation and fibrinolysis system of the blood plasma
of the rats intoxicated with ethanol and acetaldehyde and of the healthy rats

Wyszczególnienie	Czas zatrucia (miesiące)	Szczury zatrutowane		Szczury zdrowe
		etanolem	acetaldehydem	
Czas rekalcynacji (s)	1	60	58	62
	2	60	57	63
Czas protrombinowy (s)	1	17	17	18
	2	17	16	18
Fibrynogen (mg%)	1	312 ^b	397 ^a	253
	2	384 ^a	410 ^a	260
Czas fibrynolizy euglobulin (min)	1	126	124	126
	2	138	142	124
Plazminogen (min)	1	28	29	27
	2	22	20	26
Antyplazmina μ M Tyr/ml/h	1	90	97	80
	2	76	72	82

U w a g a: Różnica istotna statystycznie w porównaniu ze szczurami zdrowymi
a - $p < 0,001$, b - $p < 0,05$.

DYSKUSJA

Zawartość składników czynnych hemostatycznie w narządach zależy od tempa ich syntezy, szybkości zużycia i inaktywacji oraz przechodzenia poza obręb komórki. Na podstawie uzyskanych danych doświadczalnych nie jest możliwe ustalenie, który z wymienionych mechanizmów decyduje o zmianach aktywności tromboplastycznej, aktywatora plazminogenu i antyplazminy w narządach szczurów zatrutych etanolem i acetaldehydem. Trudno jest również w sposób jednoznaczny powiązać zmiany aktywności tych składników w narządach ze zmianami aktywności składników układu krzepnięcia i fibrynolizy obserwowanymi w osoczu krwi. Tym bardziej że nie stwierdzono zmian aktywności składników czynnych w procesie hemostazy w wątrobie, która odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu prawidłowej hemostazy, ze względu na zachodzącą w niej syntezę większości czynników krzepnięcia i rolę w regulacji fibrynolizy [14]. Zmiany

aktywności czynników krzepnięcia i fibrynolizy w osoczu może także powodować bezpośrednie działanie etanolu i acetaldehydu znajdującego się we krwi. W badaniach *in vitro* wykazano zahamowanie aktywacji krzepnięcia w systemie wewnątrzpochodnym i zewnątrzpochodnym oraz inaktywację trombiny przez etanol i acetaldehyd [8], a także zahamowanie aktywacji plazminogenu przez aktywatory tkankowe, urokinazę i streptokinazę oraz obniżenie aktywności fibrynolitycznej euglobulin [9]. Zaburzenia osoczkowego krzepnięcia krwi i fibrynolizy w zatruciu etanolem i acetaldehydem polegają natomiast na zwiększonej aktywności układu krzepnięcia oraz wielokierunkowych i zmiennych w czasie zaburzeniach w zakresie czynników układu fibrynolizy. Należy zatem przyjąć, że są one skutkiem zmian w narządach wywołanych przez etanol i acetaldehyd.

Zwiększoną aktywność osoczkowych czynników krzepnięcia [2, 4], zahamowanie układu fibrynolitycznego osocza [4, 5] oraz zahamowanie agregacji płytek krwi [1, 13] wykazano po spożyciu etanolu u ludzi.

Podobne do opisanych zmiany w zakresie osoczkowego układu hemostatycznego stwierdzono w zatruciu innymi związkami chemicznymi, w stanach zapalnych i po podaniu toksyn bakteryjnych [14]. Wskazuje to na nieswoiste działanie etanolu i acetaldehydu na tkankowe i osoczkowe składniki układu hemostatycznego.

LITERATURA

- [1] Bengmark S., Elmer O., Goransson G., Zoncas E. (1981), *Thrombos. Hemostas.*, 46, 673-675.
- [2] Cowan D. H. (1980), *Sem. Hematol.*, 17, 137-147.
- [3] Głowiński S., Worowski K. (1980), *Haemostasis*, 9, 167-174.
- [4] Hillborn M., Kaste M., Rasi V. (1983), *Neurology*, 33, 381-384.
- [5] Lee K., Delsgard Nilsen J., Zeeborg I., Gormsen J. (1980), *Acta Neurol. Scand.*, 62, 287-292.
- [6] Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randal R. J. (1951), *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275.
- [7] Niewiarowski S., Worowski K., Uszyński M. (1967), *Zaburzenia hemostazy i krzepnięcia krwi w położnictwie i ginekologii*, red. S. Soszka, Warszawa, 111.

- [8] Skrzydlewska E., Worowski K. (1984), Rocz. AM Białystok, 29, (w druku).
- [9] Skrzydlewska E., Worowski K. (1984), Rocz. AM Białystok, 29, (w druku).
- [10] Surowiak J. (1973), Ann. Acad. Med. Lodziensis, 14, 63-71.
- [11] Witkowski S., Roszkowska W. Czerepko K., Worowski K. (1984), Acta Polon. Pharm., 61, 385-390.
- [12] Wolfson M., Cohns C., Colvary E., Ichiba F. (1948), Am. J. Clin. Path., 18, 723-730.
- [13] Worowski K. (1983), Diagn. Lab., 19, 267-271.
- [14] Worowski K., Farbiszewski R. (1970), Diagn. Lab., 3, 213-216.

Samodzielna Pracownia Analizy Klinicznej
Akademia Medyczna w Białymstoku

Zdzisław Skrzydlewski, Krzysztof Worowski, Elżbieta Skrzydlewska

BLOOD COAGULATION AND FIBRINOLYSIS IN INTOXICATION
WITH ETHANOL AND ACETALDEHYDE

Rats intoxicated with ethanol and acetaldehyde during 2 months showed increase of the thromboplastic activity in the kidney homogenate and decrease of this activity in the lung homogenate. Besides the intoxication with acetaldehyde increased activity of plasminogen in the homogenate of these organs. Antiplasmin activity decreased in the kidney and lung homogenates after one months and in the stomach homogenate after two months of intoxication with ethanol and acetaldehyde. The time of recalcination and the prothrombin time were slightly shorter in the plasma of rats intoxicated with ethanol and acetaldehyde and the fibrinogen level was increased. The time of the euglobulin fibrinolysis is slightly prolonged after the two months intoxication. The plasminogen level was simultaneously slightly increased. The antiplasmin activity was slightly decreased after one month of the intoxication with ethanol and acetaldehyde but in the second month of the intoxication the activity of this inhibitor was slightly increased.