

# A STUDY OF HYDROGEN PEROXIDE CONCENTRATION CHANGES IN ORGANS OF RATS PROTRACTEDLY INTOXICATED WITH ETHANOL, METANOL, AND ETHYLENE GLYCOL

Agnieszka P. JURCZYK, Maciej BARZDO, Ewa MEISSNER,  
Beata JANKOWSKA, Jarosław BERENT, Krzysztof KORDEL, Stefan SZRAM  
*Chair and Department of Forensic Medicine, Medical University, Łódź*

**ABSTRACT:** The results of research carried out on rats, assessing the influence of chronic intoxication with ethanol, methanol, and ethylene glycol on hydrogen peroxide concentration in internal organs – brain, lungs, liver, kidney, and heart – are presented in this paper. It was shown that the organ most exposed to the detrimental activity of ethanol, methanol, and ethylene glycol is the heart: the greatest increase in hydrogen peroxide concentration was ascertained in this organ. The highest rise in the hydrogen peroxide concentration in all the organs (with the exception of brain) was noted in the case of intoxication with ethylene glycol. Ethanol revealed its antioxidant properties in the brain and kidneys, causing a decrease of the hydrogen peroxide concentration. The lungs turned out to be the only organ in which an increase in hydrogen peroxide concentration occurred during chronic intoxication with all the examined alcohols – ethanol, methanol, and ethylene glycol.

**KEY WORDS:** Oxidative stress; Hydrogen peroxide; Ethanol; Methanol; Ethylene glycol.

*Problems of Forensic Sciences, vol. LV, 2003, 37–49*  
*Received 17 November 2003; accepted 19 December 2003*

## INTRODUCTION

In the process of metabolism of ethanol, methanol, and ethylene glycol, reactive forms of oxygen may be generated, including hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ). While the role of ethyl alcohol in oxidative stress is relatively well known, the participation of methyl alcohol and ethylene glycol in this phenomenon has not been fully researched. Numerous results of research carried out both on animals and people clearly indicate the great importance of ethyl alcohol in the generation of oxidative stress [2, 4, 15]. However, one ought to remember that ethyl alcohol may (in the field of oxidative stress) exhibit two-way activity – on the one hand it may lead to the generation of reactive oxygen forms, on the other it may show antioxidant activity, being a so-called scavenger of the hydroxide radical.

There are many hypotheses concerning oxidative stress generation by ethyl alcohol. Alcohol dehydrogenase may generate hydroperoxide radicals ( $\text{HO}_2^\cdot$ ). Microsomal enzymes produce the hydroxide radical. Reactive oxygen forms are also formed in process of acetic aldehyde metabolism with the participation of aldehyde or xanthine oxidase [6]. Hydroxyethyl radicals are also formed in the course of ethanol metabolism [11]. Moreover, ethanol may facilitate iron release from storage proteins, enabling the Fenton reaction to take place, and also – by influencing mitochondria – contribute to an increase in single-electron reduction of oxygen to the superoxide anion-radical [16, 17]. Superoxide dismutase is an enzyme which converts the superoxide anion-radical, resulting in the formation of hydrogen peroxide. The superoxide anion-radical may also be formed as a result of aldehyde oxidase and cytochrome P450 reductase activity. Hydrogen peroxide may also be produced during conversion of xanthine dehydrogenase into xanthine oxidase under the influence of ethanol. The generation of hydrogen peroxide may also be connected with metabolism of other alcohols such as methanol and ethylene glycol, as the conversion pathways of these compounds are to a large extent convergent.

#### THE AIM OF THE RESEARCH

The objective of this research was to determine the change in hydrogen peroxide concentrations in particular organs of the rat (brain, lungs, liver, kidney, and heart) in the course of chronic intoxication with ethanol, methanol, and ethylene glycol.

#### MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted on 135 male Lewis rats, 6 months of age, with a body mass of between 180 and 250 g. Throughout the experiment, the animals lived at a temperature of 20°C, with free access to feed (Murigran pellets), on a twelve hour day-night cycle, with gravitational ventilation of the compartment, five specimens in each cage. The animals were divided into five groups. The experimental groups were composed of 30 specimens each; the control group numbered 15 animals. The experimental groups received 1 M ethanol, 1 M methanol, and 1 M ethylene glycol solutions. Due to the high toxicity of ethylene glycol, an additional group was formed, which received a 0.25 M solution of this compound. The control group received tap water. Each group was divided into 3 subgroups. Animals were killed in the 4th, 8th, and 12th week (after intraperitoneal administration of the sleep-

inducing agent Vetbutanol) by thoractomy and taking blood from the heart. Animals receiving 1-molar solution of ethylene glycol were killed in the 4th week. Next, the brain, lungs, heart, liver, and kidneys were collected, then exposed to perfusion with cold isotonic salt solution, frozen at a temperature of  $-80^{\circ}\text{C}$  and subjected to further examinations.

The measurement of hydrogen peroxide concentration in the homogenates of the organs was performed by spectrofluorimetry with the use of homovanillic acid and horseradish peroxidase, its values being presented in the form of conversion to protein quantity, determined by the Lowry method.

## RESULTS

In the 4th week of the experiment, a statistically significant increase in hydrogen peroxide concentration in lungs of rats intoxicated with 1 M ethanol and 0.25 M ethylene glycol, in the liver of rats intoxicated with 0.25 M ethylene glycol, in kidneys of animals receiving 1 M ethanol and 0.25 M ethylene glycol and in the heart of all the examined groups was observed (Figure 1).

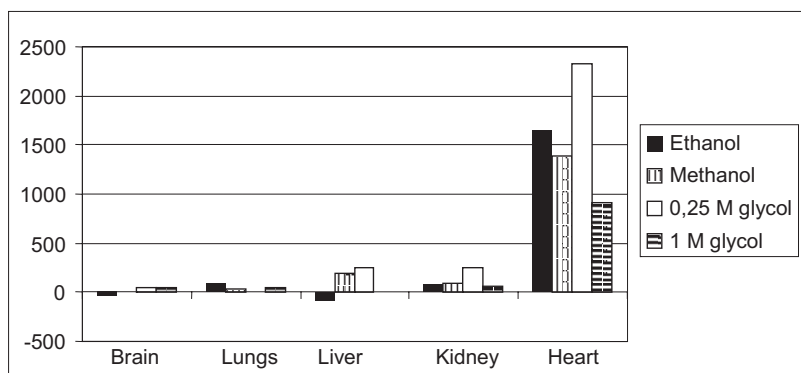


Fig. 1. The hydrogen peroxide concentration differences in the respective organs in the examined groups, compared to the control group, in 4th week of the intoxication with ethanol, methanol, and ethylene glycol.

In the 8th week of the experiment, a statistically significant increase in hydrogen peroxide concentration in rat lungs intoxicated with 1 M ethanol, 1 M methanol and 0.25 M ethylene glycol, in liver and kidneys of rats intoxicated with 0.25 M ethylene glycol, and in the heart of animals that received 1 M ethanol and 1 M methanol was observed. Furthermore, a statistically significant decrease in hydrogen peroxide concentration occurred in rat brains intoxicated with ethanol, in rat liver intoxicated with 0.25 M ethylene glycol and in rat kidneys intoxicated with 1 M ethanol (Figure 2).

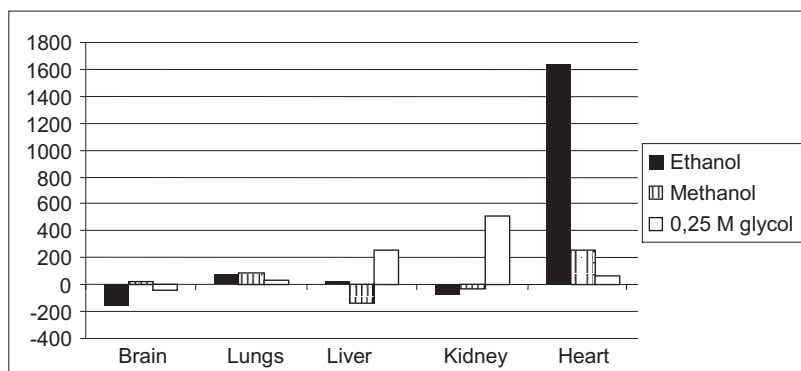


Fig. 2. The hydrogen peroxide concentration differences in the respective organs in the examined groups, compared to the control group, in 8th week of the intoxication with ethanol, methanol, and ethylene glycol.

In the 12th week of the experiment, a statistically significant increase in hydrogen peroxide concentration was observed in rat lungs intoxicated with 1 M methanol and 0.25 M ethylene glycol, in rat liver intoxicated with 0.25 M ethylene glycol, and in hearts of animals that received 1 M ethanol and 1 M Methanol. However, there was a statistically significant decrease in hydrogen peroxide concentration in rat brains intoxicated with 1 M ethanol, in rat kidneys intoxicated with 1 M ethanol and in rat hearts intoxicated with 0.25 M ethylene glycol (Figure 3).

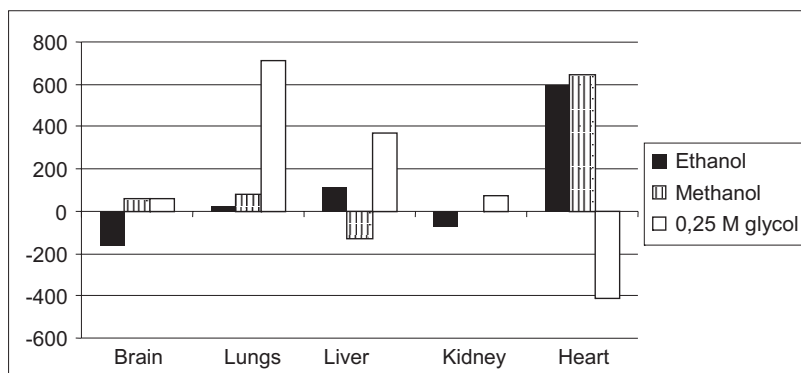


Fig. 3. The hydrogen peroxide concentration differences in the respective organs in the examined groups, compared to the control group, in 12th week of the intoxication with ethanol, methanol, and ethylene glycol.

Tables I–V show the statistical significance of changes in the hydrogen peroxide concentration in particular organs of animals belonging to particular groups (compared to the control group) in successive weeks of intoxication with ethanol, methanol, and ethylene glycol.

TABLE I. THE STATISTICAL SIGNIFICANCE OF THE HYDROGEN PEROXIDE CONCENTRATION DIFFERENCES IN RAT BRAINS IN THE EXAMINED GROUPS, COMPARED TO THE CONTROL GROUP, IN THE RESPECTIVE WEEKS OF THE INTOXICATION

Alcohol	Time of the intoxication		
	4 weeks	8 weeks	12 weeks
Ethanol	ns	$p < 0.001$	$p < 0.001$
Methanol	ns	ns	ns
Glycol 0.25 M	ns	ns	ns
Glycol 1 M	ns	–	–

ns – no statistical significance.

TABLE II. THE STATISTICAL SIGNIFICANCE OF THE HYDROGEN PEROXIDE CONCENTRATION DIFFERENCES IN RAT LUNGS IN THE EXAMINED GROUPS, COMPARED TO THE CONTROL GROUP, IN THE RESPECTIVE WEEKS OF THE INTOXICATION

Alcohol	Time of the intoxication		
	4 weeks	8 weeks	12 weeks
Ethanol	$p < 0.05$	$p < 0.05$	ns
Methanol	ns	$p < 0.05$	$p < 0.05$
Glycol 0.25 M	ns	ns	$p < 0.01$
Glycol 1 M	$p < 0.05$	–	–

ns – no statistical significance.

TABLE III. THE STATISTICAL SIGNIFICANCE OF THE HYDROGEN PEROXIDE CONCENTRATION DIFFERENCES IN RAT LIVERS IN THE EXAMINED GROUPS, COMPARED TO THE CONTROL GROUP, IN THE RESPECTIVE WEEKS OF THE INTOXICATION

Alcohol	Time of the intoxication		
	4 weeks	8 weeks	12 weeks
Ethanol	ns	ns	ns
Methanol	ns	$p < 0.05$	ns
Glycol 0.25 M	$p < 0.05$	$p < 0.01$	$p < 0.001$
Glycol 1 M	ns	–	–

ns – no statistical significance.

TABLE IV. THE STATISTICAL SIGNIFICANCE OF THE HYDROGEN PEROXIDE CONCENTRATION DIFFERENCES IN RAT KIDNEYS IN THE EXAMINED GROUPS, COMPARED TO THE CONTROL GROUP, IN THE RESPECTIVE WEEKS OF THE INTOXICATION

Alcohol	Time of the intoxication		
	4 weeks	8 weeks	12 weeks
Ethanol	ns	$p < 0.001$	$p < 0.001$
Methanol	$p < 0.05$	ns	ns
Glycol 0.25 M	$p < 0.001$	$p < 0.001$	ns
Glycol 1 M	ns	–	–

ns – no statistical significance.

TABLE V. THE STATISTICAL SIGNIFICANCE OF THE HYDROGEN PEROXIDE CONCENTRATION DIFFERENCES IN RAT HEARTS IN THE EXAMINED GROUPS, COMPARED TO THE CONTROL GROUP, IN THE RESPECTIVE WEEKS OF THE INTOXICATION

Alcohol	Time of the intoxication		
	4 weeks	8 weeks	12 weeks
Ethanol	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
Methanol	$p < 0.001$	$p < 0.05$	$p < 0.001$
Glycol 0.25 M	$p < 0.001$	ns	$p < 0.001$
Glycol 1 M	$p < 0.001$	–	–

ns – no statistical significance.

## DISCUSSION

The metabolism of ethyl alcohol, methyl alcohol, and ethylene glycol is linked to generation of reactive forms of oxygen, including hydrogen peroxide. In the described experiments, changes in the hydrogen peroxide concentration in rat organs intoxicated with ethanol, methanol, and ethylene glycol were evaluated. The obtained results indicate a considerable increase in the concentration of this compound in the heart, especially in the initial phase of the intoxication.

Other authors' research results show that the intoxication of rats by ethanol may lead to activation of lipid peroxidation processes in heart muscle cells in conjunction with an increase in concentration of hydrogen peroxide

produced by peroxisomal activity [1, 2, 9]. In this organ, the most important role in the metabolism of ethanol is fulfilled by catalase, which needs hydrogen peroxide for its activity [14]. The catalase activity in heart is greater than in the liver of experimental animals receiving ethyl alcohol [9]. The results of the conducted research show that the increase in hydrogen peroxide concentration in liver was mainly caused by intoxication with 0.25 M ethylene glycol solution, and also, to a lesser degree, by methanol. The participation of ethylene glycol in hydrogen peroxide generation is not completely clear. In the liver and in microsomes, glycol may be oxidized to formaldehyde with the participation of cytochrome P450, and hydrogen peroxide can speed up this reaction [7, 8]. Methanol is metabolised in the liver to formaldehyde, and this reaction is accompanied by the formation of the superoxide anion and hydrogen peroxide [13].

In the case of brain, the only alcohol that was observed to cause a change in hydrogen peroxide was ethanol. In this organ, ethanol is metabolised, as in the heart, mainly with the participation of catalase [10, 12]. For this reaction to occur, hydrogen peroxide is necessary, which is probably why its (hydrogen peroxide's) concentration was observed to fall in the rats in the experimental groups. Intoxication with ethanol also causes stimulation of antioxidant enzymes in brain cells, including catalase, which plays a double role here: on the one hand it breaks down hydrogen peroxide into water, and on the other it oxidises ethanol to toxic acetaldehyde [4].

The results of the conducted research indicate that in rats, it is lungs and to a lesser extent, kidneys, that are most exposed to the action of all the examined alcohols. Pulmonary alveolus cells are in permanent contact with oxygen and that is why they are exposed to the generation of reactive oxygen forms with the participation of alcohols to a greater degree than the other organs. [3]. Moreover, in lungs, as in liver, cytochrome P450 takes part in the metabolism of ethanol, and oxidation reactions are accompanied by the formation of hydrogen peroxide [15]. However, in the case of kidneys, it is ethylene glycol that is an extremely toxic alcohol. An increase in hydrogen peroxide concentration in this organ was observed under the influence of glycol. The research results reported by Huang et al indicate the generation of reactive oxygen forms in rat kidney under the influence of ethylene glycol [5].

## CONCLUSIONS

1. It was shown that the heart is the organ that is most exposed to the detrimental activity of ethanol, methanol, and ethylene glycol. The greatest increase in hydrogen peroxide concentration during chronic intoxication with these alcohols was noted in this organ.

2. The highest rise in hydrogen peroxide concentration in all the organs (with the exception of the brain) was noted in the case of chronic intoxication with 0.25 M ethylene glycol.
3. In some organs, ethanol revealed its antioxidant properties during chronic administration, causing a decrease in the hydrogen peroxide concentration.
4. The lungs are the only organ in which an increase in concentration of hydrogen peroxide was observed during chronic intoxication with all the examined alcohols – ethanol, methanol, and ethylene glycol.

#### References:

1. Antonenkov V. D., Panchenko L. F., Activation of peroxisomal acyl-CoA oxidase and lipid peroxidation in the rat myocardium as affected by prolonged administration of ethanol, *Biulletin eksperimentalnoj biologii i medicyny* 1986, vol. 102, pp. 550–552.
2. Antonenkov V. D., Pirozhkov S. V., Popova S. V. [et al.], Effect of chronic ethanol, catalase inhibitor 3-amino-1,2,4-triazole and clofibrate treatment on lipid peroxidation in rat myocardium, *International Journal of Biochemistry* 1989, vol. 21, pp. 1313–1318.
3. Burch G. E., de Pasquale N. P., Alcoholic lung disease. An hypothesis, *American Heart Journal* 1967, vol. 73, pp. 147–148.
4. Eysseric H., Gonthier B., Soubeyran A. [et al.], Effects of chronic ethanol exposure on acetaldehyde and free radical production by astrocytes in culture, *Alcohol and Alcoholism* 2000, vol. 21, pp. 117–125.
5. Huang H. S., Chen C. F., Chien C. T. [et al.], Possible biphasic changes of free radicals in ethylene glycol-induced nephrolithiasis in rats, *BJU – International* 2000, vol. 85, pp. 1143–1149.
6. Kato S., Kawase T., Alderman J. [et al.], Role of xanthine oxidase in ethanol-induced lipid peroxidation in rats, *Gastroenterology* 1990, vol. 98, pp. 203–210.
7. Kukielka E., Cederbaum A. I., Increased oxidation of ethylene glycol to formaldehyde by microsomes after ethanol treatment: role of oxygen radicals and cytochrome P450, *Toxicology Letters* 1995, vol. 78, pp. 9–15.
8. Kukielka E., Cederbaum A. I., Oxidation of ethylene glycol to formaldehyde by rat liver microsomes. Role of cytochrome P-450 and reactive oxygen species, *Drug Metabolism and Disposition the Biological Fate of Chemicals* 1991, vol. 9, pp. 1108–1115.
9. Panchenko L. F., Pirozhkov S. V., Popova S. V. [et al.], Effect of chronic ethanol treatment on peroxisomal acyl-CoA oxidase activity and lipid peroxidation in rat liver and heart, *Experientia* 1987, vol. 43, pp. 580–581.
10. Pastor R., Sanchis-Segura C., Aragon C. M., Ethanol-stimulated behaviour in mice is modulated by brain catalase activity and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> rate of production, *Psychopharmacology* 2002, vol. 165, pp. 51–59.



11. Reinke L. A., Moore D. R., McCay P. B., Mechanisms for metabolism of ethanol to 1-hydroxyethyl radicals in rat liver microsomes, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1997, vol. 348, pp. 9–14.
12. Schad A., Fahimi H. D., Volkl A. [et al.], Expression of catalase mRNA and protein in adult rat brain: detection by nonradioactive *in situ* hybridization with signal amplification by catalyzed reporter deposition (ISH-CARD) and immunohistochemistry (IHC)/immunofluorescence (IF), *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 2003, vol. 51, pp. 751–760.
13. Skrzydlewska E., Farbiszewski R., Protective effect of N-acetylcysteine on reduced glutathione, reduced glutathione-related enzymes and lipid peroxidation in methanol intoxication, *Drug and Alcohol Dependence* 1999, vol. 57, pp. 61–67.
14. Soffia F., Penna M., Ethanol metabolism by rat heart homogenates, *Alcohol and Alcoholism* 1987, vol. 4, pp. 45–48.
15. Tindberg N., Ingelman-Sundberg M., Cytochrome P-450 and oxygen toxicity. Oxygen-dependent induction of ethanol-inducible cytochrome P-450 (IIE1) in rat liver and lung, *Biochemistry* 1989, vol. 28, pp. 4499–4504.
16. Tsukamoto H., Horne W., Kamimura S. [et al.], Experimental liver cirrhosis induced by alcohol and iron, *Journal of Clinical Investigation* 1995, vol. 96, pp. 620–630.
17. Turrens J. F., Boveris A., Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria, *Biochemical Journal* 1980, vol. 191, pp. 421–427.

# BADANIE NAD ZACHOWANIEM SIĘ STĘŻENIA NADTLENKU WODORU W NARZĄDACH SZCZURÓW PRZEWLEKLE INTOKSYKOWANYCH ETANOLEM, METANOLEM I GLIKOLEM ETYLENOWYM

Agnieszka P. JURCZYK, Maciej BARZDO, Ewa MEISSNER,  
Beata JANKOWSKA, Jarosław BERENT, Krzysztof KORDEL, Stefan SZRAM

## WPROWADZENIE

W procesie metabolizmu alkoholu etylowego, metylowego oraz glikolu etylenowego może dochodzić do generacji reaktywnych form tlenu, w tym nadtlenu wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). O ile rola alkoholu etylowego w stresie tlenowym jest stosunkowo dobrze poznana, o tyle udział alkoholu metylowego i glikolu etylenowego w tym zjawisku nie został w pełni zbadany. Liczne wyniki badań przeprowadzone zarówno na zwierzętach, jak i na ludziach, wyraźnie wskazują na duże znaczenie alkoholu etylowego w generowaniu stresu tlenowego [2, 4, 15]. Jednakże należy pamiętać, że alkohol etylowy, w aspekcie stresu tlenowego, może wykazywać działanie dwukierunkowe – z jednej strony może prowadzić do generacji reaktywnych form tlenu, z drugiej zaś wykazywać działanie antyoksydacyjne, będąc tzw. zmiataczem rodnika wodorotlenowego.

Istnieje wiele teorii dotyczących generacji stresu tlenowego przez alkohol etylowy. Dehydrogenaza alkoholowa może generować rodniki wodoronadtlenkowe ( $\text{HO}_2^\cdot$ ). Enzymy mikrosomalne wytwarzają rodnik wodorotlenowy. Procesy metabolizmu aldehydu octowego z udziałem oksydazy aldehydowej lub ksantynowej są również źródłem reaktywnych form tlenu [6]. W toku metabolizmu etanolu powstają także rodniki hydroksyetylowe [11]. Etanol może ponadto ułatwiać uwalnianie żelaza z białek magazynujących, umożliwiając zachodzenie reakcji Fentona, oraz – poprzez wpływ na mitochondria – przyczynić się do zwiększenia jednoelektronowej redukcji tlenu do anionorodnika ponadtlenkowego [16, 17]. Dysmutaza ponadtlenkowa jest enzymem powodującym przekształcenie anionorodnika ponadtlenkowego, w wyniku czego powstaje nadtlenek wodoru. Anionorodnik ponadtlenkowy może powstawać w wyniku działania oksydazy aldehydowej i reduktazy cytochromu P450. Nadtlenek wodoru może również powstawać podczas konwersji dehydrogenazy ksantynowej do oksydazy ksantynowej pod wpływem etanolu. Generowanie nadtlenu wodoru może być związane także z metabolizmem innych alkoholi, takich jak metanol i glikol etylenowy, ponieważ szlaki przemian tych związków są w dużym stopniu zbieżne.

## CEL PRACY

Celem pracy było określenie zmian stężeń nadtlenu wodoru w poszczególnych narządach szczurów (mózgu, płucach, wątrobie, nerkach i sercu) w przebiegu przewlekłej intoksykacji etanolem, metanolem i glikolem etylenowym.

## MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie zostało przeprowadzone na 135 szczurach należących do szczepu wsobnego lewis, samcach, o masie ok. 180–250 g, w wieku ok. 6 miesięcy. Zwierzęta przebywały przez całe doświadczenie w temperaturze 20°C, ze swobodnym dostępem do pokarmu (pasza granulowana Murigran), w cyklu 12 godzinnym dzień-noc, z wentylacją grawitacyjną pomieszczenia, w klatkach po 5 sztuk. Zwierzęta podzielono na pięć grup. Grupy doświadczalne liczyły po 30 sztuk, a grupa porównawcza 15. Szczurom z grupy doświadczalnej podawano do picia roztwory 1 M etanolu, 1 M metanolu i 1 M glikolu etylenowego. Ze względu na wysoką toksyczność glikolu etylenowego utworzono dodatkową grupę, której podawano 0,25 M roztwór tego związku. Grupie porównawczej podawano wodę. Każda grupa została podzielona na trzy podgrupy. Zwierzęta były uśmiercane w 4, 8 i 12 tygodniu (po podaniu dootrzewnowo środka usypiającego Vetbutal) przez otwarcie klatki piersiowej i pobranie krwi z serca. Zwierzęta otrzymujące 1 M roztwór glikolu etylenowego uśmiercono w 4 tygodniu. Następnie pobierano mózg, płuca, serce, wątrobę i nerki, które po perfundacji zimnym roztworem soli fizjologicznej zamrażano w temperaturze –80°C do dalszych badań.

Pomiaru stężenia nadtlenu wodoru w homogenatach narządów dokonano metodą spektrofluorymetryczną z użyciem kwasu homowanilinowego i peroksydazy chrzanowej, a jego wartości podano w przeliczeniu na ilość białka oznaczonego metodą Lowry'ego.

## WYNIKI

W 4 tygodniu doświadczenia zaobserwowano istotny statystycznie wzrost stężenia nadtlenu wodoru w płucach szczurów intoksykowanych 1 M etanolem i 0,25 M glikolem etylenowym, w wątrobie szczurów intoksykowanych 0,25 M glikolem etylenowym, w nerkach zwierząt spożywających 1 M metanol i 0,25 M glikol etylenowy oraz w sercu wszystkich czterech grup badanych (rycina 1).

W 8 tygodniu doświadczenia zaobserwowano istotny statystycznie wzrost stężenia nadtlenu wodoru w płucach szczurów intoksykowanych 1 M etanolem, 1 M metanolem i 0,25 M glikolem etylenowym, w wątrobie i nerkach szczurów intoksykowanych 0,25 M glikolem etylenowym oraz w sercu zwierząt intoksykowanych 1 M etanolem i 1 M metanolem. Poza tym stwierdzono istotny statystycznie spadek stężenia nadtlenu wodoru w mózgu szczurów intoksykowanych etanolem, w wątrobie szczurów intoksykowanych 0,25 M glikolem etylenowym i w nerkach szczurów intoksykowanych 1 M etanolem (rycina 2).

W 12 tygodniu doświadczenia stwierdzono istotny statystycznie wzrost stężenia nadtlenu wodoru w płucach szczurów intoksykowanych 1 M metanolem i 0,25 M glikolem etylenowym, w wątrobie zwierząt intoksykowanych 0,25 M glikolem etylenowym oraz w sercu szczurów intoksykowanych 1 M etanolem i 1 M metanolem. Stwierdzono natomiast spadek stężenia nadtlenu wodoru w mózgu szczurów intoksykowanych 1 M etanolem, nerkach szczurów intoksykowanych 1 M etanolem i sercu szczurów intoksykowanych 0,25 M glikolem etylenowym (rycina 3).

W tabelach I–V przedstawiono istotność statystyczną zmian stężeń nadtlenu wodoru w poszczególnych narządach zwierząt należących do poszczególnych bada-

nych grup (w stosunku do grupy porównawczej) w kolejnych tygodniach intoksykacji etanolem, metanolem i glikolem etylenowym (tabele I–V).

#### DYSKUSJA WYNIKÓW

Metabolizm alkoholu etylowego, metylowego i glikolu etylowego wiąże się z generowaniem reaktywnych form tlenu, m.in. nadtlenu wodoru. W opisanych badaniach oceniono zmiany stężenia nadtlenu wodoru w narządach szczurów intoksykowanych etanolem, metanolem i glikolem etylenowym. Uzyskane wyniki ukazują silny wzrost stężenia tego związku w sercu, szczególnie w początkowej fazie intoksykacji.

Wyniki badań innych autorów wskazują, że intoksykacja szczurów etanolem może prowadzić do aktywacji procesów peroksydacji lipidów w komórkach mięśniowych serca w powiązaniu ze wzrostem stężenia nadtlenu wodoru produkowanego przez peroksydazy [1, 2, 9]. W tym narządzie największą rolę w metabolizmie etanolu pełni katalaza, do działania której niezbędny jest nadtlenek wodoru [14]. Jej aktywność w sercu jest większa w porównaniu z wątrobą zwierząt doświadczalnych spożywających alkohol etylowy [9]. Wyniki przeprowadzonych badań pokazują, że wzrost stężenia nadtlenu wodoru w wątrobie jest spowodowany głównie intoksykacją glikolem etylenowym podawanym w roztworze o stężeniu 0,25 M, a także, w mniejszym stopniu, metanolem. Udział glikolu etylenowego w generowaniu nadtlenu wodoru nie jest w pełni jasny. W wątrobie, w mikrosomach, glikol może być utleniany do formaldehydu przy udziale cytochromu P450, a nadtlenek wodoru może przyspieszać tę reakcję [7, 8]. Metanol jest metabolizowany w wątrobie do aldehydu mrówkowego, a reakcji tej towarzyszy powstawanie anionorodnika ponadtlenkowego i nadtlenu wodoru [13].

W przypadku mózgu obserwowano jedynie wpływ etanolu na zmianę stężenia nadtlenu wodoru. W narządzie tym etanol jest metabolizowany, podobnie jak w sercu, głównie z udziałem katalazy [10, 12]. Do przebiegu reakcji niezbędny jest nadtlenek wodoru, co prawdopodobnie wiąże się z obserwowanym przez prowadzących to doświadczenie spadkiem jego stężenia u szczurów z grup doświadczalnych. Intoksykacja etanolem powoduje również pobudzenie enzymów antyoksydacyjnych komórek mózgu, w tym katalazy, która pełni tu podwójną rolę: z jednej strony rozkłada nadtlenek wodoru do wody, z drugiej utlenia etanol do toksycznego aldehydu octowego [4].

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że organami szczura, które są najbardziej narażone na wszystkie badane alkohole, są płuca – i w mniejszym stopniu – nerki. Komórki pęcherzyków płucnych mają stały kontakt z tlenem i w związku z tym są narażone na generowanie reaktywnych form tlenu z udziałem alkoholi w większym stopniu niż inne narządy [3]. Ponadto w płucach, podobnie jak w wątrobie, w metabolizmie etanolu bierze udział cytochrom P450, a reakcjom utleniania towarzyszy powstawanie nadtlenu wodoru [15]. Natomiast w przypadku nerek niezwykle toksycznym alkoholem jest glikol etylenowy. Obserwowano wzrost stężenia nadtlenu wodoru pod wpływem glikolu w tym narządzie. Wyniki badań Huanga i in. wskazują na generowanie reaktywnych form tlenu w nerkach szczurów pod wpływem glikolu etylenowego [5].

#### WNIOSKI

1. Narządem najbardziej narażonym na niekorzystne działanie alkoholu etylowego, metylowego i glikolu etylenowego jest serce, w którym stwierdza się największy wzrost stężeń nadtlenku wodoru w przebiegu przewlekłej intoksykacji tymi alkoholami.
2. Alkoholem, który w przebiegu przewlekłej intoksykacji powoduje największy przyrost stężenia nadtlenku wodoru we wszystkich narządach (z wyjątkiem mózgu), jest glikol etylenowy o stężeniu 0,25 M.
3. W niektórych narządach przewlekła intoksykacja etanolem ujawnia jego właściwości antyoksydacyjne i powoduje zmniejszenie stężenia nadtlenku wodoru.
4. Płuca są jedynym narządem, w którym obserwuje się wzrost stężenia nadtlenku wodoru w czasie przewlekłej intoksykacji wszystkimi badanymi alkoholami – etanolem, metanolem i glikolem etylenowym.