

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ВЛИЯНИЕ ЦИНКА НА АКТИВНОСТЬ ЭТАНОЛОКИСЛЯЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ ПОТОМКОВ АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС

INFLUENCE OF ZINC ON THE ETHANOLMETABOLIZING ENZYMES ACTIVITY IN THE OFFSPRING OF THE RATS SUBMITTED TO THE ALCOHOL INTOXICATION

А.В. Скальный¹, А.Б. Кампов-Полевой², А.Е. Воронин²
A.V. Skalny¹, A.B. Kamov-Polevoy², A.E. Voronin²

¹ГНЦ наркологии МЗ РФ, Москва, Россия.

e-mail: skalny@orc.ru

²НИИ фармакологии РАМН, Москва, Россия.

¹State Research Centre of Narcology, Moscow, Russia.

²Institute of Pharmacology RAMS, Moscow, Russia.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: цинк, влияние, этанолокисляющие ферменты, потомство, крысы.

KEYWORDS: zinc, influence, ethanolmetabolizing enzymes, offspring, rats.

РЕЗЮМЕ: В эксперименте у половозрелых потомков алкоголизированных до беременности крыс обнаружены повышенное содержание меди, селена и молибдена в митохондриальной фракции печени, низкое содержание кальция и цинка в супернатанте, а также повышенная активность АДГ и АльДГ. Применение во время беременности и лактации у алкоголизированных крыс сульфата цинка в виде раствора для питья (0,05–0,07 мг/кг/сут) приводит к еще большему повышению активности АльДГ, особенно с высокой К_м, и содержания молибдена в митохондриальной фракции печени половозрелого потомства, нормализации остальных показателей обмена микроэлементов. Получены данные, указывающие на возможность влияния на метаболизм этанола и ацетальдегида в зрелом возрасте путем воздействия солями цинка в перинатальном периоде. Механизм индукции альдегиддегидрогеназы при этом может быть связан с синергизмом цинка и молибдена.

SUMMARY: It was shown that offspring of rats submitted to alcohol intoxication before the pregnancy had a high level of Cu, Mo and Se in the liver mitochondria and low level of Ca, Zn in liver supernatant homogenate. The addition of zinc sulfate to the rats diet (0.5-0.7 mg/kg/day) during pregnancy and lactation resulted in further elevation of Mo content as well as normalization of the other trace element content.

The data obtained showed the possibility of ethanol and acetaldehyde metabolism regulation by means of regulation of Zn content in the diet.

Изучение биологических основ расстройств, наблюдаемых у потомства алкоголизированных родителей, и их коррекция являются одной из наиболее актуальных задач, стоящих перед наркологией. Особое внимание привлекают поиски путей регуляции этанолокисляющих ферментов, таких как алкогольдегидрогеназа (АДГ) и альдегиддегидрогеназа (АльДГ) (Семенов и др., 1987; Varburg, 1987; Бородкин, 1988). Это связано с тем, что увеличение активности АДГ при сниженной активности АльДГ (особенно изофермента АльДГ-1) (Varburg, 1987; Скальный, 1990) при хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) приводит к накоплению в клетках высокотоксичного ацетальдегида (Jottmar, Marchner, 1976), а также, по мнению ряда авторов (Бородкин, 1988;), подобное сочетание активности ферментов может являться первичным патогенетическим звеном развития алкоголизма.

Ранее нами было показано, что у потомства алкоголизированных крыс как на стадии эмбрионального развития, так и после полового созревания отмечается снижение содержания цинка в печеночной ткани (Удрис, Нейланд, 1976; Скальный, Скосырева, 1987), что согласно известным данным (Brougham et al., 1981), не может не сказаться на активности этанолметаболизирующих ферментных систем.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы явилось изучение элементного состава, а также активности АДГ и АльДГ в печени половозрелых потомков крыс, подвергнутых алкоголизации до беременности. В работе также предпринята по-

пытка коррекции найденных нарушений с помощью сульфата цинка.

Методика исследования

Опыты проводились на самцах белых рандомбредных крыс, чьи матери получали 15% раствор этанола в виде единственного источника жидкости в течение 20 дней до спаривания с интактными самцами. Животные были разделены на 2 группы в зависимости от вида жидкости, которую потребляли их матери в течение 46 дней после спаривания. В первую группу (6 крыс) вошли животные, чьи матери были переведены на потребление воды, а во вторую (7 крыс) — на потребление 0,2 мМ раствора сульфата цинка (среднесуточное потребление сульфата цинка составляло 0,05–0,07 мг/кг). Контролем (10 крыс) служили потомки интактных крыс, выращенных в идентичных условиях вивария. Источником пищи для всех животных служил стандартный брикетированный корм №1.

В возрасте 90 дней крыс забивали и печень забиралась для анализа. Из печени выделяли митохондриальную фракцию и супернатант, после чего определяли активность АДГ в митохондриях и АльДГ в супернатанте печеночной ткани по общепринятым методикам (Bonnishen, Brink, 1955; Jotmar, Marchner, 1976). Определялся также элементный состав митохондриальной фракции печени и супернатанта методом плазменной спектрометрии (Скальный, 2000) на приборе ICAP-9000 фирмы "Thermo Jarrell Ash" (США).

Результаты исследования

Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что ХАИ самок, предшествовавшая беременности, существенно изменяет содержание ряда элементов в печени потомков, что согласуется с опубликованными ранее данными (Скальный, Скосырева, 1987; Тутельян и др., 1982; Удрис, Нейланд, 1976). Впервые в настоящей работе установлено, что у потомков алкоголизованных крыс в супернатанте отмечается сниженное по сравнению с интактным контролем содержание кальция и цинка, в то время как содержание меди, селена и молибдена в митохондриях было повышенным.

Применение сульфата цинка у алкоголизованных матерей во время беременности и лактации (группа 2) приводит к нормализации содержания цинка, кальция, меди и (в меньшей степени) селена у их половозрелого потомства. Это сопровождается снижением содержания железа и еще более выраженным повышением содержания молибдена в митохондриях по сравнению с контролем. Соотношение содержания молибдена в митохондриях к его содержанию в супернатанте повышено как по отношению к контролю, так и по отношению к животным первой группы.

ТАБЛИЦА 1. ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ И СУПЕРНАТАНТА ПЕЧЕНИ ПОТОМКОВ АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС ($X \pm m$, МКГ/Г ТКАНИ).

| | | Контроль (n=10) | I группа (n=6) | II группа (n=7) |
|----|-------------|-----------------|-----------------------------|---------------------------------|
| Ca | Митохондрии | 127,4±21,5 | 211,9±97,9 | 98,5±26,3 |
| | Супернатант | 212,4±22,5 | 142,5±16,8 ^a | 172,2±24,6 |
| Mg | Митохондрии | 231,7±16,8 | 233,9±57,1 | 230,3±31,3 |
| | Супернатант | 624,9±42,7 | 542,8±52,4 | 666,3±57,3 |
| Fe | Митохондрии | 182,1±12,6 | 203,5±43,5 | 147,4±13,3 |
| | Супернатант | 513,5±52,9 | 500,9±46,5 | 491,9±29,2 |
| Zn | Митохондрии | 42,9±2,9 | 54,3±2,0 | 35,1±3,51 |
| | Супернатант | 119,8±10,4 | 89,9±6,7 ^a | 24,6±9,1 ^{xxb} |
| Cu | Митохондрии | 9,56±1,10 | 16,61±1,88 ^{xxa} | 11,57±0,32 ^{xxb} |
| | Супернатант | 15,01±1,43 | 12,67±1,59 | 12,45±1,21 |
| Mo | Митохондрии | 2,76±0,59 | 19,38±0,98 ^{xxx a} | 14,97±0,92 ^{xxx a, xx} |
| | Супернатант | 1,89±0,54 | 6,87±3,06 | 63,29±1,27 |
| Se | Митохондрии | 2,57±0,29 | 3,49±0,13 ^a | 4,26±0,28 ^{xxx a} |
| | Супернатант | 1,79±0,72 | 2,54±1,58 | 0,68±0,15 |

Примечание: ^x — P<0,05; ^{xx} — P<0,01; ^{xxx} — P<0,001 по сравнению ^a) с контролем, ^b) с первой группой в табл. 1 и 2.

ТАБЛИЦА 2. АКТИВНОСТЬ АДГ И АЛЬДГ В ПЕЧЕНИ ПОТОМКОВ АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС ($X \pm m$).

| Группа | АДГ печени (Е/мг*10 ⁻² белка) | АльДГ (Е/мг*10 ⁻³ белка) | | |
|-----------------|--|-------------------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | | цитозоль | митохондриальная фракция | |
| | | | с высокой Км | с низкой Км |
| Контроль (n=10) | 48,4±0,68 | 59,36±1,69 | 53,19±0,90 | 30,39±1,77 |
| I группа (n=6) | 50,57±0,61 | 63,43±1,61 | 65,08±1,45 ^{xxx} | 36,73±0,99 ^x |
| II группа (n=7) | 53,41±1,27 ^x | 65,46±1,81 ^x | 84,29±1,83 ^{xxx} | 38,56±1,30 ^{xx} |

Примечание: ^x — P<0,05; ^{xx} — P<0,01; ^{xxx} — P<0,001 по сравнению с контролем.

Определение активности этанолаксилирующих ферментов показало, что у потомства алкоголизованных крыс активность АльДГ с низкой и высокой Км существенно повышена по сравнению с контролем. Применение сульфата цинка в перинатальном периоде приводило к активации АльДГ, а также АДГ (табл. 2). Соотношение АДГ/АльДГ с высокой Км при этом значительно превышало таковой показатель в первой группе (P<0,001).

Сравнение активности АльДГ с элементным составом печени позволяет сделать заключение, что ее повышение может быть обусловлено увеличением уровня молибдена в митохондриях, поскольку, как известно, АльДГ является молибден-зависимым ферментом (Хьюз, 1983; Varburg, 1987). Кроме того,

перинатальное применение сульфата цинка нормализовало в печени обмен кальция, который, наряду с ионами магния, может стимулировать активность АльДГ (Varburg, 1987). Полученные результаты согласуются с данными I. Das с соавторами (Das et al., 1984), показавшего *in vitro* уменьшение концентрации ацетальдегида при добавлении в среду ионов цинка.

Дефицит цинка, отмеченный у потомства алкоголизированных самок, не отразился на активности АДГ. Однако следует отметить, что перинатальное применение сульфата цинка привело к активации этого фермента.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что ХАИ самок даже до беременности способна вызвать серьезные нарушения в организме потомства, сохраняющиеся у животного и в период зрелости. Одним из подобных нарушений может являться изначально повышенная толерантность к алкоголю, основанная на повышенной активности АДГ и АльДГ, что, по мнению ряда авторов, может свидетельствовать о наличии предрасположенности к потреблению алкоголя у животных и человека (Буров и др., 1981; Островский и др., 1988). В качестве возможного механизма подобных нарушений можно назвать дисбаланс микроэлементов в тканях организма. Особо следует подчеркнуть, что, как показали проведенные нами эксперименты, для матерей, подвергавшихся ХАИ, даже легкие изменения качественного состава пищи (в нашем случае это была попытка компенсировать дефицит цинка в печеночной ткани плода повышением поступления цинка в организм матери) могут приводить к стойким метаболическим нарушениям у потомства. С другой стороны, полученные данные свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения влияния отдельных микроэлементов на функциональные нарушения у потомков алкоголизированных родителей, поскольку это открывает широкие возможности для корректирующей терапии.

Литература

- Бородкин Ю.С. 1988. // Вестн. АМН СССР. № 3. С.40–43.
- Буров Ю.В., Абсава Г.И., Кампов-Полевой А.Б., Клюев С.М. 1981. // Фармакол. Токсикол. № 1. С.50–52.
- Островский Ю.М., Сатановская В.И., Островский С.Ю. и др. 1988. Метаболические предпосылки и последствия употребления алкоголя. Минск: Наука и техника. 263 с.
- Семенов А.С., Серганова Т.И., Скальный А.В., Эйдельман Т.Н. 1987. // Педиатрия. № 4. С.50–54.
- Скальный А.В. 1990. Исследование влияния хронической алкогольной интоксикации на обмен Zn, Cu и Li в организме. Дисс. ... канд. мед. наук. М. 120 с.
- Скальный А.В. 2000. Адаптационные нарушения и микроэлементозы // В.Н. Преображенский, И.Б. Ушакова, К.В. Лядов. Активационная терапия в системе медицинской реабилитации лиц опасных профессий. М.: Паритет-Граф. С.192–270.
- Скальный А.В., Скосырева А.М. 1987. // Акуш. и гинекол. № 4. С.6–8.
- Тутельян В.А., Сороковая Г.К., Саввина Л.В. и др. 1982. // Вопр. мед. химии. Т.2. Вып.4. С.96–101.
- Удрис Г.А., Нейланд Я.А. 1976. Биологическая роль молибдена в организме животных. Рига: Зинатне. 127 с.
- Хьюз М. 1983. Неорганическая химия биологических процессов. Пер. с англ. М.: Мир. 416 с.
- Bonnishen R.K., Brink N.G. 1955. *Methods in Enzymology*. Vol.1. P.495.
- Brougham M.J., McNeill G., O'Heidrin M., Johnson D.B. 1981. // *Int. J. Biochem.* Vol.13. P.517.
- Das I., Burch R.E., Hahn H.K.J. 1984. // *Lab.Clin.Med.* Vol.104. P.610.
- Jottmar A., Marchner H. 1976. // *Acta Pharmacol. Toxicol.* Vol.38. P.366.
- Varburg J.P. 1987. // *Mutat. Res. Rev. Genet. Toxicol.* Vol.186. P.249.