

## **Активность $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -АТФазы плазматических мембран клеток печени и мозга крыс при хронической алкогольной интоксикации и при введении уксуснокислого цинка**

*Харченко Ольга Ивановна*

*канд. биол. наук, мл. науч. сотр., Киевский национальный университет им. Т. Шевченко,  
г. Киев*

*E-mail: [77olgaz@gmail.com](mailto:77olgaz@gmail.com)*

*Богун Лариса Ивановна*

*канд. биол. наук, науч. сотр., Киевский национальный университет им. Т. Шевченко,  
г. Киев*

*Остапченко Людмила Ивановна*

*д-р биол. наук, профессор, Киевский национальный университет им. Т. Шевченко, г. Киев*

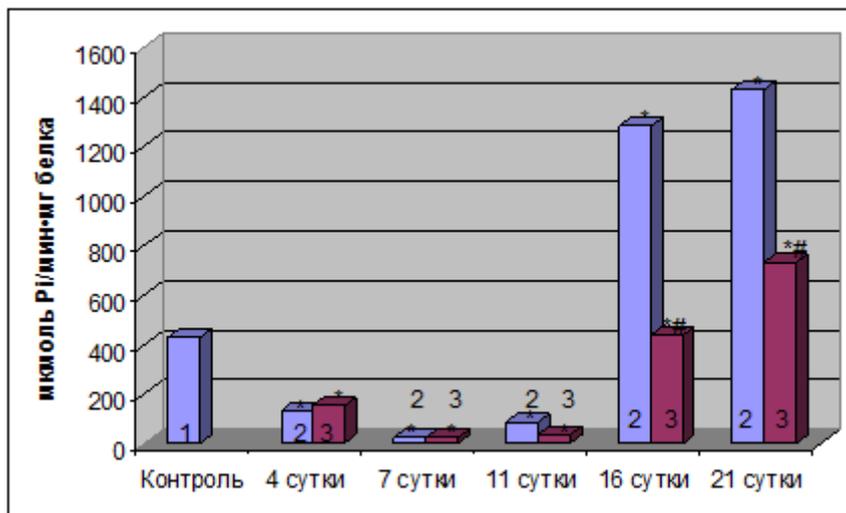
**Введение.** В основе развития алкоголизма лежат глубокие изменения структуры и функций плазматических мембран различных клеток, которые приводят к нарушению функционирования мембраносвязанных ферментов. Эти ферменты могут выступать в роли биохимических мишеней, которые обуславливают, с одной стороны, повреждающий эффект этанола, а с другой – приспособление организма к алкоголизации.

На сегодня известно, что развитие хронической алкогольной интоксикации сопровождается дефицитом цинка в ряде органов человека и животных. Для коррекции дефицита цинка используют его соли, среди которых низкой токсичностью характеризуется уксуснокислый цинк [8]. Поэтому целью нашей работы было определить влияние уксуснокислого цинка на активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы в плазматических мембранах клеток печени и мозга крыс в условиях хронической алкогольной интоксикации.

**Материалы и методы.** Исследования проводили на самцах белых беспородных крыс массой 180—200 г, которые содержались на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. 40° этиловый спирт вводился перорально из расчета 2 мл на 100 г массы животного раз в сутки. Животные были разделены на 3 группы. 1-вая группа – контрольные животные; 2-рая – крысы с хронической алкогольной интоксикацией, которая вызывалась по методике М. Х. Халилова и Ш. А. Закиходжаева [7]; 3-ья – крысы с хронической алкогольной интоксикацией, которым дополнительно вводили уксуснокислый цинк в дозе 2 мг на 100 г массы животного [8]. Животных декапитировали на 4, 7, 11, 16 и 21 сутки. Общую фракцию гепатоцитов крыс получали по модифицированной методике [5]. Получение фракций плазматических мембран клеток печени и мозга крыс, а также определение активности  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы проводили согласно [6]. Определение концентрации белка проводили по методу [9]. Статистическую обработку полученных данных проводили общепринятыми методами вариационной статистики на основании 7—12 повторов ( $M \pm m$ ,  $n=7-12$ ) [1].

**Результаты.** При исследовании действия этанола на активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы плазматических мембран гепатоцитов крыс нами было установлено ее возрастание на 4-

тые (на 25 %) и 7-ые сутки (на 50 %), снижение на 11-ые сутки (на 36,4 %) и повторное повышение активности фермента на 16-ые (в 2,5 раз) и 21-ые (в 5 раз) сутки эксперимента по сравнению с контролем (рис. 1).



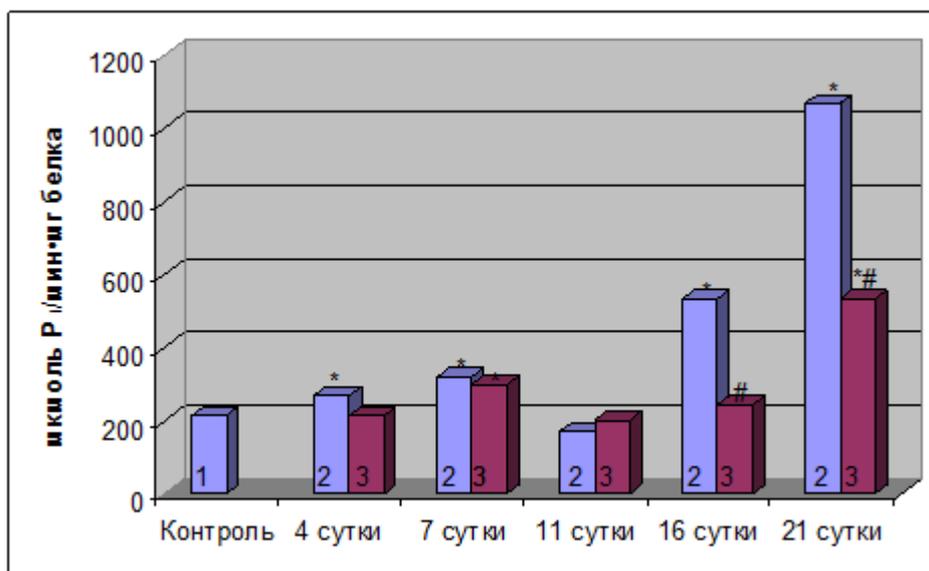
**Рис. 1.** Активность  $Na^+,K^+$ -АТФазы плазматических мембран гепатоцитов крыс при хронической алкогольной интоксикации и при введении уксуснокислого цинка (1 – контроль; 2 – этанол; 3 – этанол + цинк).

\* –  $P \leq 0,05$  по сравнению с контролем

# –  $P \leq 0,05$  по сравнению с экспериментальной моделью

Введение уксуснокислого цинка при хронической алкогольной интоксикации приводило к возрастанию активности данного фермента плазматических мембран гепатоцитов крыс на 7-ые (на 40 %) и 16-ые сутки (на 15 %) по сравнению с контрольными значениями, в то время как на 4-ые и 11-ые сутки этот показатель не отличался от контроля. Во время последнего этапа исследования (21-ые сутки) активность  $Na^+,K^+$ -АТФазы была в 2,5 раза выше по сравнению с контролем (рис. 1).

Таким образом, уксуснокислый цинк приводит к уменьшению влияния этанола на  $Na^+,K^+$ -АТФазу плазматических мембран гепатоцитов крыс, снижая активность этого фермента. При введении уксуснокислого цинка наблюдается снижение активности  $Na^+,K^+$ -АТФазы по сравнению с соответствующими этапами в условиях алкогольной интоксикации на начальных этапах (на 4-ые и 7-ые сутки – на 20 % и 7 %, соответственно), а также на более поздних сроках эксперимента (на 16-ые и 21-ые сутки – на 54 % и 50 %, соответственно), в то время как на 11-ые сутки эксперимента наблюдается незначительное повышение активности фермента.



**Рис. 2. Активность  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы плазматических мембран клеток мозга крыс при хронической алкогольной интоксикации и при введении уксуснокислого цинка (1 – контроль; 2 – этанол; 3 – этанол + цинк).**

\* –  $P \leq 0,05$  по сравнению с контролем

# –  $P \leq 0,05$  по сравнению с экспериментальной моделью

В отличие от гепатоцитов, в клетках мозга при хронической алкоголизации было выявлено снижение активности  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы плазматических мембран на более ранних этапах исследования на 4-тые, 7-мые и 11-тые сутки (в 3, 16 и 5 раз, соответственно) в сравнении с контролем. В дальнейшем наблюдался резкий рост активности фермента на 16-тые и 21-ые сутки эксперимента (в 3 и 3,3 раза, соответственно) по сравнению с контролем (рис. 2).

При хронической алкогольной интоксикации введение уксуснокислого цинка приводило к снижению активности исследуемого фермента плазматических мембран клеток мозга крыс на 4-тые, 7-мые и 11-тые сутки эксперимента по сравнению с контролем (в 3, 20 и 15 раз, соответственно). На 21-ые сутки активность  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы возрастала в 1,8 раз по отношению к контрольным значениям. В сравнении с соответствующими сроками при действии этанола активность энзима на 11-тые, 16-тые и 21-ые сутки была соответственно в 3, 2,8 и 1,8 раз более низкой.

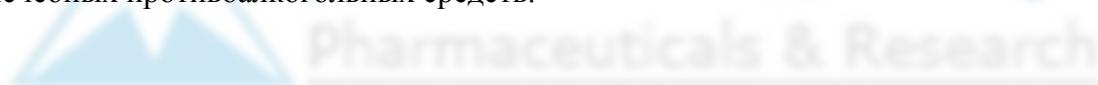
$\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФаза (АТФ-фосфогидролаза, КФ 3.6.1.37) – интегральный белок плазматических мембран клеток, который осуществляет энергозависимое противоположно направленное перенесение ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ .  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФаза вовлечена в многочисленные клеточные функции и процессы, связанные с существованием ионных градиентов, в частности в обеспечение электрической возбудимости нервной и мышечной тканей [12]. В то же время показано, что при разных патологических состояниях наблюдается ее инактивация [10]. Причиной этого может быть или прямое действие на фермент, или структурные изменения в мембране (например, в результате свободнорадикальных процессов при церебральной ишемии, сублетальном ионизирующем облучении), или многоуровневые нарушения тканеспецифичных клеточных механизмов регуляции

активности и экспрессии изоферментов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы при разных хронических патологических состояниях [3].

Известно, что этанол вызывает снижение текучести мембран. Согласно данным ряда авторов это сопровождается усилением активного трансмембранного транспорта  $\text{Na}^+$  в результате увеличения числа переносчиков и роста их родства к этому иону, а также стабилизации внутри- и внеклеточного обмена  $\text{Ca}^{2+}$ .

Существующие на сегодня данные относительно влияния этанола на активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы носят противоречивый характер. Так при изучении прямого действия этанола на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазу в опытах *in vitro* показано угнетение активности этого фермента [11]. Чувствительность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы к действию этанола *in vitro* зависит от целостности белок-липидного комплекса фермента в мембране [4]. Кроме того и от ее фосфолипидного окружения, в частности кислых фосфолипидов, которые обеспечивают формирование негативного заряда на поверхности мембран, чем обуславливают отталкивание между последними и притягивание поликатионных белков [2]. Полученные нами данные о содержании фосфолипидов при влиянии этанола и их коррекция при введении уксуснокислого цинка может быть одним из факторов показанных нами изменений активности фермента.

**Выводы.** Таким образом, нами показано, возрастание активности  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы плазматических мембран клеток печени и мозга крыс в динамике развития хронической алкогольной интоксикации. Введение уксуснокислого цинка приводило к снижению активности  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы. На основании полученных нами результатов, можно сделать вывод о перспективности его дальнейшего изучения с целью использования для коррекции метаболических нарушений, что может быть основой разработки новых лечебных противоалкогольных средств.



#### Список литературы:

1. Брандт З. Статистические методы анализа наблюдений. // М.: Мир, 1975. – 312 с.
2. Горчев В. Ф. Роль биологических мембран в энтропийных процессах живых организмов // Інформаційна та негентропійна терапія. – 1995. – № 2. – С. 4—9.
3. Капля А. А. Структурная организация и функциональная роль изоферментов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы // Киев: Киевский университет, 1998. – 162 с.
4. Мищук Д. О., Капля А. А. Влияние этанола на структурно-функциональные характеристики мембран коры головного мозга крыс *in vitro* // Укр. біохім. журн. – 2003. – Т. 75, № 2. – С. 55—61.
5. Петренко А. Ю., Сукач А. Н., Росляков А. Д. Выделение гепатоцитов крыс неферментативным методом: детоксикационная и дыхательная активность // Биохимия. – 1991. - Т. 56. - Вып. 9. – С. 1647—1650.
6. Рыбальченко В. К., Коганов М. М. Структура и функции мембран. Практикум – К.: „Вища школа” – 1988. – 254 с.
7. Халилов М. Х., Закиходжаев Ш. Я. К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации // Вопросы клиники алкоголизма: Сб. науч. тр., Ташкент, 1983. – С. 38—41.
8. Ещенко Ю. А. Вміст цинку в клітинах при різних функціональних станах інсулярного апарата підшлункової залози: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня

- канд. біол. наук: спец. 03.00.13 «Фізіологія людини і тварин» / Ю. А. Ещенко. – Київ, 2004. – 19 с.
9. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for quantities of utilizing the principle of protein binding // *Analytical Biochemistry*. – 1976. – V. 86. – P. 193—200.
10. [Jamme I.](#), [Barbey O.](#), [Trouvé P.](#) et al. Focal cerebral ischaemia induces a decrease in activity and a shift in ouabain affinity of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase isoforms without modifications in mRNA and protein expression // [Brain Res.](#) – 1999. – V. 20, № 819(1—2). – P. 132—142.
- 11.** 11. [Omodeo-Salé F.](#), [Lindi C.](#), [Palestini P.](#), [Masserini M.](#) Role of phosphatidylethanol in membranes. Effects on membrane fluidity, tolerance to ethanol, and activity of membrane-bound enzymes // [Biochemistry.](#) – 1991. – V. 5, № 30(9). – P. 2477—2482.
- 12.** [Scheiner-Bobis G.](#) The sodium pump. Its molecular properties and mechanisms of ion transport // *Eur J Biochem.* – 2002. – V. 269. – P. 2424—2433.

