

УДК:577.151.121:616.092.9

АТРазна АКТИВНІСТЬ АКТОМІОЗИНУ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ТА МАРКЕРИ УШКОДЖЕННЯ ТКАНИН У КРОВІ ЩУРІВ В УМОВАХ ТРИВАЛОЇ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛІЗАЦІЇ

Ю. В. ЦЕЙСЛЕР¹, О. М. ПОДПАЛОВА², Н. Є. НУРИЩЕНКО¹, В. С. МАРТИНЮК¹

¹ННЦ «Інститут біології», Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: yuliya.tseysler@gmail.com;

²Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна;
e-mail: olgapodpalova@gmail.com

Досліджено АТРазну активність актоміозину скелетних м'язів, активність креатинкінази плазми крові як маркерного ензиму пошкодження тканин організму та показники ліпідного обміну в крові щурів в умовах хронічної 8-місячної алкоголізації. Показано, що, починаючи з двох місяців вживання етанолу, підвищується K^+ -АТРазна активність, а до 6 місяців знижується Mg^{2+} -АТРазна активність актоміозину скелетних м'язів. З двох місяців вживання етанолу вірогідно зростає протягом усього періоду алкоголізації тварин активність креатинкінази крові. Одночасно підвищується вміст загальних ліпідів (в плазмі крові на 30, а в еритроцитарній масі на 65%). На триваліших термінах алкоголізації (4–8 місяців) вміст ліпідів у плазмі крові залишається підвищеним, тоді як в еритроцитарній масі повертається до контрольних значень. Вміст дієнових кон'югатів у плазмі знижується, а кількість кетонних похідних жирнокислотних залишків ліпідів збільшується, що вказує на пригнічення окремих ланок антиоксидантної системи, пов'язаних із детоксикацією гідропероксидів жирних кислот, і активацію процесів вільнорадикального пошкодження тканин. Вірогідних змін у вмісті продуктів перексидного окислення в еритроцитарній масі на жодному етапі алкоголізації не виявлено.

Ключові слова: етанол, креатинкіназа, ліпідний обмін, перексидне окислення ліпідів, АТРазна активність, актоміозин.

Проблема надмірного вживання алкоголю є традиційно актуальною як для багатьох країн світу, так і для України, зокрема. Тривале вживання алкоголю призводить до розвитку особливого патологічного стану – алкоголізму, що характеризується системними функціональними розладами, психічною і фізичною залежністю від етанолу [1].

Добре відомо, що головною патогенетичною ланкою дії алкоголю є активація різних нейромедіаторних систем в центральній нервовій системі, особливо системи катехоламінів і опіатів [2]. Ці нейромедіаторні системи визначають різні нейрофізіологічні ефекти, пов'язані з регуляцією порогу больової чутливості, формуванням емоцій і процесами контролю рухових і поведінкових реакцій. Порушення діяльності цих систем внаслідок хронічного споживання алкоголю спричинює розвиток алкогольної

залежності, наслідки якої виявляються на всіх рівнях – від організації метаболічних процесів у клітинах [3, 4] – до функціональних систем організму [2, 5–7].

Окрім того, безпосередню токсичну дію справляє продукт перетворення алкоголю в організмі – ацетальдегід, який спричинює розвиток системної хронічної інтоксикації. Найчутливішими до токсичної дії ацетальдегіду стінки судин, тканини печінки і мозку, а також слизова оболонка шлунково-кишкового тракту. Відомо також, що за хронічної алкоголізації страждають і скелетні м'язи. Крайньою формою алкогольного ураження м'язів є алкогольна міопатія [8], механізми розвитку якої до кінця не з'ясовано.

Відтак, за тривалого вживання алкоголю, скелетні м'язи зазнають як опосередкованого нейрофізіологічними ефектами, так і безпосеред-

нього пошкоджуючого впливу етанолу та його метаболіту – ацетальдегіду. Проте аналіз даних літератури свідчить про те, що експериментальні дослідження впливу алкоголю на структурно-функціональний стан скелетних м'язів не мають системного характеру. Склалась певна уявлення, що скелетні м'язи, порівняно з іншими тканинами організму, особливо з печінкою і нервовою системою, є стійкішими до токсичної дії етанолу та його окислених продуктів. Швидше за все, такі уявлення сформувались під впливом робіт, в яких експериментально досліджували гострий і відносно короткотривалий вплив етанолу. Можливо, з цієї причини в публікаціях однієї із провідних наукових установ в цій сфері досліджень National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (США) [9] інформація про ураження м'язової тканини за дії етанолу є недостатньо вичерпною, наприклад, метаболічні і структурно-функціональні зміни, що відбуваються в м'язах у разі довготривалого вживання алкоголю, залишаються не до кінця висвітленими.

Проте окремі дослідження свідчать про те, що довготривалий вплив алкоголю спричинює зміни і в скелетних м'язах [10–13]. Встановлено, що ускладнення алкоголізму супроводжуються розвитком алкогольних міопатій майже у 60% хворих [8, 14]. Однак біохімічні механізми розвитку цих важких клінічних патологій, що виявляються у зниженні маси м'язів, їхньою слабкістю, утрудненням ходи, в судомках, залишаються маловивченими. Зокрема, це стосується найважливішого скорочувального елемента м'язових волокон – актоміозинового комплексу, основними функціональними протеїнами якого є актин і міозин. Він виявляє АТРазну активність, тобто здатність розщеплювати молекули АТР, вивільнюючи при цьому енергію, необхідну для забезпечення скорочувальної діяльності м'язів.

Однією із причин деструкції м'язових клітин може бути інтенсифікація процесів перексидного окислення ліпідів (ПОЛ). Наочним показником патологічного стану організму є зміна рівня ліпідів у крові та продуктів ПОЛ, який часто оцінюють за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) та кетонових похідних ліпідів [15], і, як показано в деяких роботах, за вживання алкоголю ці показники можуть відхилитися від норми [1–18]. Водночас із цим показники перексидного окислення ліпідів є також важливими для оцінки глибини системного ушко-

дження різних тканин організму. Важливим маркером пошкодження тканин організму є рівень креатинкіназної активності в плазмі крові, оскільки цей тканинспецифічний ензим м'язів може виходити в кровоток у разі їх деструктивних змін [19]. Тому метою дослідження було оцінити пошкодження м'язів на основі вивчення АТРазної активності актоміозину скелетних м'язів, активності креатинкінази та системних змін ліпідного обміну і ПОЛ у крові щурів, які вживали алкоголь протягом 8 місяців.

Матеріали і методи

Досліди проводили на білих безпородних щурах-самцях вагою 150–200 г, які отримували впродовж всього дослідження стандартний раціон, що складався зі стандартизованих кормів віварію. Алкоголізацію тварин здійснювали за методикою [20] в авторській модифікації. Тварин відбирали на основі індивідуальної схильності їх до споживання розчину етилового спирту, що оцінювалась протягом двох тижнів щоденним вимірюванням кількості спожитого 5%-го розчину алкоголю.

Експериментальну групу становили щури, які перебуваючи в умовах вільного вибору, віддавали перевагу розчину алкоголю з першого дня тестування. Кількість споживаного спиртового розчину коливалася від 15 мл і вище на тварину. Після тестування концентрацію етилового спирту для експериментальних тварин наступні два тижні поступово підвищували від 5 до 36% із кроком в 10% і в подальшому не змінювали. Хронічну алкоголізацію тварин здійснювали протягом двох ($n = 7$), чотирьох ($n = 8$), шести ($n = 7$) та восьми ($n = 11$) місяців.

Паралельно з кожною експериментальною групою досліджували контрольну групу, до складу якої входили тварини, які характеризувалися повною відмовою від споживання алкоголю і яких утримували в аналогічних умовах віварію протягом експерименту. Декапітацію тварин здійснювали згідно з правилами роботи з експериментальними тваринами, прийнятими на засіданні комісії з питань біоетики ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка від 19 серпня 2013 р. (протокол № 36) у відповідні терміни експерименту (через 2, 4, 6 та 8 місяців).

Актоміозин виділяли зі скелетних м'язів щура за методикою Перрі, описаною в роботі

Тартаковського [21]. Визначення концентрації актоміозину проводили за допомогою біуретової реакції, яка є оптимальною для цього діапазону концентрацій (від 0,5 до 10 мг/мл) [22].

Mg²⁺- і K⁺-АТРазну активність актоміозину визначали за кількістю неорганічного фосфату (P_i, нмоль), який утворюється шляхом відщеплення від АТФ активними центрами міозинових молекул за методом [23]. Інкубаційне середовище для визначення Mg²⁺-АТРазної активності містило 20 мМ імідазольного буфера (рН 7,5), 0,08 М КСl, 2,5 мМ MgCl₂, 100 мкМ CaCl₂, 1 мМ АТФ (Sigma-Aldrich, США); у разі визначення K⁺-АТРазної активності додавали хелатор двовалентних іонів – 1 мМ етиленглікольбіс(β-аміноетил-етер)-N,N,N',N'-тетраоцтову кислоту (ЕГТА, Sigma-Aldrich, США).

Відомо, що за хронічної алкогольної міопатії страждають м'язові волокна швидкого скорочення типу ІІb (анаеробного), що спеціалізуються на подоланні короткочасних високоінтенсивних навантажень [24]. Тому для дослідження було обрано м'язи *plantaris* щурів, що містять переважно волокна цього типу. Досліджуючи кров, плазму гепаринізованої крові відокремлювали від еритроцитарної маси шляхом центрифугування на стандартній лабораторній центрифугі ОПН-3 при 3000 об./хв (максимальний фактор розділення 1670 g) протягом 5 хв.

Активність креатинкінази (2.7.3.2) в плазмі крові визначали згідно з протоколом для стандартного набору NAC Liquid 100 (Erba Lachema, Чеська Республіка). В основі методу лежить процес відновлення NADP у каскаді ензиматичних реакцій, який починається з реакції креатинфосфату плазми крові з ADP, що каталізується креатинкіназою. Активність ензиму оцінювали за зміною абсорбції дослідного зразка за довжини хвилі 340 нм на спектрофотометрі BioSpic-mini (Shimadzu Corporation, Японія).

Визначення концентрації ліпідів у плазмі крові та еритроцитарній масі щурів здійснювали за загальноприйнятою методикою [25], яка полягає у випарюванні гексанового екстракту ліпідів та додаванні 2%-го розчину хромової суміші з подальшою інкубацією на киплячій водяній бані. До охолоджених зразків додавали дистильовану воду, знов охолоджували і вимірювали на колориметрі на КФК-2 за довжини хвилі 90 нм. Стандартний розчин ліпідів містив 25 мг холестеролу та 25 мг пальмітинової кислоти в 50 мл гексану.

Розрахунок концентрації ліпідів здійснювали за формулою:

$$C_{\text{л}} = (1 \text{ мг} \times A_{\text{зр}}) / (A_{\text{ст}} \times V), \text{ мг/мл},$$

де 1 мг – вміст ліпідів в 1 мл стандартного розчину; A_{зр} – величина абсорбції досліджуваного зразка при λ = 590 нм; A_{ст} – величина абсорбції стандартного розчину при λ = 590 нм; V – об'єм гексанового екстракту (мл).

Активність пероксидного окислення ліпідів визначали за вмістом його молекулярних продуктів за методом Z. Placer [26] в авторській модифікації. Для цього відбирали по 0,4 мл плазми крові або еритроцитарної маси та додавали 8 мл гексан-ізопропанольної суміші у співвідношенні 1 : 1 за струшування з подальшою інкубацією протягом 30 хв. Після цього додавали по 2 мл 0,1 N HCl за інтенсивного струшування з подальшою інкубацією протягом 2 годин. Після розділення реакційної суміші на дві фракції з верхньої фракції брали по 1 мл гексанового екстракту ліпідів і реєстрували спектр поглинання на BioSpek-mini (Shimadzu Corporation, Японія) в діапазоні λ = 200–400 нм. За значеннями абсорбції за довжини хвилі λ = 233 нм визначали рівень дієнових кон'югатів, а за λ = 272 нм – рівень кетонів похідних, які виражали в умовних одиницях на 1 мг ліпідів у гексановому екстракті за формулою:

$$\text{ПОЛ} = A / (1 \text{ мл} \times C_{\text{л}}), \text{ ум. од./мг ліпідів},$$

де A – абсорбція гексанового екстракту за λ = 233 нм або λ = 272 нм, C_л – концентрація ліпідів у гексановому екстракті мг/мл.

Статистичну обробку експериментальних результатів проводили за загальноприйнятими алгоритмами варіаційної статистики [27], вірогідність різниці між статистичними вибірками оцінювали за t-критерієм Стьюдента (різницю вважали вірогідною за умови P < 0,05).

Результати та обговорення

Дослідження АТРазної активності актоміозину скелетних м'язів *plantaris* показало, що Mg²⁺-АТРазна активність впродовж чотирьох місяців вживання етанолу зберігалась у межах норми, а в період до 6 місяців знижувалась на 30%, а до 8 місяців – на 40% відносно результатів, одержаних для контрольних груп (рис. 1, А).

K⁺-АТРазна активність актоміозину м'язів *plantaris* зростала на 32% відносно контрольної

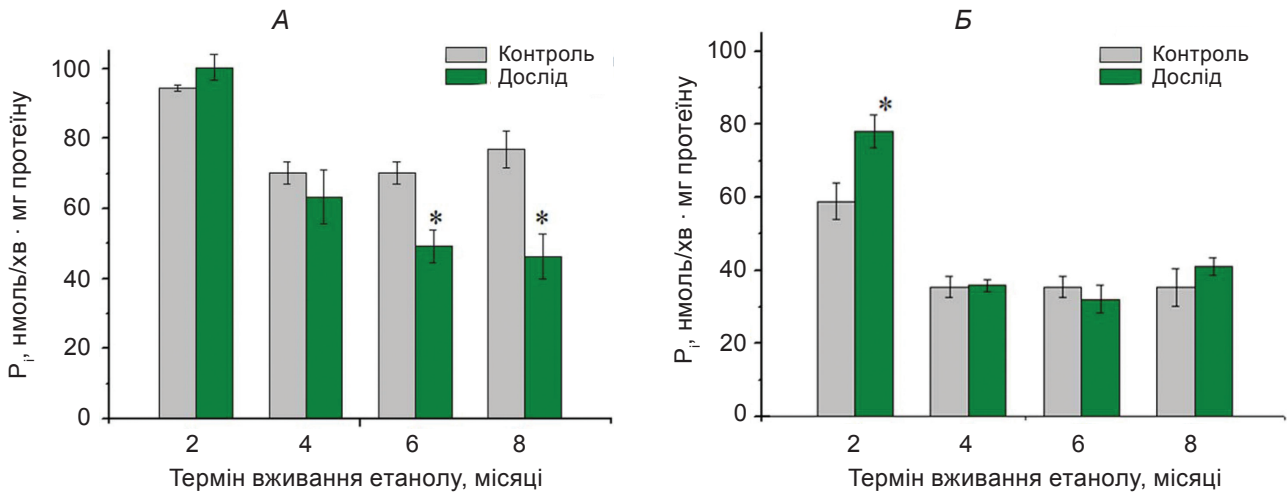


Рис. 1. Mg^{2+} -АТРаза і K^{+} -АТРаза активність (А і Б відповідно) актоміозину (нмоль/хв·мг) в скелетних м'язах *plantaris* щурів в умовах хронічної алкоголізації протягом 2 ($n = 7$), 4 ($n = 8$), 6 ($n = 7$) та 8 ($n = 11$) місяців. Тут і на рис. 2–5: * вірогідні зміни порівняно з контрольною групою на рівні статистичної значущості $P < 0,05$

го рівня через 2 місяці вживання алкоголю, але повертається до рівня контролю на пізніших строках вживання етанолу (рис. 1, Б).

Результати вивчення креатинкіназної активності показали, що зі збільшенням терміну вживання алкоголю в плазмі крові відбувається майже лінійне зростання цього показника порівняно з контрольними групами, на 79, 101, 224 та 254% відповідно після 2, 4, 6 та 8 місяців алкоголізації (рис. 2). Водночас, за умов довготривалого вживання етанолу також відбуваються зміни загального вмісту ліпідів та продуктів ПОЛ у плазмі крові. Зокрема, в тварин спостерігається вірогідне збільшення вмісту ліпідів у плазмі крові (рис. 3, А), яке майже не залежить від тривалості прийому тваринами етанолу. У піддослідних тварин воно становить 31, 31, 37 і 34% порівняно з контролем після 2, 4, 6 і 8 місяців алкоголізації відповідно.

Вміст загальних ліпідів в еритроцитарній масі вірогідно підвищується на 65% тільки протягом перших двох місяців алкоголізації (рис. 3, Б), після чого цей показник на фоні вірогідних сезонних і вікових змін у тварин вірогідно не відрізняється від контрольних значень.

Результати аналізу продуктів ПОЛ у плазмі крові свідчать про різноспрямований характер змін концентрації ДК та кетонових похідних ліпідів. Так, вміст ДК майже лінійно вірогідно знижується за алкоголізації на 8, 19, 22 та 21% відносно контролю після 2, 4, 6 і 8 місяців

алкоголізації відповідно ($P < 0,05$) (рис. 4, А). В еритроцитарній масі вірогідних відмінностей у вмісті ДК між контрольними та експериментальними групами не виявлено (рис. 4, Б).

На відміну від ДК, вміст кетонів у плазмі крові зазнає збільшення на 13, 28, 40 та 15% порівняно з контролем після 2, 4, 6 і 8 місяців вживання етанолу відповідно ($P < 0,05$) (рис. 5, А). Що стосується цього показника відносно еритроцитарної маси, то порівняно з контролем вірогідних змін не виявлено (рис. 5, Б).

Отже, хронічна алкоголізація вже протягом перших двох місяців супроводжується ушко-

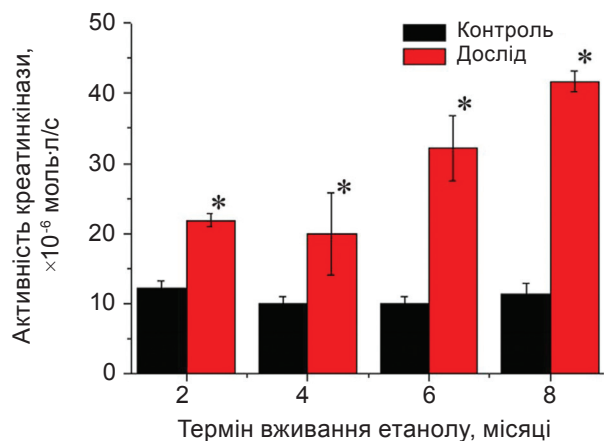


Рис. 2. Активність креатинкінази в плазмі крові щурів (моль/л·с) в умовах хронічної алкоголізації протягом 2 ($n = 7$), 4 ($n = 8$), 6 ($n = 7$) та 8 ($n = 11$) місяців

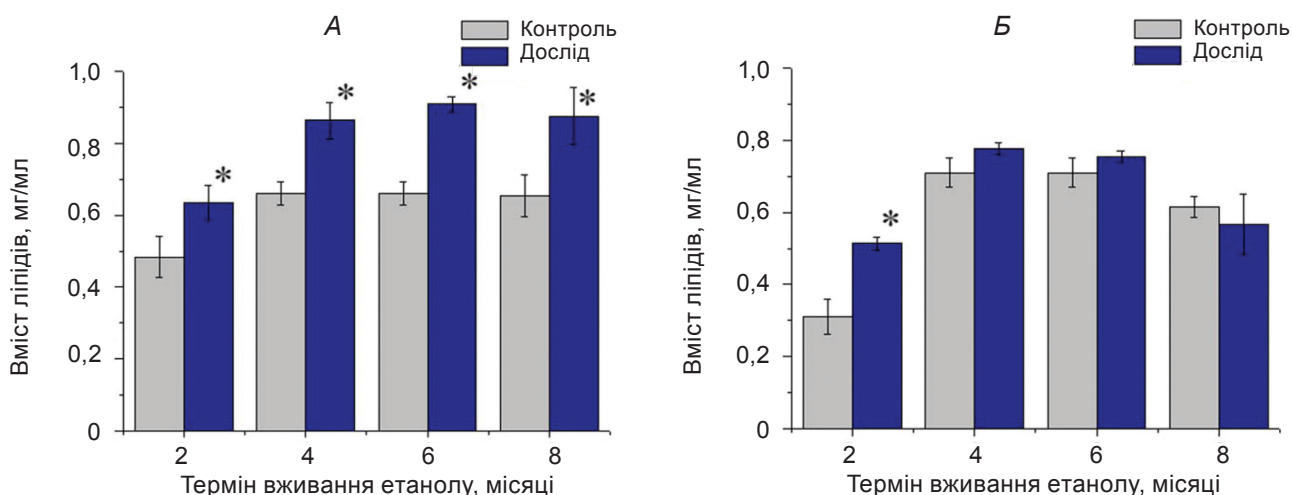


Рис. 3. Вміст загальних ліпідів у плазмі крові (А) та еритроцитарній масі (Б) щурів в умовах хронічної алкоголізації протягом 2 (n = 7), 4 (n = 8), 6 (n = 7) та 8 (n = 11) місяців (мг/мл)

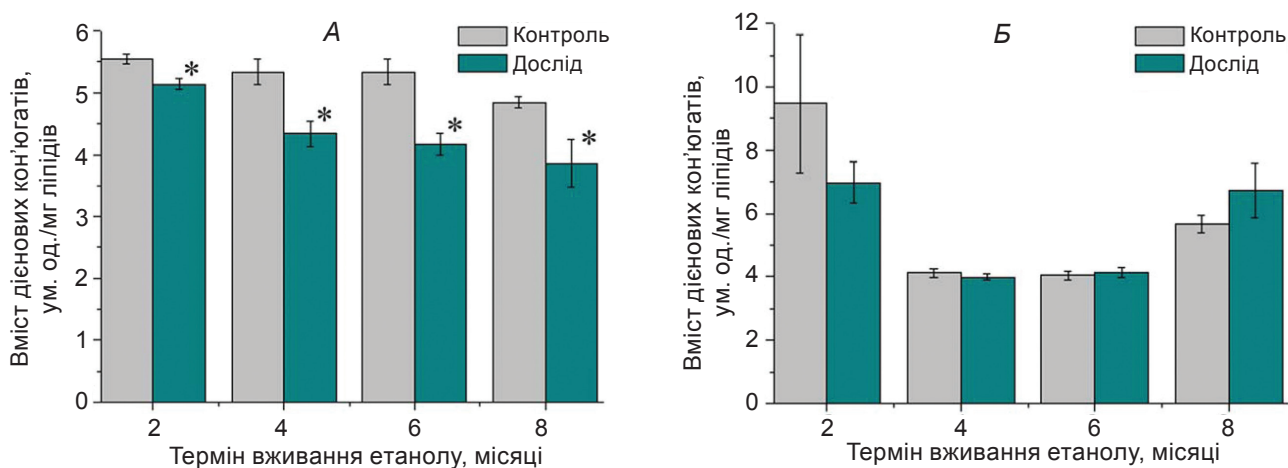


Рис. 4. Вміст дієнових кон'югатів у плазмі крові (А) та еритроцитарній масі (Б) щурів (ум. од./мг ліпідів) в умовах хронічної алкоголізації протягом 2 (n = 7), 4 (n = 8), 6 (n = 7) та 8 (n = 11) місяців відносно контролю

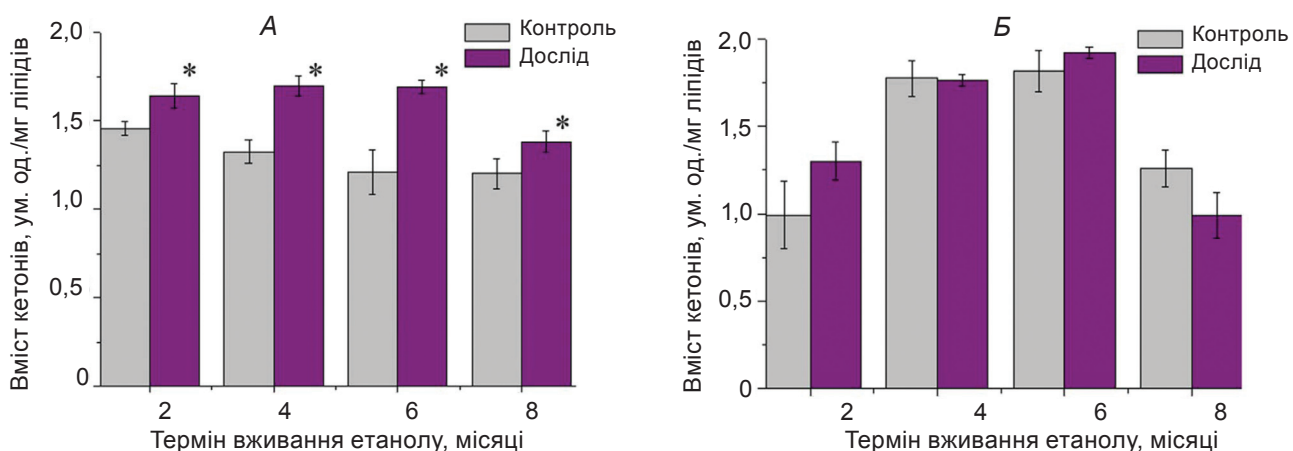


Рис. 5. Вміст кетонів у плазмі крові (А) та еритроцитарній масі (Б) щурів (ум. од./мг ліпідів) в умовах хронічної алкоголізації протягом 2 (n = 7), 4 (n = 8), 6 (n = 7) та 8 (n = 11) місяців відносно контролю

дженням скелетного м'язу, а також модифікацією актоміозинового протейнового комплексу, що є основною одиницею м'язового скорочення. Це призводить до змін його функціональної активності і виражається в підвищенні K^+ -АТРазної активності актоміозину чутливих до алкоголю м'язів *plantaris* щурів. Через 6 місяців розвиваються вираженіші зміни АТРазної активності актоміозину, а саме зниження Mg^{2+} -АТРазної активності, які посилюються до 8-го місяця вживання етанолу.

Із даних літератури відомо [28], що підвищення активності креатинкінази, тканиноспецифічного ензиму м'язів, у плазмі крові спостерігається через його вихід із клітин у разі їх пошкодження, тому одержані нами результати можуть свідчити про розвиток деструктивних процесів у структурі м'язових клітин в умовах хронічної алкоголізації. При цьому деструктивні зміни безпосередньо залежать від тривалості алкоголізації, оскільки величина креатинкіназної активності в нашому дослідженні практично лінійно зростає зі збільшенням терміну вживання алкоголю. Це свідчить про поступовий розвиток деструктивних процесів у м'язових тканинах щурів. Слід відмітити, що певний внесок у зміни активності цього ензиму в крові можуть мати деструктивні процеси і в нервовій системі [29].

Стале підвищення вмісту загальних ліпідів приблизно на 30% у плазмі крові алкоголізованих тварин свідчить про помітні зміни ліпідного обміну в організмі внаслідок активації обміну жирів або/і уповільнення їх катаболізму. З іншого боку, фазне підвищення вмісту загальних ліпідів в еритроцитарній масі тварин після їх двомісячної алкоголізації, ймовірно, може свідчити про прояв певної неспецифічної адаптаційної реакції системи крові тварин на етанол, подальший розвиток якої призводить до часткової нормалізації структурно-функціонального стану еритроцитів.

Протилежно спрямовані зміни вмісту ДК і кетонів похідних ліпідів у плазмі крові в умовах хронічного вживання алкоголю, на наш погляд, свідчать про те, що в тканинах залежно від тривалості вживання етанолу пригнічується активність окремих ланок антиоксидантної системи. Це призводить до активації процесів ПОЛ і прискорення подальшої неензиматичної деградації первинних продуктів пероксидного

окислення – ДК, що, у свою чергу, сприяє накопиченню більш окислених продуктів – кетонів і альдегідів. Відомо [30], що підвищений вміст у плазмі кетонів похідних ліпідів є характерним для багатьох патологічних станів – гостре і хронічне запалення, різні види інтоксикації, цукровий діабет, голодування, важке фізичне навантаження тощо. З іншого боку, в серії досліджень показано, що за дії етанолу в гепатоцитах та інших тканинах щурів помітно зменшується рівень відновленого глутатіону і знижується активність глутатіонпероксидази [31, 32]. Таким чином, в наших дослідженнях факт підвищення рівня кетонів на фоні зниження вмісту ДК свідчить про збільшення вільнорадикального окислення ліпідів в умовах тривалої алкоголізації щурів. Разом з тим, рівень кетонів похідних ліпідів у крові зростає відповідно до зростання загального вмісту ліпідів, що свідчить про відсутність принципових змін у ступені їх ушкодження.

Загальновідомо [33], що підвищення проникності мембран нервових волокон і саркоплазматичного ретикулума міоцитів під впливом ПОЛ гальмує передачу рухових нервових імпульсів і, тим самим, знижує скоротливі можливості м'язів. Водночас з цим вільнорадикальне пошкодження мітохондріальних мембран знижує ефективність окисного фосфорилування, що веде до зменшення енергетичного енергозабезпечення м'язової тканини. Підвищення проникності оболонки м'язових клітин може призвести до втрати м'язовими клітинами багатьох важливих метаболітів і ферментів, зокрема креатинкінази. Отже, в масштабі всього організму активація ПОЛ позначається на можливостях аеробного енергозабезпечення, на скоротливій здатності м'язів і працездатності організму в цілому.

Таким чином, результати наших досліджень свідчать про те, що в щурів в умовах їх тривалої 8-місячної алкоголізації розвивається пошкодження м'язів, яке виявлялося в зміні АТРазної активності актоміозину скелетних м'язів та в істотному зростанні активності креатинкінази в плазмі крові. Однією із причин пошкодження м'язових структур та руйнування мембран клітин є активація вільнорадикального окислення ліпідів. Водночас з цим пригнічення антиоксидантної системи призводить до утворення окисленіших продуктів ПОЛ. Сталі

системні порушення обміну ліпідів, що виявляються у вигляді підвищення загальних ліпідів і активації їх вільнорадикального окислення, розвиваються в щурів відносно швидко, а потім зберігаються і посилюються протягом всього періоду вживання алкоголю. Такі зміни є проявом системних механізмів негативного впливу алкоголю, в тому числі і на м'язову діяльність.

Робота виконана за підтримки Гранта президента України для обдарованої молоді (2014 р.).

**АТРазная АКТИВНОСТЬ
АКТОМИОЗИНА СКЕЛЕТНЫХ
МЫШЦ И МАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ
ТКАНЕЙ В КРОВИ КРЫС В
УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОЙ
ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ**

*Ю. В. Цейслер¹, О. Н. Подпалова²,
Н. Е. Нурищенко¹, В. С. Мартынюк¹*

¹УНЦ «Институт биологии», Киевский
национальный университет имени
Тараса Шевченко, Украина;
e-mail: yuliya.tseysler@gmail.com;

²Национальный медицинский университет
им. А. А. Богомольца, Киев, Украина;
e-mail: olgapodpalova@gmail.com

Изучена АТРазная активность актомиозина скелетных мышц, активность креатинкиназы плазмы крови как маркерного фермента повреждения тканей организма и показатели липидного обмена в крови крыс в условиях хронической 8-месячной алкоголизации. Показано, что, начиная с двух месяцев потребления этанола, повышается К⁺-АТРазная активность, а к шести месяцам снижается Mg²⁺-АТРазная активность актомиозина скелетных мышц. С двух месяцев употребления этанола достоверно увеличивается в течение всего периода алкоголизации животных активность креатинкиназы крови. Одновременно повышается содержание общих липидов (в плазме крови на 30, а в эритроцитарной массе на 65%). При более длительных периодах алкоголизации (4–8 месяцев) уровень липидов в плазме крови сохраняется повышенным, тогда как в эритроцитарной массе не отличается от контрольных значений. Содержание диеновых конъюгатов в плазме крови снижается, а количество кетоновых производных жирно-

кислотных остатков липидов – увеличивается, что указывает на угнетение отдельных звеньев антиоксидантной системы, связанных с детоксикацией гидропероксидов жирных кислот, и на активацию процессов свободнорадикального повреждения тканей. Достоверных изменений в содержании продуктов пероксидного окисления в эритроцитарной массе ни на одном этапе алкоголизации не выявлено.

Ключевые слова: этанол, креатинкиназа, липидный обмен, пероксидное окисление липидов, АТРазная активность, актомиозин.

**ACTOMYOSIN ATPase ACTIVITY
OF SKELETAL MUSCLES AND
THE MARKERS OF TISSUE
DAMAGE IN THE BLOOD OF RATS
UNDER PROLONGED CHRONIC
ALCOHOLIZATION**

*Yu. V. Tseyslyer¹, O. M. Podpalova²,
N. E. Nurishchenko¹, V. S. Martyniuk¹*

¹ESC Institute of Biology, Taras Shevchenko
National University of Kyiv, Ukraine;
e-mail: yuliya.tseysler@gmail.com,

²Bogomolets National Medical
University, Kyiv, Ukraine;
e-mail: olgapodpalova@gmail.com

The activity of creatine kinase and indices of lipid metabolism in the blood and also actomyosin ATPase activity of skeletal muscles of rats under chronic 8-month alcohol abuse were investigated. It is shown that actomyosin K⁺-ATPase activity of skeletal muscles increases from two months of ethanol use, but actomyosin Mg²⁺-ATPase activity decreases during 6-8 months of alcoholization. From two months of ethanol use the creatine kinase activity, as an enzyme marker of muscle tissue damage, statistically significantly increases during all the period of the animals alcoholization. The level of total lipid increases after two months of alcohol consumption (in blood plasma by 30% and in erythrocyte mass by 65%). For longer periods of alcoholization (4-8 months) the level of lipids remains almost the same, whereas in erythrocyte mass it does not differ from control values. The level of diene conjugates in the blood plasma reduces and the amount of ketone derivatives of fatty acid residues increases that points to the inhibition of some components of the antioxidant system that control detoxification of

hydroperoxides of fatty acids and also to activation of free radical damage of tissues. There were no significant changes of lipid peroxidation level in erythrocyte mass at any stage of alcoholization.

Key words: ethanol, creatine kinase, lipid metabolism, lipid peroxidation, actomyosin, ATPase activity.

References

1. Permyakov A. V., Viter V. I. Patomorfologija and thanatogenesis of alcohol intoxication. Izhevsk: Examination, 2002. 240 c. (In Russian).
2. David M. Lovinger Communication networks in the brain: neurons, receptors, neurotransmitters, and alcohol. *Alcohol Res. Health*. 2008;31(3):196-214.
3. National Institute of Alcohol Abuse and Alcoholism. Alcohol Alert. Alcohol metabolism: up date. 2007;72:1-6.
4. Mishchuk D. O., Kaplia A. A. State of the Na⁺, K⁺-ATPase of rat cerebral cortex in the postnatal period in terms of ethanol consumption by females during pregnancy and lactation. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2002;74(6):58-64. (In Russian).
5. Kaplia A. A., Babich L. V., Mishchuk D. O., Didenko N. V. The comparative characteristic of short-term and long-term ethanol effects on the rat organism state. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2005;77(6):73-78. (In Russian).
6. National Institute of Alcohol Abuse and Alcoholism. Alcohol Alert. *Alcohol Liver Dis.* 2005;64:1-6.
7. National Institute of Alcohol Abuse and Alcoholism. Alcohol Alert. Alcohol's Damaging Effects on the Brain – 2004;63:1-8.
8. Kazantsev Yu., Zinoviev A., Shenkman B. Chronic alcoholic myopathy. Pathogenetic mechanisms. LAP Lambert Academic Publishing, 2011. 100 p. (In Russian).
9. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. Publications. <http://www.niaaa.nih.gov/publications>.
10. Fernandez-Sola J., Preedy V. R., Lang C. H., Gonzalez-Reimers E., Arno M., Lin J. C., Wiseman H., Zhou S., Emery P. W., Nakahara T., Hashimoto K., Hirano M., Santolaria-Fernández F., González-Hernández T., Fatjó F., Sacanella E., Estruch R., Nicolás J. M., Urbano-Márquez A. Molecular and cellular events in alcohol-induced muscle disease. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2007;31:1953-1962.
11. Preedy V. R., Ohlendieck K., Adachi J., Koll M., Sneddon A., Hunter R., Rajendram R., Mantle D., Peters T. J. The importance of alcohol-induced muscle disease. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 2003;24(1):55-63.
12. Urbano-Marquez A., Fernandez-Sola J. Effects of alcohol on skeletal and cardiac muscle. *Muscle Nerve*. 2004;30:689-707.
13. Vary T. C., Nairn A. C., Lang C. H. Restoration of protein synthesis in heart and skeletal muscle after withdrawal of alcohol. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2004;28:517-525.
14. Fernandez-Sola J., Preedy V. R., Lang C. H., Gonzalez-Reimers E., Arno M., Lin J. C., Wiseman H., Zhou S., Emery P. W., Nakahara T., Hashimoto K., Hirano M., Santolaria-Fernández F., González-Hernández T., Fatjó F., Sacanella E., Estruch R., Nicolás J. M., Urbano-Márquez A. Molecular and cellular events in alcohol-induced muscle disease. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2007;31:1953-1962.
15. Medical laboratory technology. B. R. Ed. A. I. Karpishchenko. St. Petersburg: Intermedika, 2002. 2. 600 p. (In Russian).
16. Govoril A. V., Gerasimov A. I., Filev A. P. Changes in serum lipids in alcoholic heart lesion. *Alcoholic Dis.* 1997;(9):112-115. (In Russian).
17. Crabb D. W., Liangpunsakul S. Alcohol and lipid metabolism. *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2006;21:S56-S60.
18. Lussier-Cacan S., Bolduc A., Xhignesse M., Niyonsega T., Sing C. F. Impact of alcohol intake on measures of lipid metabolism depends on context defined by gender, body mass index, cigarette smoking, and apolipoprotein E genotype. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002;22:824-831.
19. Adachi J., Asano M., Ueno Y., Niemelä O., Ohlendieck K., Peters T. J., Preedy V. R. Alcoholic muscle disease and biomembrane perturbations. *J. Nutr. Biochem.* 2003;14(11):616-25.
20. Bardina L. R., Satanovs'ka V. I. Metabolic adaptation to alcohol in rats that differ in ethanol preference water. *Vopr. Med. Khim.* 1999;45(2):117-122. (In Russian).
21. Tartakovsky A. D. / Comp.: Biophysical and biochemical methods for investigating muscle proteins / Ed. Ivanitskogo G. R. L.: Nauka, 1978. P. 55-76. (In Russian).
22. Doson R., Elliot D., Elliot U., Jones K. Spravochnik biokhimika. M.: Mir, 1991. P. 465-466. (In Russian).

23. Kamyshnikov V. S. Handbook of clinical and biochemical studies and laboratory diagnosis. M.: MEDpres-Inform, 2004. P. 672-677. (In Russian).
24. Worrall S., Niemela O., Parkkila S., Peters T.J., Preedy V. R. Protein adducts in type I and type II fibre predominant muscles of the ethanol-fed rat: preferential localisation in the sarcolemmal and subsarcolemmal region. *Eur. J. Clin. Invest.* 2001;31(8):723-730.
25. Biochemical research methods in clinic. Ed. A. A. Pokrovsky M.: Meditsina, 1969. P. 287-288. (In Russian).
26. Placer Z. Lipoperoxydations systeme im biologischen / Material 2. Mitt. Bestimmung der Lipoperoxydation im Säugetier organismus. *Food. Nahrung.* 1968;12:679-684.
27. Glantz S. Biomedical Statistics. M.: Praktika, 1998. 459 p. (In Russian)
28. Manfredi T. G., Fielding R. A., O'Reilly K. P., Meredith C. N., Lee H. Y., Evans W.J. Plasma creatine kinase activity and exercise-induced muscle damage in older men. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1991;23(9):1028-1034.
29. Segal M., Avital A., Rusakov A., Sandbank S., Weizman A. Serum creatine kinase activity differentiates alcohol syndromes of dependence, withdrawal and delirium tremens. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2009;19:92-96.
30. Campbell M. K., Farrell S. O. Biochemistry. 5th. Cengage Learning, 2006. P. 579.
31. Dvorshchenko C. O., Berven O. L., Gaida L. M., Stepanov Yu. V. Antioxidant system of rat hepatocytes under conditions of ulcers of the stomach. *Phys. Live.* 2009;17(2):98-101. (In Ukrainian).
32. Maksymovych S., Kharchenko O., Ogorodnik L., Vereshchaka V., Raksha N., Kovalova V., Bogun L., Sokur O., Ostapchenko L. Research of molecular-cell processes in normal and under pathology in conditions of action of exo- and endogenic factors, biologically active matter and substance. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: «Problems of Physiologic Functions Regulation»*, 2012;15:17-22. (In Ukrainian).
33. Vladimirov Y. A., Azizov O. A., Deev A. I., Kozlov A. V. Free radicals in living systems: collection. VINITI. Results of science and technology. Series: Biophysica. M., 1991;29:249 p. (In Russian).

Отримано 04.09.2012