

ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ КРОВИ ПОТОМСТВА КРЫС, ЗАЧАТЫХ ОТЦОМ В АЛКОГОЛЬНОМ ОПЬЯНЕНИИ

© 2024 С.К. Судаков*, Н.Г. Богданова, Г.А. Назарова, Н.Н. Золотов

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина,
125315 Москва, Россия; электронная почта: s-sudakov@mail.ru

Поступила в редакцию 22.05.2024

После доработки 16.07.2024

Принята к публикации 06.08.2024

Достаточно часто зачатие ребёнка происходит после употребления небольших доз алкоголя. Тем не менее влияние данного фактора на потомство совершенно не изучено. Целью настоящего исследования было изучение уровня двигательной активности, тревожно-подобного и депрессивно-подобного поведения, чувствительности к анальгетическому действию этанола, а также активности ферментов дипептидилпептидазы IV (DPP-IV), пролилэндопептидазы (PER) и алкогольдегидрогеназы (ADG) в крови крыс, отцам которых непосредственно перед спариванием однократно через зонд в желудок вводили этанол в дозе 0,5 или 1,5 г/кг. В результате проведённых экспериментов было обнаружено, что у самцов, зачатых отцами, находящимися в состоянии алкогольного опьянения, имеются существенные отличия в поведении по сравнению с обычными животными. Так, двигательная активность у крыс, зачатых самцами в алкогольном опьянении, была в 2–2,5 раза менее интенсивной, у них снижалась выраженность тревожно-подобного и депрессивно-подобного поведения. У таких животных была увеличена активность DPP-IV и ADG и снижена активность PER в крови. У крыс, зачатых отцами, находящимися в состоянии алкогольного опьянения, уменьшался анальгетический эффект этанола, а также наблюдалось снижение реакции изменения активности ADG, DPP-IV и PER в ответ на введение этанола. Предполагается, что однократное употребление этанола самцами крыс непосредственно перед спариванием приводит у потомства к эпигенетическому изменению экспрессии генов, наследуемых по отцовской линии. В результате этого может изменяться активность ряда ферментов, что приводит к изменению баланса нейропептидов, участвующих в формировании поведения животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: этанол, потомство, алкогольдегидрогеназа, пептидазы, плазма крови, флуориметрический анализ, открытое поле, приподнятый крестообразный лабиринт, горячая пластина.

DOI: 10.31857/S0320972524110077 EDN: IKRJTH

ВВЕДЕНИЕ

Показано, что употребление алкоголя во время беременности оказывает значительное негативное влияние на поведение будущего потомства [1, 2]. Также имеются отдельные сведения о том, что существенное злоупотребление этанолом отцом в течение длительного периода времени перед зачатием может влиять на поведение по-

томства. Так, у потомства алкоголизированных мышей возникали дефицит внимания и гиперактивность [3], гипоактивность [4], нарушения обучаемости [5], снижение уровня тревожности [6], снижение чувствительности к этанолу [7] и снижение влечения к алкоголю [8]. По неофициальным данным, во всём мире и особенно в России не менее 20% всех зачатий происходит после употребления умеренных количеств этанола. Однако влияние данного фактора на поведение будущего потомства практически не изучено. Нам удалось обнаружить только две работы, посвящённые влиянию однократного потребления самцом этанола в существенной дозе перед спариванием.

Принятые сокращения: ADG – алкогольдегидрогеназа; DPP-IV – дипептидилпептидаза IV; PER – пролилэндопептидаза.

* Адресат для корреспонденции.

Отмечалось, что у потомства часто возникают пороки развития [9], а также потомки менее острожны и более агрессивны, чем «нормальные» животные [10].

Поведение человека и животных в большой степени определяется нейромедиаторными и нейромодуляторными процессами в центральной нервной системе. Важную роль в этом играют различные нейропептиды, количество которых в существенной мере зависит от активности ферментов их деградации. Так, дипептидилпептидаза IV (DPP-IV) участвует в расщеплении таких пептидов, как факторы роста, хемокины, инкретины, нейропептиды и вазоактивные пептиды. Показано, что DPP-IV участвует в формировании толерантности и зависимости от этанола [11].

Пролилэндопептидаза (PER) принимает участие в деградации многих пептидных гормонов и нейропептидов. Роль PER в действии этанола на организм человека и животных изучена мало.

Активность DPP-IV и PER может служить маркером агрессивного поведения [12], выраженности тревожности [13] или депрессии [14]. Показано, что больные алкоголизмом имеют крайне низкую активность DPP-IV и PER [15].

Ферментом, расщепляющим эндогенный и экзогенный этанол, является алкогольдегидрогеназа (ADG). Роль этого фермента в чувствительности к действию этанола хорошо изучена [16].

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования было изучение уровня двигательной активности, тревожно-подобного и депрессивно-подобного поведения, чувствительности к анальгетическому действию этанола, а также активности ферментов DPP-IV, PER и ADG в крови крыс, отцы которых непосредственно перед спариванием получали этанол.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Эксперименты выполнены на крысах линии Вистар, полученных из питомника «Столбовая» (Москва, Россия). Животные содержались в вентилируемых клетках Techniplast green line 1500U («Techniplast», Италия) с натуральной кукурузной подстилкой («Золотой Кот», Воронеж, Россия) по 4–5 особей, со свободным доступом к воде и стандартным комбинированным кормом (3 ккал/г; «Профгрызун», Москва, Россия) при средней температуре в помещении 21 °С, средней влажности 20%, при наличии освещения (90 люкс) с 20:00 до 08:00.

Процедура спаривания. Для спаривания были использованы крысы массой 210–240 г (самцы) и 170–200 г (самки) в возрасте 2–3 месяцев. Были сформированы 3 группы самцов и самок

по 4 крысы каждого пола с одинаковым средним уровнем двигательной активности в группах. Самку в состоянии эструса ссаживали с самцом на 24 часа. В момент спаривания в каждой экспериментальной клетке находились 1 самец и 1 самка.

Самцы 1-й (контрольной) группы получали внутрижелудочно воду. Самцам крыс 2-й и 3-й группы непосредственно перед спариванием через специальный зонд в желудок вводили 20%-ный раствор этанола в дозе 0,5 или 1,5 г/кг. Самцы получали растворы сразу после начала ухаживания, а затем снова помещались к самке. Самкам крыс ничего не вводили. В каждой группе принесли потомство по три самки из четырёх.

Исследование потомства. В результате спаривания контрольных животных родилось 15 самцов и 16 самок. При спаривании с участием отцов, получавших 0,5 г/кг этанола, родилось 15 самцов и 16 самок, и при участии самцов, потреблявших 1,5 г/кг этанола – 16 самцов и 16 самок. В дальнейших исследованиях использовали только самцов. У 46 самцов, зачатых в условиях, описанных выше, изучали поведение в возрасте с 2 до 3 месяцев. У всех этих животных последовательно, с интервалом в 3–5 дней, определяли уровень двигательной активности, поведение в тестах «открытое поле», «крестообразный приподнятый лабиринт» и «подвешивание за хвост». В заключение у них определяли чувствительность к анальгетическому действию этанола в тесте «горячая пластина». Через 72 часа после введения этанола и определения его анальгетического действия животных декапитировали и проводили забор крови для биохимических исследований.

Определение уровня двигательной активности. Крыс индивидуально помещали на 60 мин в экспериментальные камеры «Phenomaster» («TSE Systems», Германия), где у них автоматически определялась общая горизонтальная двигательная активность, двигательная активность в центре и количество стоек в течение 60 мин с интервалом в 10 мин. При этом экспериментальные камеры были идентичны «домашним» клеткам, в которых крысы содержались ранее для минимизации стрессирующего эффекта. Эксперименты проводили с 11 до 15 часов в отсутствии освещения. Одновременно использовали 8 камер «Phenomaster».

Определение поведения в «открытом поле». «Открытое поле» представляло собой круглую арену диаметром 98 см, окружённую стенками высотой 31 см («OpenScience», Россия, модель TS0501-R). Арена разделена линиями на 7 центральных и 12 периферийных секторов. Арена равномерно освещалась медицинской лампой (освещённость поверхности арены – 450 люкс). Для теста крысу

помещали в центр арены и наблюдали горизонтальную активность (общее количество пересечённых квадратов), количество стоек и выходов в центр в течение 5 мин.

Определение уровня тревожно-подобного поведения в крестообразном приподнятом лабиринте. В тесте был использован аппарат «The Elevated Plus Maze» («Columbus Instruments», США). Это крестообразная платформа с четырьмя рукавами (длина – 50 см, ширина – 15 см). Два противоположных рукава лабиринта имеют высокие непрозрачные стены, тогда как два других открыты. Высота стенок закрытых рукавов составляет 43 см. Лабиринт поднят на высоту 75 см. Центральная часть аппарата составляет 15 см². Освещённость поверхности лабиринта – 90 люкс. Крысу помещали на 5 мин в центр платформы и измеряли количество переходов из отсека в отсек, а также время, проведённое в центре, на закрытых и открытых рукавах аппарата.

Определение уровня депрессивно-подобного поведения в тесте «подвешивание за хвост». Суть теста состоит в том, что каждая крыса при помощи липкой ленты и специального крепления подвешивается вниз головой за хвост на 6 мин (установка «TSE Systems», Tail Suspension Monitor, 303590 series). Детектируются длительность (с) и число периодов иммобилизации, длительность (с) и число периодов активных и пассивных движений. Под активными движениями понимают энергичные движения всем телом животного и кручение вокруг оси в тесте. За пассивные движения принимали неторопливое движение одной или двумя лапами и движения головой, а именно раскачивание или подёргивание усами. Все остальные неподвижные зависания учитывались как иммобилизация.

Определение чувствительности к анальгетическому действию этанола. Животные каждой из трёх групп для этого теста были рандомизированы по уровню двигательной активности и разделены на 2 подгруппы: крысам первой подгруппы за 30 мин до теста внутрижелудочно вводили 20%-ный этанол в дозе 1,5 г/кг. Крысы второй подгруппы в каждой группе получали изотонический раствор хлорида натрия. Каждое животное помещали на поверхность прибора «Hot plate» («TSE Systems»), имеющего температуру 56 °С. Измеряли латентный период начала облизывания лап.

Определение активности ферментов. Пробо-подготовка. Активность ADG, PEP и DPP-IV определяли в плазме крови, для получения которой использовали пробирки с ЭДТА. Пробы центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об./мин. Плазму переносили в чистые пробирки и хранили при температуре –70 °С до проведения исследования.

Флуориметрический метод определения активности PEP и DPP-IV. Метод основан на флуориметрическом определении освобождающегося в процессе ферментативной реакции с пептидом Z-Ala-Pro-MCA (для PEP) или с пептидом Gly-Pro-MCA (для DPP-IV) 7-амино-4-метилкумарина, имеющего отличный от пептидов спектр флуоресценции. Гидролиз субстрата регистрировался после 30 мин инкубации при 37 °С на спектрофлуориметре LS-5B («Perkin-Elmer», США). Количество освободившегося 4-метил-7-аминокумарина определяли из величины флуоресценции. Удельную активность ферментов определяли по формуле (1):

$$A = [(E-C)/(S-B)] \cdot t^{-1} \cdot v^{-1}, \quad (1)$$

где E – флуоресценция пробы (380/460 нм); C – флуоресценция смеси, содержащей по 0,05 мл субстрата и фермента, 1,9 мл Tris-HCl-буфера (приготовленного из Tris-основания, «Serva», Германия) (pH 8,0), содержащего по 1 мМ ЭДТА-Na₂ («Reanal», Венгрия), дитиотреитола («Serva») и NP-40 («Sigma-Aldrich») и 1 мл ацетатного буфера (pH 4,0); B – флуоресценция смеси, содержащей 0,05 мл субстрата, 1,95 мл Tris-HCl-буфера (pH 8,0), содержащего по 1 мМ ЭДТА-Na₂, дитиотреитола и NP-40 и 1 мл ацетатного буфера (pH 4,0); S – флуоресценция смеси, содержащей 0,05 мл субстрата, 1,93 мл Tris-HCl-буфера (pH 8,0), содержащего по 1 мМ ЭДТА-Na₂, дитиотреитола и NP-40 и 1 мл ацетатного буфера (pH 4,0), и 0,02 мл раствора 7-амино-4-метилкумарина («Serva») (2 нмоль). Остановку реакции производили добавлением в инкубационную смесь 1 мл ацетатного буфера (pH 4,0).

Спектрофотометрический метод определения активности ADG. Активность ADG в плазме крови определяли модифицированным спектрофотометрическим методом Mezey et al. [17]. Для этого в пробу к 50 мкл плазмы добавляли по 400 мкл глицинового буфера (pH 8,8), 3%-ного раствора этанола и раствора NAD («Fluka», Швейцария) (3 мг/мл воды), далее каждую пробу инкубировали на водяной бане в течение 60 мин при температуре 37 °С и определяли оптическую плотность при длине волны 340 нм на спектрофотометре DU-50 («Beckman», США). Активность ADG (мкмоль NADH/мл·мин) рассчитывали с использованием молярного коэффициента экстинкции восстановленной формы пиридиннуклеотидов (6,22 ммоль/мл/см).

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку результатов проводили по алгоритмам программы «Statistica 13.0» с проверкой соответствия распределения эмпирических данных нормальному закону по критерию

Шапиро–Уилка. В случае соответствия для сравнения средних значений нескольких независимых выборок применяли однофакторный дисперсионный анализ (one way ANOVA) с последующим сравнением средних значений дисперсионного комплекса по тесту Дункана; при несоответствии – непараметрический однофакторный дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса, в этом случае post hoc анализ проводили по непараметрическому U-критерию Манна–Уитни. Данные представлены в виде $M \pm SEM$, где M – среднее, SEM – стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Поведенческие изменения. В результате проведённых экспериментов было обнаружено,

что у самцов, зачатых отцами, находящимися в состоянии алкогольного опьянения, имеются существенные отличия в поведении по сравнению с обычными животными. Так, двигательная активность у крыс, зачатых в алкогольном опьянении, была в 2–2,5 раза менее интенсивной: $U = 36,00$, $p = 0,000997$ при сравнении группы «Контроль» с группой «Этанол 0,5 г/кг», и $U = 62,00$, $p = 0,001642$ при сравнении с группой «Этанол 1,5 г/кг» (рис. 1, а).

В тесте «открытое поле» также было обнаружено снижение у этанол-зачатых крыс горизонтальной двигательной активности (достоверное отличие от контроля, $U = 19,50$, $p = 0,000027$ в группе «Этанол 0,5 г/кг»; $U = 33,50$, $p = 0,000018$ в группе «Этанол 1,5 г/кг» (рис. 1, б) и вертикальной двигательной активности (достоверное отличие от контроля, $U = 32,50$, $p = 0,000478$ в группе

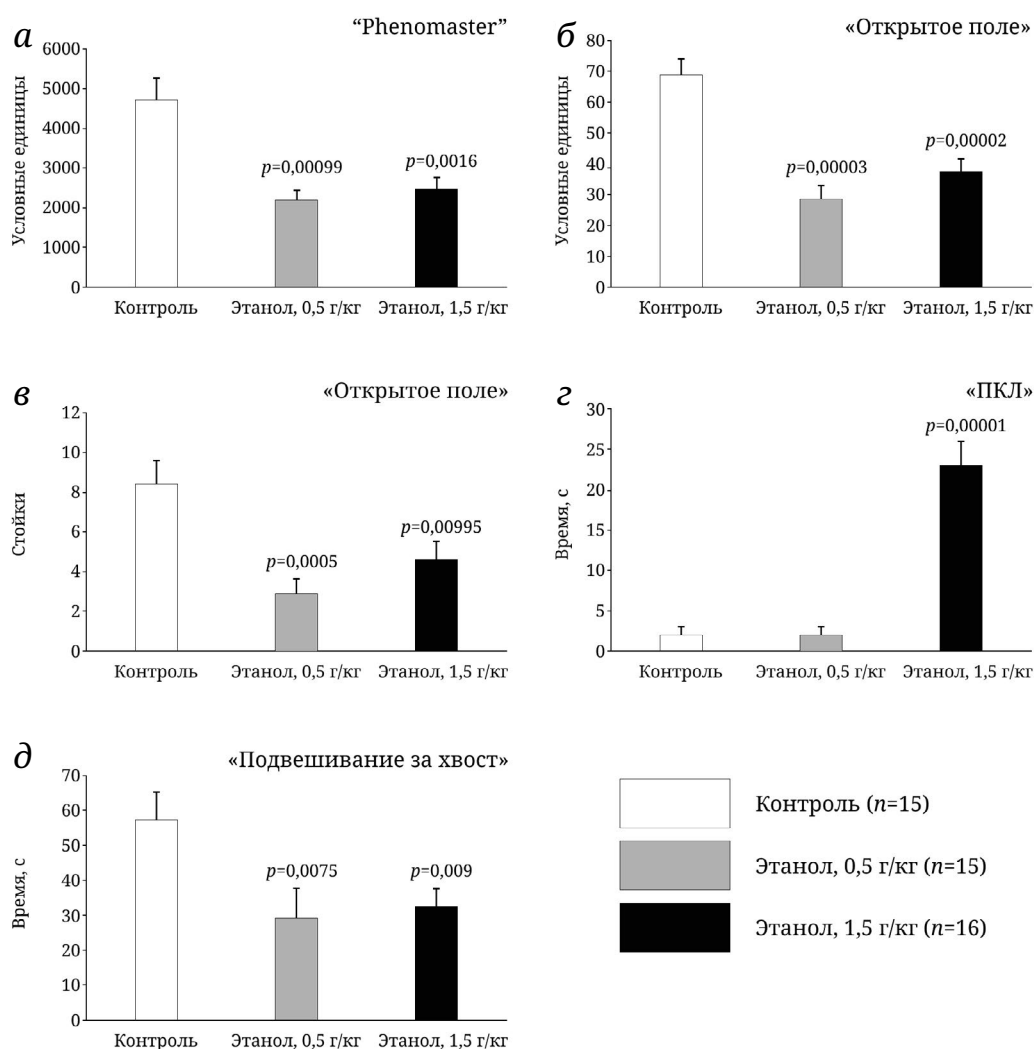


Рис. 1. Изменения в поведении самцов крыс, зачатых отцами, находящимися в состоянии алкогольного опьянения. а – Двигательная активность (усл. ед.) в экспериментальных камерах «Phenomaster»; б – горизонтальная двигательная активность (усл. ед.) в тесте «открытое поле»; в – вертикальная двигательная активность (стойки) в тесте «открытое поле»; г – длительность пребывания в светлых рукавах ПКЛ (с); д – длительность иммобилизации крыс в тесте «подвешивание за хвост» (с). На рисунках обозначены достоверные отличия от контроля (непараметрический U-критерий Манна–Уитни)

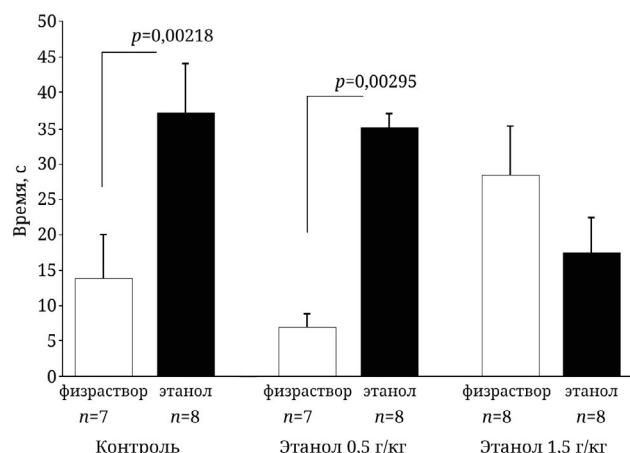


Рис. 2. Латентный период облизывания лап крыс опытных групп в тесте «горячая пластина». * Достоверные различия между животными, которым вводили физраствор и этанол, в каждой группе потомства, $U = 3,00$, $p = 0,002176$ в группе «Контроль»; $U = 5,50$, $p = 0,002953$ в группе «Этанол 0,5 г/кг»

«Этанол 0,5 г/кг»; $U = 78,00$, $p = 0,00995$ в группе «Этанол 1,5 г/кг» (рис. 1, в)).

У потомства, зачатого отцами, которым вводили 1,5 г/кг этанола, наблюдалось увеличение времени пребывания в светлых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) более чем в 5 раз, $U = 14,50$, $p = 0,00001$ (рис. 1, г).

В тесте «подвешивание за хвост» у крыс, зачатых отцами, находящимися в алкогольном опьянении, наблюдалось уменьшение времени иммобилизации. Достоверное отличие от контроля, $U = 49,50$, $p = 0,007544$ в группе «Этанол 0,5 г/кг»; $U = 77,50$, $p = 0,008991$ в группе «Этанол 1,5 г/кг» (рис. 1, д).

Обнаружено, что болевая чувствительность этанол-зачатых крыс достоверно не отличается от таковой у контрольных животных. Введение 1,5 г/кг этанола приводило к достоверному увеличению латентного периода начала облизывания лап (анальгезия) у контрольных животных и у крыс, зачатых отцами, которым вводили 0,5 г/кг этанола. Однако у крыс, зачатых отцами, которым вводили этанол в дозе 1,5 мг/кг, анальгетический эффект этанола отсутствовал (рис. 2).

Изменения активности ферментов. Активность ADG у животных, зачатых отцами, которым вводили 1,5 г/кг этанола, была достоверно выше, чем у животных остальных групп. После введения этанола активность ADG достоверно снижалась во всех группах (табл. 1).

Активность DPP-IV у животных, зачатых отцами, которым вводили 1,5 г/кг этанола, была увеличена по сравнению с животными остальных групп. После введения этанола активность DPP-IV достоверно увеличивалась только у контрольных животных (табл. 1).

Активность PER у животных, зачатых отцами, которым вводили 1,5 г/кг этанола, была существенно ниже, чем у животных остальных групп. После введения этанола активность PER достоверно снижалась у животных контрольной группы и у животных, зачатых отцами, которым вводили этанол в дозе 0,5 мг/кг. У крыс, зачатых отцами, которым вводили 1,5 мг/кг этанола, снижения активности PER после инъекции этанола не наблюдалось (табл. 1).

При сравнении активности ADG использовали анализ «one way ANOVA» с последующим сравнением средних значений дисперсионного комплекса по тесту Дункана. При сравнении активности других ферментов – непараметрический однофакторный дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса с апостериорным попарным анализом по непараметрическому U-критерию Манна–Уитни.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нами обнаружены выраженные изменения в поведении крыс-самцов, отцы которых перед спариванием получали этанол в малых или средних дозах. Так, снижение уровня двигательной активности определялось и в аппарате «Phenomaster», и в тесте «открытое поле». Ранее гипоактивность мышей была зарегистрирована у животных, чьи отцы длительное время получали этанол перед их зачатием [4]. Также нами было показано увеличение времени пребывания на открытых лучах крестообразного приподнятого лабиринта у потомства алкоголизированных отцов, что свидетельствует о снижении у них уровня тревожности. Этот факт был ранее описан для потомства отцов, хронически получавших этанол перед спариванием [6]. Кроме этого, результаты наших экспериментов показали, что введение отцам перед спариванием этанола в дозе 1,5 г/кг приводит у потомства к уменьшению депрессивно-подобной реакции на стресс и снижению чувствительности к анальгетическому действию этанола. Снижение чувствительности к этанолу также было показано ранее для потомства хронически алкоголизированных мышей [7]. Влияния на депрессивность ранее показано не было. Таким образом, однократное введение самцам крыс непосредственно перед спариванием малых и средних доз этанола вызывает у потомства такие же поведенческие изменения, как и у потомства хронически алкоголизированных отцов.

Активность ADG в крови животных, отцам которых вводили этанол, была выше, чем у контрольных крыс. Поскольку показано, что ADG может участвовать в механизмах анальгезии,

Таблица 1. Активность ферментов ADG, DPP-IV и PEP в плазме крови крыс

Физраствор / этанол	Контроль	Этанол 0,5 г/кг	Этанол 1,5 г/кг
ADG (мкмоль/мг/мин)			
Физраствор	19,073 ± 0,91	19,475 ± 0,70	21,798 ± 0,96* MS = 4,2465 df = 42,00 p = 0,0428
Этанол 1,5 г/кг	17,896 ± 0,77# MS = 4,2465 df = 42,00 p = 0,0027	16,969 ± 0,61# MS = 4,2465 df = 42,00 p = 0,0104	19,819 ± 0,71
DPP-IV (нмоль/мг/мин)			
Физраствор	2,694 ± 0,15	2,943 ± 0,14	3,269 ± 0,09* U = 12,00 p = 0,0379
Этанол 1,5 г/кг	3,077 ± 0,2# U = 13,00 p = 0,0488	3,134 ± 0,11	3,355 ± 0,12
PEP (нмоль/мг/мин)			
Физраствор	0,946 ± 0,04	0,955 ± 0,03	0,789 ± 0,01* U = 7,00 p = 0,0069
Этанол 1,5 г/кг	0,774 ± 0,02# U = 6,00 p = 0,0046	0,804 ± 0,03# U = 5,00 p = 0,0029	0,799 ± 0,01

Примечание. * Достоверные различия между группами потомства, зачатого отцами, которым вводили этанол, и потомством, зачатым отцами, которым вводили воду; # достоверные различия между животными, которым вводили физраствор и этанол, в каждой группе потомства.

вызванной введением этанола [18], то этим может объясняться снижение чувствительности к анальгетическому действию этанола у животных, зачатых отцами в состоянии алкогольного опьянения.

Результаты наших экспериментов не позволяют выявить причинную связь изменений активности ферментов с изменением поведения. Однако мы можем сделать предположение, что увеличение активности DPP-IV и снижение активности PEP в крови животных, зачатых отцами, находящимися в алкогольном опьянении, изменяет нормальное соотношение регуляторных нейропептидов и пептидных гормонов, что и вызывает поведенческие изменения. Чтобы узнать, какие конкретно изменения происходят при изменении активности DPP-IV и PEP, требуется проведение специальных экспериментов. Тем не менее в настоящее время можно сделать некоторые предположения. Так, снижение активности PEP в крови может приводить к увеличению уровня тиротропин-фактора, обладающего антидепрессантными свойствами [19, 20]. Ранее в эксперименте на мышах были выявлены антидепрессантные свойства синтетических ингибиторов PEP [21].

Увеличение активности DPP-IV у потомства может указывать на снижение концентрации вещества P, влияющего на восприятие боли посредством модуляции концентрации SP на периферии и активации пептидом периферических рецепторов NK1 [22]. Ещё одним важным субстратом для DPP-IV является тетрапептид эндоморфин-2 [23]. Возможно, DPP-IV модулирует анальгезию, индуцированную эндоморфином-2. Третий важный субстрат DPP-IV – нейропептид Y (NPY) [24], играющий важнейшую роль в регуляции аффективного состояния, реакции на стресс и патогенезе ряда заболеваний, в том числе депрессии.

Кроме того, нами было обнаружено, что у потомства алкоголизованных отцов наблюдается подавление реакции изменения активности ферментов в ответ на введение этанола. Если в контроле этанол вызывает увеличение активности DPP-IV и снижение активности PEP, то у потомства алкоголизованных отцов эти реакции отсутствуют. По-видимому, это является проявлением общей закономерности: потомство самцов, перед спариванием получавших этанол, менее чувствительно к большинству эффектов этанола [7].

Показано, что хроническое употребление этанола самцами мышей приводит к уменьшению метилирования импринтируемых генов в сперматозоидах, в том числе генов нейротрофических факторов [25]. Это может приводить к изменению функционирования лимбических структур мозга и, как следствие, к изменению поведения животных. Если учесть, что однократное употребление этанола оказывает такое же действие на потомство, как хроническое, то нельзя исключить, что наблюдаемые нами изменения у потомства алкоголизированных отцов могут быть связаны с данным эпигенетическим механизмом. В результате этого может изменяться активность ряда ферментов, что приводит к изменению баланса нейропептидов, участвующих в формировании поведения животных.

Вклад авторов. С.К. Судаков – концепция и руководство работой; Н.Г. Богданова, Г.А. Назарова – проведение экспериментов; С.К. Судаков, Н.Н. Золотов – обсуждение результатов исследования и написание текста; Н.Г. Богданова – редактирование текста статьи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Протоколы и процедуры этого исследования были рассмотрены и одобрены этической комиссией Научно-исследовательского института нормальной физиологии имени П.К. Анохина (номер разрешения 351 от 11 сентября 2023 года) и соответствуют Директиве 2010/63/ЕС.

Финансирование. Работа не получала дополнительного финансирования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gilliam, D. M., Stilman, A., Dudek, B. C., and Riley, E. P. (1987) Fetal alcohol effects in long- and short-sleep mice: activity, passive avoidance, and in utero ethanol levels, *Neurotoxicol. Teratol.*, **9**, 349-357, [https://doi.org/10.1016/0892-0362\(87\)90030-4](https://doi.org/10.1016/0892-0362(87)90030-4).
2. Carneiro, L. M., Diógenes, J. P., Vasconcelos, S. M., Aragão, G. F., Noronha, E. C., Gomes, P. B., and Viana, G. S. (2005) Behavioral and neurochemical effects on rat offspring after prenatal exposure to ethanol, *Neurotoxicol. Teratol.*, **27**, 585-592, <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2005.06.006>.
3. Kim, P., Choi, C. S., Park, J. H., Joo, S. H., Kim, S. Y., Ko, H. M., Kim, K. C., Jeon, S. J., Park, S. H., Han, S. H., Ryu, J. H., Cheong, J. H., Han, J. Y., Ko, K. N., and Shin, C. Y. (2014) Chronic exposure to ethanol of male mice before mating produces attention deficit hyperactivity disorder-like phenotype along with epigenetic dysregulation of dopamine transporter expression in mouse offspring, *J. Neurosci. Res.*, **92**, 658-670, <https://doi.org/10.1002/jnr.23275>.
4. Abel, E. L., and Lee, J. A. (1988) Paternal alcohol exposure affects offspring behavior but not body or organ weights in mice, *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **12**, 349-355, <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1988.tb00205.x>.
5. Wozniak, D. F., Cicero, T. J., Kettinger, L., and Meyer, E. R. (1991) Paternal alcohol consumption in the rat impairs spatial learning performance in male offspring, *Psychopharmacology*, **105**, 289-302, <https://doi.org/10.1007/BF02244324>.
6. Ledig, M., Misslin, R., Vogel, E., Holownia, A., Copin, J. C., and Tholey, G. (1998) Paternal alcohol exposure: developmental and behavioral effects on the offspring of rats, *Neuropharmacology*, **37**, 57-66, [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(97\)00185-8](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(97)00185-8).
7. Rompala, G. R., Finegersh, A., Slater, M., and Homanics, G. E. (2017) Paternal preconception alcohol exposure imparts intergenerational alcohol-related behaviors to male offspring on a pure C57BL/6J background, *Alcohol*, **60**, 169-177, <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2016.11.001>.
8. Finegersh, A., and Homanics, G. E. (2014) Paternal alcohol exposure reduces alcohol drinking and increases behavioral sensitivity to alcohol selectively in male offspring, *PLoS One*, **9**, e99078, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099078>.
9. Bielawski, D. M., and Abel, E. L. (1997) Acute treatment of paternal alcohol exposure produces malformations in offspring, *Alcohol*, **4**, 397-401, [https://doi.org/10.1016/s0741-8329\(97\)87951-8](https://doi.org/10.1016/s0741-8329(97)87951-8).
10. Meek, L. R., Myren, K., Sturm, J., and Burau, D. (2007) Acute paternal alcohol use affects offspring development and adult behavior, *Physiol. Behav.*, **91**, 154-160, <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.02.004>.
11. Sharma, A. N., Pise, A., Sharma, J. N., and Shukla, P. (2015) Dipeptidyl-peptidase IV (DPP-IV) inhibitor delays tolerance to anxiolytic effect of ethanol and withdrawal-induced anxiety in rats, *Metab. Brain Dis.*, **30**, 659-667, <https://doi.org/10.1007/s11011-014-9603-7>.
12. Frenssen, F., Croonenberghs, J., Van den Steene, H., and Maes, M. (2015) Prolyl endopeptidase and dipeptidyl peptidase IV are associated with externalizing and aggressive behaviors in normal and autistic adolescents, *Life Sci.*, **136**, 157-162, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.07.003>.
13. Maes, M., Goossens, F., Lin, A., De Meester, I., Van Gastel, A., and Scharpé, S. (1998) Effects of psychological stress on serum prolyl endopeptidase and dipeptidyl peptidase IV activity in humans: higher serum prolyl

- endopeptidase activity is related to stress-induced anxiety, *Psychoneuroendocrinology*, **23**, 485-495, [https://doi.org/10.1016/s0306-4530\(98\)00020-1](https://doi.org/10.1016/s0306-4530(98)00020-1).
14. Maes, M., Lin, A., Bonaccorso, S., Vandoolaeghe, E., Song, C., Goossens, F., De Meester, I., Degroote, J., Neels, H., Scharpé, S., and Janca, A. (1998) Lower serum activity of prolyl endopeptidase in fibromyalgia is related to severity of depressive symptoms and pressure hyperalgesia, *Psychol. Med.*, **28**, 957-965, <https://doi.org/10.1017/s0033291798006801>.
 15. Maes, M., Lin, A., Bonaccorso, S., Vandoolaeghe, E., Song, C., Goossens, F., De Meester, I., Degroote, J., Neels, H., Scharpé, S., and Janca, A. (1999) Lower activity of serum peptidases in abstinent alcohol-dependent patients, *Alcohol*, **17**, 1-6, [https://doi.org/10.1016/s0741-8329\(98\)00022-6](https://doi.org/10.1016/s0741-8329(98)00022-6).
 16. Crabb, D. W., Matsumoto, M., Chang, D., and You, M. (2004) Overview of the role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase and their variants in the genesis of alcohol-related pathology, *Proc. Nutr. Soc.*, **63**, 49-63, <https://doi.org/10.1079/pns2003327>.
 17. Mezey, E., Cherrick, G. R., and Holt, P. R. (1968) Serum alcohol dehydrogenase, an indicator of intrahepatic cholestasis, *N. Engl. J. Med.*, **279**, 241-248, <https://doi.org/10.1056/NEJM196808012790504>.
 18. Jin, S., Cinar, R., Hu, X., Lin, Y., Luo, G., Lovinger, D. M., Zhang, Y., and Zhang, L. (2021) Spinal astrocyte aldehyde dehydrogenase-2 mediates ethanol metabolism and analgesia in mice, *Br. J. Anaesth.*, **127**, 296-309, <https://doi.org/10.1016/j.bja.2021.02.035>.
 19. Szuba, M. P., Amsterdam, J. D., Fernando, A., and Winokur, A. (2005). Rapid antidepressant response after nocturnal TRH administration in patients with bipolar type I and bipolar type II major depression, *J. Clin. Psychopharm.*, **25**, 325-330, <https://doi.org/10.1097/01.jcp.0000169037.17884.79>.
 20. Charli, J.-L., Rodríguez-Rodríguez, A., Hernández-Ortega, K., Cote-Vélez, A., Uribe, R. M., Jaimes-Hoy, L., and Joseph-Bravo, P. (2020) The thyrotropin-releasing hormone-degrading ectoenzyme, a therapeutic target? *Front. Pharmacol.*, **11**, 640, <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00640>.
 21. Золотов Н. Н., Наркевич В. Б., Поздnev В. Ф. (1992) О психотропных свойствах ингибиторов пролилэндопептидазы мозга, *Докл. Акад. Наук СССР*, **322**, 624-625.
 22. Guieu, R., Fenouillet, E., Devaux, C., Fajloun, Z., Carrega, L., Sabatier, J. M., Sauze, N., and Marguet, D. (2006) CD26 modulates nociception in mice via its dipeptidyl-peptidase IV activity, *Behav. Brain Res.*, **166**, 230-235, <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.08.003>.
 23. Fichna, J., do-Rego, J.-C., Chung, N. N., Lemieux, C., Schiller, P. W., Poels, J., Broeck, J. V., Costentin, J., and Janecka, A. (2007) Synthesis and characterization of potent and selective μ -opioid receptor antagonists, [Dmt1, D-2-Nal4] endomorphin-1 (antanal-1) and [Dmt1, D-2-Nal4] endomorphin-2 (antanal-2), *Pharmacol. Rev.*, **59**, 88-123.
 24. Wagner, L., Kaestner, F., Wolf, R., Stiller, H., Heiser, U., Manhart, S., Hoffmann, T., Rahfeld, J. U., Demuth, H. U., Rothermundt, M., von Hörsten, S. (2016). Identifying neuropeptide Y (NPY) as the main stress-related substrate of dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) in blood circulation, *Neuropeptides*, **57**, 21-34, <https://doi.org/10.1016/j.npep.2016.02.007>.
 25. Liang, F., Diao, L., Liu, J., Jiang, N., Zhang, J., Wang, H., Zhou, W., Huang, G., and Ma, D. (2014) Paternal ethanol exposure and behavioral abnormalities in offspring: associated alterations in imprinted gene methylation, *Neuropharmacology*, **81**, 126-133, <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.01.025>.

FEATURES OF THE BEHAVIOR AND ACTIVITY OF BLOOD ENZYMES OF THE OFFSPRING OF RATS CONCEIVED BY THEIR FATHER UNDER THE INFLUENCE OF ALCOHOL

S. K. Sudakov*, N. G. Bogdanova, G. A. Nazarova, and N. N. Zolotov

Federal State Budgetary Scientific Institution

"Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies"

P. K. Anokhin Research Institute, 125315 Moscow, Russia; e-mail: s-sudakov@mail.ru

Quite often, conception of a child occurs after consuming small doses of alcohol. However, the effect of this factor on offspring has not been studied at all. The aim of this study was to study the level of motor activity, anxiety-like and depressive-like behavior, sensitivity to the analgesic effect of ethanol, as well as the activity of the enzymes DPP-IV, PEP and ADG in the blood of rats whose fathers received ethanol immediately before mating. As a result of the experiments conducted, it was found that males conceived by fathers who were intoxicated have significant differences in behavior compared

to control animals. Thus, motor activity in rats conceived by males under the influence of alcohol was 2-2.5 times less intense, they decreased the severity of anxiety-like and depressive-like behavior. In such animals, the activity of DPP-IV and ADG was increased and the activity of PEP in the blood was reduced. In rats conceived by fathers under the influence of alcohol, the analgesic effect of ethanol decreased, and there was also a decrease in the reaction of ADG, DPP-IV and PEP to ethanol administration. It is assumed that a single use of ethanol by male rats immediately before mating leads to a decrease in the methylation of paternal inherited genes in offspring. As a result, the activity of a number of enzymes may change, which leads to a change in the balance of neuropeptides involved in formation of animal behavior.

Keywords: ethanol, offspring, alcohol dehydrogenase, peptidases, blood plasma, fluorimetric analysis, open field, elevated plus maze, hot plate