

Влияние пренатальной алкогольной интоксикации на метаболизм углевод-белковых комплексов печени и поджелудочной железы

ВЫСОКОГОРСКИЙ В.Е. д.м.н., профессор, зав. кафедрой биохимии и лабораторной медицины с курсом клинической лабораторной диагностики ПДО ОмГМА
АРЗАМАСОВА О.А. аспирант кафедры биохимии и лабораторной медицины с курсом клинической лабораторной диагностики ПДО ОмГМА
КУРЧ Н.М. к.б.н., старший преподаватель кафедры биохимии и лабораторной медицины с курсом клинической лабораторной диагностики ПДО ОмГМА
ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия Росздрава РФ,
г.Омск-644043, ул. Ленина, 12, e-mail: rector@omsk-osma.ru

В печени и поджелудочной железе потомства алкоголизированных крыс обнаружено увеличение концентрации глюкуроновой кислоты, гликозаминогликанов. В сыворотке крови подопытных животных выявлен повышенный уровень гликозаминогликанов. Данные изменения сопровождаются повышением активности β -глюкуронидазы. Полученные результаты свидетельствуют о выраженных нарушениях метаболизма углеводсодержащих веществ соединительной ткани печени и поджелудочной железы у животных, подвергнутых пренатальной алкогольной интоксикации.

Ключевые слова: пренатальная алкогольная интоксикация, глюкуроновая кислота, гликозаминогликаны, β -глюкуронидаза, поджелудочная железа, печень

Введение

Ранее установлено [2], что гепатотоксические и панкреатотоксические эффекты этаноловой интоксикации проявляются не только у взрослых особей, но и у потомства пренатально алкоголизированных крыс. Пренатальная этаноловая интоксикация приводит к интенсификации оксидативного стресса, истощению резервов антиокислительной системы, уменьшению пула восстановленного глутатиона, а также падению активности глутатион-опосредованных ферментов в печени пренатально алкоголизированного потомства [3]. В ткани поджелудочной железы обнаружены морфологические признаки атрофии концевых отделов, уменьшение размеров эндокринных островков, отек соединительнотканной стромы органа [4]. Характерно, что вышеперечисленные изменения сохраняются в отдаленные сроки постнатального онтогенеза.

В работах многих авторов акцентируется внимание на ключевой роли активированных звездчатых клеток печени и поджелудочной железы в развитии фиброза [7]. В качестве активаторов звездчатых клеток могут выступать этанол, ацетальдегид, свободные радикалы кислорода, цитокины и факторы роста [8]. В результате звездчатые клетки преобразуются в миофибробласты и начинают синтезировать компоненты фибротического неоматрикса. При этом нарушается свойственное соединительной ткани динамическое

равновесие между процессами биосинтеза экстрацеллюлярных компонентов и их катаболизма [9].

В настоящее время активно дискутируется вопрос о патохимических проявлениях фиброгенных процессов в печени и поджелудочной железе при воздействии алкогольной интоксикации. Однако проблема нарушения метаболических процессов в межклеточном веществе указанных органов в условиях пренатальной алкогольной интоксикации в литературе практически не освещена. Настоящее исследование проведено с целью выявления изменений метаболизма углевод-белковых соединений в печени и поджелудочной железе потомства алкоголизированных крыс в различные сроки постнатального онтогенеза.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 278 потомках белых беспородных крыс в различные сроки постнатального онтогенеза. С целью моделирования пренатальной алкогольной интоксикации половозрелым самкам ежедневно интрагастралью вводили раствор этанола в дозе 4 г/кг массы животного в течение всего срока гестации. Потомство этих самок составило группу «Алкоголь». Самки контрольной группы получали эквивалентное количество физиологического раствора. Потомство данных самок составило группу «Контроль». Животных выводили из эксперимента путем цервикальной дислокации под эфирным наркозом в возрасте 15, 30 и 60 суток.

В сыворотке крови и гомогенатах печени и поджелудочной железы определяли содержание глюкуроновой кислоты (ГК), гликозаминогликанов (ГАГ) карбазольной реакцией Дише [6], активность β -глюкуронидазы определяли путем определения высвобождаемого из 4-нитрофенил- β -D-глюкуронида окрашенного 4-нитрофенола [1].

Для статистической обработки данных использовали программу Statistica 6. Полученные результаты представлены как Me(Q1-Q3), где Me — медиана, Q1 — 25-й процентиль, Q3 — 75-й процентиль. Статистическая значимость различий сравниваемых величин (p) оценивалась с помощью критерия Манна—Уитни (U). Критический уровень значимости различий результатов принимался равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

У потомства алкоголизированных животных уровень ГК в сыворотке крови не отличался от значений в контрольной группе (табл. 1). Однако содержание ГАГ у животных группы «Алкоголь» превышало контрольные значения в возрасте 15 суток в 3,48 раза ($p = 0,001$). В возрасте 30 суток разница с показателями контрольной группы составила 77,8% ($p = 0,021$). Нормализации уровня ГАГ в сыворотке крови не происходило даже при достижении животными 60-суточного возраста, и этот показатель превышал контрольные значения на 55,4% ($p = 0,001$).

Изменение уровня ГАГ в сыворотке крови отражает, вероятно, нарушение метаболизма протеогликанов межклеточного матрикса в организме, в целом.

В отличие от показателей в сыворотке крови в ткани печени пренатально алкоголизированных животных уровень ГК в ткани печени в группе «Алкоголь» в 15-е сутки развития выше контрольных значений в 1,8 раза ($p = 0,001$), и в 1,3 раза к 30-м суткам жизни, что, вероятно, связано с интенсивным синтезом гликозаминогликанов и накопление их в межклеточном матриксе печени (табл. 2). К 60-м суткам происходит уменьшение значений ГК в 2,1 раза ($p = 0,001$) по отношению к группе «Контроль» в возрасте 60 суток.

Уровень ГАГ в печени животных группы «Алкоголь» повышен на 95% ($p = 0,002$) в 15 суток жизни и на 30-е сутки жизни в 2,4 раза ($p = 0,003$) относительно значений группы «Контроль». В возрасте 60 суток содержание ГАГ в печени пренатально алкоголизированных животных остается повышенным на 66% ($p = 0,005$).

Изменение уровня ГК и ГАГ в ткани печени на 60-е сутки развития сопровождается снижением активности β -глюкуронидазы печени на 78,5% ($p = 0,003$) в сравнении с группой «Контроль», что может свидетельствовать о снижении интенсивности катаболизма протеогликанов (рис. 1).

Еще более существенные изменения метаболизма углевод-белковых комплексов выявлены при исследо-

Таблица 1

Содержание ГК и ГАГ в сыворотке крови (Me (Q1-Q3))

Показатель	Группа	Возраст животных		
		15 суток	30 суток	60 суток
ГК, мкг/мл	Контроль	0,53 (0,23—1,98)	0,56 (0,25—0,62)	0,38 (0,27—0,92)
	Алкоголь	0,59 (0,46—0,71), $pU=0,454$	0,49 (0,40—0,51), $pU=0,388$	0,23 (0,21—0,61), $pU=0,625$
ГАГ, мкг/мл	Контроль	0,47 (0,23—1,98)	1,71 (1,37—2,02)	1,2 (1,1—1,6)
	Алкоголь	1,64 (1,01—4,21), $pU=0,001$	2,20 (1,88—2,30), $pU=0,021$	2,02 (1,70—2,36), $pU=0,001$

Таблица 2

Содержание ГК и ГАГ в гомогенатах печени (Me(Q1-Q3))

Показатель	Группа	Возраст животных		
		15 суток	30 суток	60 суток
ГК, мкг/г белка	Контроль	1,04 (0,58—1,13)	1,35 (1,02—1,53)	1,12 (0,98—1,34)
	Алкоголь	1,89 (1,23—2,19), $pU=0,001$	1,78 (1,32—2,29), $pU=0,041$	0,53 (0,46—0,69), $pU=0,001$
ГАГ, мкг/белка	Контроль	2,26 (2,0—2,91)	1,60 (1,22—3,30)	1,54 (1,46—1,65)
	Алкоголь	4,42 (3,62—5,25), $pU=0,002$	3,86 (3,14—8,38), $pU=0,003$	2,57 (1,92—2,98), $pU=0,005$

Содержание ГК и ГАГ в гомогенатах поджелудочной железы (Me (Q1-Q3))

Показатель	Группа	Возраст животных		
		15 суток	30 суток	60 суток
ГК, мкг/г белка	Контроль	2,01 (1,65—2,30)	2,82 (2,23—3,65)	2,28 (1,79—2,64)
	Алкоголь	9,28 (7,30—12,01), pU=0,001	15,81 (10,89—16,26), pU=0,001	2,16 (1,88—2,53), pU=0,796
ГАГ, мкг/г белка	Контроль	7,03 (6,28—8,74)	5,28 (3,56—8,83)	4,45 (3,71—7,30)
	Алкоголь	48,84 (27,58—76,93), pU=0,001	14,12 (10,69—16,74), pU=0,001	14,80 (10,41—19,04), pU=0,001

вании показателей ГК и ГАГ в ткани поджелудочной железы.

Так, уровень ГК в гомогенатах поджелудочной железы у алкоголизованных крыс в возрасте 15 суток превышал контрольные значения в 4,62 раза ($p = 0,001$) (табл. 3). К 30-суточному возрасту разница возросла и составила 5,61 раза ($p = 0,001$). Однако при достижении 60-суточного возраста у потомства алкоголизованных животных наблюдалась нормализация содержания ГК в ткани поджелудочной железы.

При исследовании уровня ГАГ в гомогенатах поджелудочной железы у потомства алкоголизованных животных этот показатель в возрасте 15 суток превышает контрольные значения в 6,94 раза ($p = 0,001$) (табл. 3). В возрасте 30 суток содержание ГАГ значительно снижается, но по-прежнему выше в 2,67 раза в сравнении с группой «Контроль» ($p = 0,001$). К 60-суточному возрасту эта разница составила 3,32 раза ($p = 0,001$). Выявленные изменения свидетельствуют о накоплении в ткани ГАГ, повышенное содержание которых обнаруживается в гомогенатах поджелудочной железы во все сроки наблюдения.

Изменения уровня ГК и ГАГ в ткани поджелудочной железы сопровождались увеличением активности фермента β -глюкуронидазы. В возрасте 15 суток активность фермента превышала контрольные показатели на 54,22% ($p = 0,006$) (рис. 2).

Однако в более поздних сроках наблюдения активность β -глюкуронидазы не имела статистически значимых отличий от значений, полученных в группе «Контроль».

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что пренатальное воздействие алкогольной интоксикации сопровождается выраженными нарушениями со стороны обмена углеводсодержащих биополимеров соединительной ткани. Несмотря на то обстоятельство, что воздействие алкогольной интоксикации прекращается с момента рождения крысят, отмечается сохранение выявленных нами нарушений различного характера в печени и поджелудочной железе в отдаленные сроки постнатального онтогенеза. В печени отмечается высокое содержание ГК и ГАГ в ранние сроки постнатального онтогенеза, что может свиде-

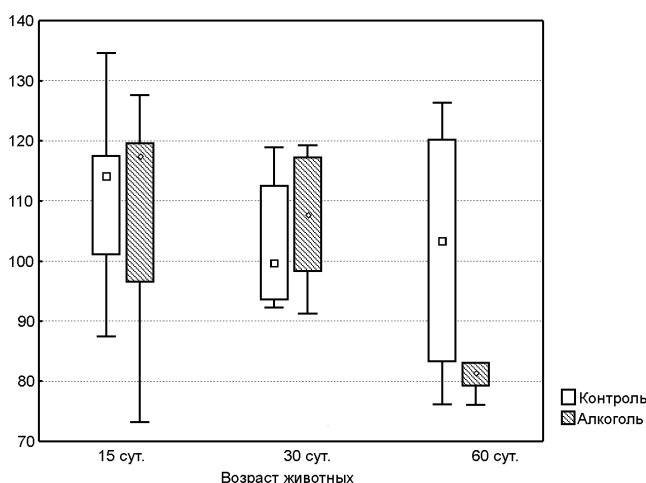


Рис. 1. Активность β -глюкуронидазы в ткани печени, нмоль/г белка

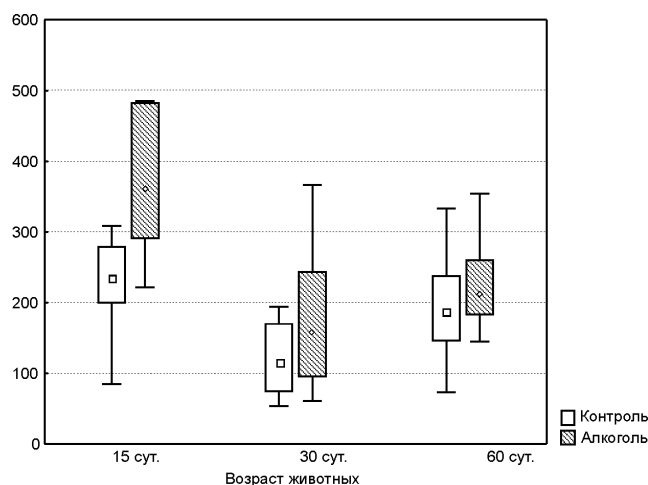


Рис. 2. Активность β -глюкуронидазы в ткани поджелудочной железы, нмоль/г белка

тельствовать об интенсивном биосинтезе и накоплении протеогликанов в межклеточном матриксе. По достижении животными более зрелого возраста происходит значительное понижение уровня ГК в ткани печени, сопровождаемое снижением активности β -глюкуронидазы, что, вероятно, связано со снижением интенсивности процесса распада протеогликановых структур. Кроме того, снижение уровня ГК в печени может быть обусловлено как увеличением синтеза ГАГ, так и истощением пула ГК при развитии эндотоксикоза в посталкоголизационном периоде.

В ткани поджелудочной железы у потомства алкоголизированных крыс наблюдается накопление ГК и ГАГ в межклеточном матриксе. Повышение концентрации ГАГ в межклеточном матриксе, по мнению В.В. Серова с соавторами, предшествует усилению процессов фибриллообразования [5]. Отмеченные изменения сопровождаются повышенной активностью β -глюкуронидазы на ранних сроках эксперимента. Полученные результаты могут свидетельствовать о развитии несогласованности процессов метаболизма гликоконъюгатов экстрацеллюлярного матрикса, что является характерной особенностью хронических алкогольных поражений поджелудочной железы [10].

В основе выявленных нарушений выступает дисбаланс между биосинтезом и деградацией углевод-белковых комплексов межклеточного матрикса, что, по-видимому, является проявлением приспособительно-компенсаторных механизмов развивающегося организма при воздействии алкогольной интоксикации во внутриутробном периоде.

Список литературы

1. Асатиани В.С. Новые методы биохимической фотометрии. — М.: Наука, 1965. — С. 9—10.
2. Высокогорский В.Е., Самусева Н.Л., Мкртчян О.З., Курч Н.М., Вальтер С.Ж. Интенсивность свободно-радикальных процессов и нарушение закономерностей органогенеза у пренатально алкоголизированного потомства // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. — 2003. — №1. — С. 69—72.
3. Высокогорский В.Е., Самусева Н.Л. Роль глутатиона в антиокислительной защите печени пренатально алкоголизированных крыс // Мат. конференции биохимиков Урала, Поволжья и Западной Сибири «Актуальные проблемы теоретической и прикладной биохимии». — Ижевск, 2001. — С. 100—102.
4. Курч Н.М., Высокогорский В.Е., Мкртчян О.З. Морфофункциональные особенности развития поджелудочной железы у крыс, алкоголизированных в пренатальном периоде // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. — 2006. — Прил. 41. — С. 140—141.
5. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань. — М.: Медицина, 1981. — 312 с.
6. Шараев П.Н., Иванов В.Г., Рябов В.И. Биохимические методы анализа показателей обмена биополимеров соединительной ткани. — Ижевск, 1989. — 15 с.
7. Ellenrieder V., Schneiderhan W., Bachem M., Adler G. Fibrogenesis in the pancreas // *Annales Academiæ Medicæ Bialostocensis*. — 2004. — №49. — P. 40—46.
8. Gutierrez-Ruiz M.C., Gomez-Quiroz L.E. Liver fibrosis: searching for cell model answers // *Liver Intern.* — 2007. — №10. — P. 434—439.
9. Shimizu K. Mechanisms of pancreatic fibrosis and applications to the treatment of chronic pancreatitis // *J. Gastroenterol.* — 2008. — №11. — P. 823—832.
10. Yamaguchi T., Kihara Y., Taguchi M., Nagashio Y., Tashiro M., Nakamura H., Otsuki M. Persistent destruction of the basement membrane of the pancreatic duct contributes to progressive acinar atrophy in rats with experimentally induced pancreatitis // *Pancreas*. — 2005. — №4. — P. 365—372.

EFFECT OF PRENATAL ALCOHOL INTOXICATION ON THE METABOLISM OF CARBOHYDRATE-PROTEIN COMPLEXES OF THE LIVER AND PANCREAS

VYSOKOGORSKII V.E.

MD, head of the Department of Biochemistry and Laboratory Medicine, with a course of clinical laboratory diagnostics the graduate education OmSMA

ARZAMASOVA O.A.

post-graduate department of biochemistry and laboratory medicine with a course of clinical laboratory diagnostics the graduate education OmSMA

KURCH N.M.

PhD, assistant biochemistry and laboratory medicine with a course of clinical laboratory diagnostics the graduate education OmSMA
Omsk-644043, Lenin st. 12, rector@omsk-osma.ru

Antenatal alcoholisation causes the increase of glucuronic acid and glycosaminoglycans in rat liver and pancreas. In the blood serum of experimental animals the elevated level of glycosaminoglycans are revealed. These changes are accompanied by increased activity of β -glucuronidase. The results indicate metabolic disorder of carbohydrate-containing substances of the connective tissue of the liver and pancreas in animals exposed to prenatal alcohol intoxication.

Key words: prenatal alcoholisation, glucuronic acid, glycosaminoglycans, β -glucuronidase