

Особенности регуляции углеводного обмена у пренатально алкоголизированного потомства

КУРЧ Н.М.

к.биол.н., старший преподаватель кафедры биологической химии; e-mail: nkurch@mail.ru

ВЫСОКОГОРСКИЙ В.Е.

д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологической химии

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития,
644043, Омск, ул. Ленина, 12; e-mail: rector@omsk-osma.ru

Изучали влияние пренатальной алкогольной интоксикации на регуляцию метаболизма углеводов у потомства в возрасте 15, 30 и 60 суток. С этой целью самкам белых беспородных крыс интрагастрально вводили этанол в дозе 4 г/кг во время периода гестации. Обнаружено статистически значимое снижение уровня глюкозы в плазме крови во все сроки наблюдения. Выявлен рост концентрации инсулина в плазме крови в возрасте 30 и 60 суток и снижение уровня глюкогена в возрасте 60 суток. В возрасте 15 и 30 суток наблюдалось увеличение активности фосфорилазы печени и снижение активности глюкозо-6-фосфатазы. Концентрация кортизола в плазме крови пренатально алкоголизированных крыс не имела статистически значимых различий со значениями контрольной группы. Полученные результаты свидетельствуют о существенном влиянии пренатальной алкогольной интоксикации на процессы регуляции метаболизма углеводов в отдалённые сроки постнатального периода.

Ключевые слова: пренатальная алкогольная интоксикация, углеводный обмен, гипогликемия, инсулин, глюкоген

Введение

Наблюдающийся в настоящее время рост употребления алкоголя женщинами, в том числе и беременными, является причиной увеличения частоты рождения детей с алкогольным синдромом плода и другими последствиями пренатальной алкоголизации [6]. Понятие *алкогольный синдром плода* характеризует структурные и когнитивные нарушения алкоголизированного потомства, но зачастую остаются без внимания специалистов метаболические отклонения. Тем не менее, именно метаболические сдвиги предшествуют структурным изменениям и лежат в основе нарушений, приводящих к летальному исходу в неонатальном периоде. Прежде всего, это касается гипогликемии новорождённых, представляющей высокий риск развития необратимого повреждения мозга [8]. У детей, родившихся с установленной гипогликемией, уровень глюкозы в крови при достижении возраста 7,5—8 лет был значительно снижен в сравнении с данным показателем у здоровых сверстников [15].

Одной из многочисленных причин развития гипогликемии новорождённых является перенесённая алкогольная интоксикация во внутриутробном периоде [11]. По мнению авторов [18], основой развития гипогликемии у алкоголизированного потомства являются истощение резервов гликогена, подавление процессов глюконеогенеза, связанные с непосредственным действием на метаболические процессы избытка восстановленных форм НАД, образующихся в ре-

зультате метаболизма этанола. Сведения об уровне инсулина у потомства при пренатальной алкоголизации разноречивы. K.D. Sumida высказывает мнение об усилении секреции инсулина при хронической алкогольной интоксикации [17]. В противоположность этому, L. Chen [7] приводит данные о снижении уровня инсулина в крови потомства после перенесённой интоксикации алкоголем во внутриутробном периоде, обосновывая данное явление токсическим поражением В-клеток эндокринного аппарата поджелудочной железы [7].

Механизмы, лежащие в основе гипогликемии, развивающейся у потомства в результате алкогольной интоксикации во внутриутробном периоде развития, в настоящее время остаются неустановленными.

Настоящее исследование проведено с целью выявления роли нарушения гормональных механизмов в развитии гипогликемии после воздействия пренатальной алкогольной интоксикации.

Объект и методы исследования

Исследование проведено на 270 потомках белых беспородных крыс в различные сроки постнатального онтогенеза. Пренатальную алкогольную интоксикацию осуществляли путём ежедневного интрагастрального введения половозрелым самкам раствора этанола в дозе 4 г/кг массы животного в течение всего срока гестации (группа «Алкоголь»). Самки контрольной группы получали соответствующий объём

физиологического раствора (группа «Контроль»). Животных выводили из эксперимента путём цервикальной дислокации под эфирным наркозом в возрасте 15, 30 и 60 суток.

Для определения уровня глюкозы в плазме крови использовали стандартный набор «Глюкоза-ФКД». Концентрацию инсулина в крови исследовали методом ИФА с помощью набора «Rat Insulin (INS) ELISA Kit» (CUSABIO BIOTECH CO., LTD), глюкагон — «Rat Glucagon (GC) ELISA Kit» (CUSABIO BIOTECH CO., LTD). Уровень кортизола определяли набором реактивов «Стероид ИФА-кортизол-01» (ООО «Компания Алкор Био», Санкт-Петербург).

Активность фосфоорилазы в ткани печени определяли по неорганическому фосфату [5], активность глюкозо-6-фосфатазы — методом Свенсона [4].

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программы Statistica-6 и включала в себя определение типа распределения, вычисление показателей медианы (Me), нижнего (Q1) и верхнего (Q3) квартилей. Статистическая значимость различий сравниваемых величин (p) оценивалась с помощью критерия Манна—Уитни (U). Критический уровень значимости различий результатов принимался равным 0,05.

Результаты исследования

Инттоксикация алкоголем самок во время периода гестации приводила к формированию стойкой гипогликемии у потомства. В группе «Алкоголь» уровень глюкозы в плазме крови крысят в возрасте 15 суток статистически ниже контрольных значений на 25,6% ($p = 0,003$), в возрасте 30 суток — на 26,9% ($p = 0,006$) (табл. 1). При достижении животными половозрелого возраста (60 суток) низкий уровень глюкозы сохранился и различия с аналогичным показателем группы «Контроль» составили 30,9% ($p = 0,001$).

У потомства крыс, перенесших алкогольную интоксикацию в пренатальном периоде, установлены выраженные изменения концентрации инсулина в крови. В возрасте 15 суток концентрация инсулина в крови алкоголизированного потомства не имела статистически значимых отличий от контрольных значений, в возрасте 30 суток наблюдалось увеличение данного показателя в 2,42 раза ($p = 0,049$) (табл. 2). При достижении животными 60-суточного возраста подобная тенденция сохранялась и уровень инсулина в плазме крови превышал аналогичный показатель в контрольной группе в 1,95 раза ($p = 0,041$).

Таблица 1

Показатели концентрации глюкозы в плазме крови, Me (Q1—Q3)

Показатель	Группа	Возраст животных		
		15 суток	30 суток	60 суток
Глюкоза, ммоль/л	Контроль	5,74 (5,14—6,39)	6,29 (5,75—9,69)	7,99 (7,00—8,19)
	Алкоголь	4,27 (3,55—5,39) $pU = 0,003$	4,60 (3,72—5,95) $pU = 0,006$	5,52 (4,84—6,14) $pU = 0,001$
Примечание. pU — статистический уровень значимости различий в сравнении с показателями группы «Контроль» (тест Манна—Уитни)				

Таблица 2

Концентрация гормонов в плазме крови, Me (Q1—Q3)

Показатель	Группа	Возраст животных		
		15 суток	30 суток	60 суток
Инсулин, нМЕ/мл	Контроль	200,2 (104,3—593,5)	268,7 (209,5—548,3)	449,5 (291,0—802,8)
	Алкоголь	226,1 (150,1—638,7) $pU = 0,638$	650,7 (478,4—840,9) $pU = 0,049$	879,7 (812,3—909,1) $pU = 0,041$
Глюкагон, нг/мл	Контроль	24,9 (14,3—32,3)	34,9 (34,2—39,7)	74,1 (67,1—80,4)
	Алкоголь	27,7 (10,8—46,6) $pU = 0,971$	34,3 (15,2—48,5) $pU = 0,968$	34,3 (31,6—49,6) $pU = 0,009$
Кортизол, нмоль/л	Контроль	26,4 (19,7—30,3)	58,2 (46,6—72,9)	50,1 (47,4—57,1)
	Алкоголь	29,6 (12,0—42,0) $pU = 0,904$	68,1 (55,1—87,1) $pU = 0,481$	48,3 (35,5—57,1) $pU = 0,436$
Примечание. pU — статистический уровень значимости различий в сравнении с показателями группы «Контроль» (тест Манна—Уитни)				

Концентрация глюкагона в возрасте 15 и 30 суток не имела статистически значимых отличий от данного показателя группы «Контроль» (табл. 2). Однако в возрасте 60 суток отмечалось снижение уровня глюкагона у пренатально алкоголизированного потомства в 2,16 раза ($p = 0,009$) относительно контрольных значений.

При исследовании уровня другого контринсулярного гормона — кортизола — статистически значимых различий от значений данного показателя в контрольной группе не выявлено во все сроки наблюдения (табл. 2).

Пренатальная алкогольная интоксикация приводила к изменению активности фосфоорилазы печени у алкоголизированного потомства на ранних сроках постнатального развития. Так, в возрасте 15 суток активность фосфоорилазы превышает значения контрольной группы на 21,8% ($p = 0,001$), в возрасте 30 суток — на 14,9% ($p = 0,001$) (табл. 3).

К 60-суточному возрасту статистически значимой разницы с данным показателем в группе «Контроль» не выявлено. Подобное повышение активности фосфоорилазы, по-видимому, имеет компенсаторный характер и направлено на увеличение процессов гликогенолиза в печени.

В результате пренатальной алкогольной интоксикации снижалась активность глюкозо-6-фосфатазы печени. В возрасте 15 суток данный показатель статистически значимо ниже контрольных показателей на 60,3% ($p = 0,002$) (табл. 3). В возрасте 30 суток отмечается некоторый рост активности фермента, однако сохраняется снижение данного показателя относительно значений в группе «Контроль» на 25,7% ($p = 0,049$). В возрасте 60 суток активность глюкозо-6-фосфатазы не имела статистически значимой разницы с контрольными значениями. Снижение активности глюкозо-6-фосфатазы печени у пренатально алкоголизированного потомства, а, следовательно, снижение продукции печенью глюкозы, может вносить определённый вклад в развитие гипогликемического синдрома.

Обсуждение результатов

Значительная зависимость жизнедеятельности плода от поступления материнской глюкозы требует после рождения существенной перестройки регуляции уровня глюкозы для обеспечения источниками энергии жизненно важных органов и особенно мозга. В физиологических ситуациях сразу после рождения происходит снижение уровня инсулина и повышение глюкагона, что обеспечивает активацию процессов гликогенолиза и глюконеогенеза в печени, а, следовательно, увеличение продукции глюкозы [12]. Такая перестройка гормональной регуляции иногда сопровождается транзиторной гипогликемией в неонатальном периоде. Однако часто происходит нарушение регуляции гликемии у недоношенных детей, при задержке внутриутробного развития, при наличии в анамнезе аномально протекающей беременности, внутриутробной гипотрофии и др. [3].

Как показали результаты проведённого исследования, у пренатально алкоголизированного потомства наблюдается выраженное нарушение углеводного обмена. Снижение концентрации глюкозы в крови у таких животных носит стойкий характер и сохраняется в отдалённые сроки постнатального онтогенеза — до достижения половозрелости. В основе наблюдаемой гипогликемии могут лежать изменения регуляторных механизмов и метаболических процессов.

Анализ результатов исследования концентрации инсулина в крови животных группы «Контроль» показал увеличение данного показателя с возрастом, что связано с соответствующим возрастанием анаболических процессов. У потомства группы «Алкоголь» отмечается более интенсивный рост уровня инсулина, и в возрасте 30 и 60 суток он статистически значимо превышает значения контрольной группы. Гиперинсулинемия, развивающаяся в результате пренатального воздействия алкоголя, по мнению некоторых авторов [16], может быть вызвана активными формами кислорода, интенсивно генерируемыми в данных условиях. Другие авторы предполагают, что повышенный уровень инсулина может быть связан с замедленной деградацией гормона, вы-

Таблица 3

Показатели углеводного обмена в ткани печени, Me (Q1—Q3)

Показатель	Группа	Возраст животных		
		15 суток	30 суток	60 суток
Фосфоорилаза, мкмоль/мин г белка	Контроль	198,24 (139,29—282,13)	221,41 (209,19—241,88)	217,86 (187,20—264,62)
	Алкоголь	253,58 (220,16—282,97) pU = 0,001	260,57 (242,00—290,10) pU = 0,001	223,82 (197,88—251,66) pU = 0,857
Глюкозо-6-фосфатаза, мкмоль/мин г белка	Контроль	3,59 (3,12—4,36)	5,49 (4,46—6,06)	4,50 (3,53—4,86)
	Алкоголь	2,24 (1,79—3,53) pU = 0,002	4,08 (2,96—5,06) pU = 0,049	4,40 (3,38—4,79) pU = 0,786

Примечание. pU — статистический уровень значимости различий в сравнении с показателями группы «Контроль» (тест Манна—Уитни)

званной алкогольным поражением печени [9]. Кроме того, имеются сведения о нарушении чувствительности периферических тканей к инсулину в результате пренатальной алкоголизации [19].

При исследовании уровня глюкозы в крови пренатально алкоголизированных животных установлено отсутствие статистически значимых различий с результатами в контрольной группе в возрасте 15 и 30 суток, однако к 60-суточному возрасту отмечается снижение данного показателя относительно контрольных значений. Несмотря на гипогликемию, наблюдающуюся у пренатально алкоголизированного потомства, адаптивного увеличения концентрации глюкозы не происходит. В основе подобных нарушений может лежать изменение соотношения В- и А-клеток в эндокринных островках поджелудочной железы, что, по мнению И.П. Мухамедовой [2], является характерным признаком при воздействии на железу различных повреждающих факторов. Ранее нами выявлено изменение соотношения эндокринных клеток, заключающееся в увеличении в островке количества В-клеток и уменьшении А-клеток [2].

Отсутствие значимых различий содержания кортизола в крови пренатально алкоголизированного потомства с данным показателем в контрольной группе указывает на отсутствие активации симпатико-адреналовой системы в постнатальном периоде.

Определённый вклад в формирование гипогликемии у потомства, подвергнутого пренатальной алкоголизации, может вносить и рост потребности тканей в глюкозе. Во-первых, в данных условиях ингибируются процессы окисления жирных кислот с целью обеспечения клеток энергией, так как при алкогольной интоксикации происходит подавление реакций цикла трикарбоновых кислот [20]. В подобной ситуации практически единственным источником энергообеспечения становится глюкоза, и это обстоятельство, в свою очередь, может способствовать развитию стойкой гипогликемии. Во-вторых, усиление потребления глюкозы тканями может быть вызвано гипоксическими состояниями, которые зачастую наблюдаются у такого потомства [10]. Нельзя исключить и повышенное использование глюкозы в печени для синтеза гликозамингликанов, интенсификация которого наблюдается при экзогенных интоксикациях, в том числе и при алкоголизации [1]. Кроме того, в результате пренатальной алкогольной интоксикации из-за накопления НАД⁺Н происходит смещение лактатдегидрогеназной реакции в сторону образования лактата, что приводит к невозможности осуществления процессов глюконеогенеза из пирувата [14]. Возникает дефицит и других источников глюконеогенеза, в частности аланина и других аминокислот, количество которых при пренатальной алкогольной интоксикации резко снижается [13].

Заключение

Таким образом, результаты проведённого исследования свидетельствуют о формировании существенных нарушений регуляции гликемии у потомства, перенесшего алкогольную интоксикацию во внутриутробном периоде, сохраняющихся в отдалённые периоды постнатального развития.

Список литературы

1. Курч Н.М., Высокогорский В.Е. Нарушение метаболизма углеводсодержащих компонентов соединительной ткани поджелудочной железы при моделировании пренатальной алкогольной интоксикации // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2010. — №11. — С. 52—56.
2. Курч Н.М., Мкртчян О.З. Влияние пренатальной алкогольной интоксикации на структуру поджелудочной железы на фоне применения антиоксидантов // Морфология. — 2008. — №2. — С. 74—75.
3. Меликян М. А. Гипогликемический синдром в детском возрасте // Доктор.Ру. — 2009. — №6(50). — С. 55—61.
4. Практическое руководство по энзимологии: Учеб. пособие. — М.: Высш.школа, 1980. — 272 с.
5. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. — М.: Медицина, 1977. — 390 с.
6. Шилко В.И., Малахова Ж.Л., Бубнов А.А. Алкогольный синдром плода // Нижегород. журн. — 2008. — №2. — С. 95—100.
7. Chen L., Nyomba B.L. Whole body insulin resistance in rat offspring of mothers consuming alcohol during pregnancy or lactation: comparing prenatal and postnatal exposure // J. Appl. Physiol. — 2004. — №96(1). — P. 167—172.
8. De Leo'n D.D., Stanley C.A. Mechanisms of Disease: advances in diagnosis and treatment of hyperinsulinism in neonates // Nat. Clin. Pract. Endocr. & Met. — 2007. — №3(1). — P. 57—68.
9. Hafko R., Orecna M., Bacova Z. et al. Mechanism of ethanol-induced insulin secretion from INS-1 and INS-1E tumor cell lines // Cell. Physiol. Biochem. — 2009. — №24(5—6). — P. 441—450.
10. Jackson B.T., Piasecki G.J., Cohn H.E., Cohen W.R. Control of fetal insulin secretion // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. — 2000. — №279(6). — P. 2179—2188.
11. Lancaster F.E., Spiegel K.S. Alcoholic and nonalcoholic beer drinking during gestation: offspring growth and glucose metabolism // — 1992. — №9(1). — P. 9—15.
12. McGowan J.E. Neonatal Hypoglycemia // Ped. In Rew. — 1999. — №20. — P. 6—15.
13. Mitanchez D. Glucose Regulation in Preterm Newborn Infants // Horm. Res. — 2007. — №68. — P. 265—271.
14. Ramadoss J., Wu G., Cudd T.A. Chronic binge ethanol-mediated acidemia reduces availability of glutamine and related amino acids in maternal plasma of pregnant sheep // Alcohol. — 2008. — №42(8). — P. 657—666.
15. Rozance P.J., Hay W.W. Describing hypoglycemia — definition or operational threshold? // Early Hum. Dev. — 2010. — №86(5). — P. 275—280.
16. Saadeh M., Ferrante T.C., Kane A. et al. Reactive oxygen species stimulate insulin secretion in rat pancreatic islets: studies using mono-oleoyl-glycerol // PLoS One. — 2012. — №7(1). — P. 1—10.
17. Sumida K.D., Cogger A.A., Aleksey V., Matveyenko A.V. Alcohol-Induced Suppression of Gluconeogenesis is Greater in Ethanol Fed Female Rat Hepatocytes Than Males // Alcohol. — 2007. — №41(2). — P. 67—75.

18. Witek-Janusek L. Maternal ethanol ingestion: effect on maternal and neonatal glucose balance // *Am. J. Physiol.* — 1986. — №251. — P. 178—184.

19. Yao X.H., Nyomba B.L. Hepatic insulin resistance induced by prenatal alcohol exposure is associated with reduced PTEN and TRB3 acetylation in adult rat offspring // *Am. J.*

Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. — 2008. — №294. — P. 1797—1806.

20. Zhao Z., Yu M., Crabb D., Xu Y., Liangpunsakul S. Ethanol-Induced Alterations in Fatty Acid-Related Lipids in Serum and Tissues in Mice // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* — 2010. — №8. — P. 1530—1532.

THE SPECIALITIES OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN ALCOHOLIZED PRENATAL OFFSPRING

KURCH N.M.

PhD, assistant of Department of Biochemistry OmSMA

VYSOKOGORSKIY V.E.

professor, head of Department of Biochemistry OmSMA

State Budgetary Institution of Higher Professional Education «Omsk State Medical Academy»

of Public Health and Social Development Ministry of Russian Federation,

644043, Omsk, Lenin Str., 12, e-mail: rector@omsk-osma.ru

Effect of prenatal alcohol intoxication on carbohydrate metabolism regulation in offspring aged 15, 30 and 60 days was studied. For this purpose to female white mongrel rats intragastral (4 g/kg) ethanol injections were made during the gestation period. Statistically significant decrease of plasma glucose level within the all observation terms was found. Plasma insulin growth at the age of 30, 60 days, and glucagon decrease at the age of 60 days were revealed. These changes were accompanied by the liver phosphorylase activity increase at the age of 15, 30 as well as glucose-6-phosphatase activity decrease in the same period of time. Plasma cortisol concentration in alcoholized prenatal rats had no any statistically significant differences compared with a control group. The received results testify to essential influence of prenatal alcohol intoxication on carbohydrate metabolism regulation in the remote terms of postnatal period.

Key words: prenatal alcohol intoxication, carbohydrate metabolism, hypoglycemia, insulin, glucagon