

УДК 615.099:615.451.13+612.015.32-092.9-053.13

©Курч, Высокогорский

НАРУШЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА УГЛЕВОДОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПРЕНАТАЛЬНОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Н.М. Курч, В.Е. Высокогорский*

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования “Омская государственная медицинская академия” Министерства здравоохранения и социального развития, 644043, Омск, ул. Ленина, 12; эл. почта: nkurch@mail.ru

Исследовано влияние пренатальной алкогольной интоксикации на показатели углеводного обмена в различные сроки постнатального развития потомства (15, 30 и 60 суток). Обнаружено снижение уровня глюкозы в плазме крови в сравнении с аналогичными показателями в контрольной группе. В гомогенатах печени выявлено увеличение активности фосфорилазы и снижение активности глюкозо-6-фосфатазы, альдолазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Эти изменения сопровождались ростом индекса лактат/пируват за счёт увеличения содержания лактата в ткани печени. Полученные данные свидетельствуют о существенных нарушениях показателей углеводного обмена у пренатально алкоголизированного потомства, выразившихся в развитии стойкой гипогликемии, подавлении гликолитического и пентозофосфатного путей превращения глюкозы, накоплении лактата в печени.

Ключевые слова: пренатальная алкогольная интоксикация, углеводный обмен, гипогликемия, гликогенолиз, пентозофосфатный путь, гликолиз.

ВВЕДЕНИЕ. Одной из часто встречающихся проблем неонатального периода является гипогликемия, которая в ряде случаев может приводить к так называемому “синдрому внезапной смерти” [1]. Чаще всего гипогликемия встречается у недоношенных детей, при задержке внутриутробного развития, при осложненной беременности и патологических родах [2]. Спектр причин, вызывающих нарушения контроля гликемии, очень широк, а клинические проявления не имеют специфических признаков или моносимптомны, что вызывает определенные затруднения в диагностике. Довольно часто гипогликемия новорожденных является физиологическим состоянием и носит транзиторный характер. В основе развития транзиторной гипогликемии лежит высокая потребность в глюкозе у новорожденного, а также низкая активность ферментов, участвующих в реакциях глюконеогенеза [3]. Более длительный характер носят гипогликемии, причиной которых являются различные формы врожденного гиперинсулинизма [4]. Между тем, иногда остаются без должного внимания неонатологов гипогликемии у детей, рождённых

* - адресат для переписки

ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН

от матерей, употреблявших алкоголь во время беременности. У таких детей гипогликемическое состояние имеет более продолжительный характер и вызывает ряд необратимых негативных последствий, особенно со стороны центральной нервной системы.

Уровень гликемии плода напрямую зависит от глюкозы, поступающей от материнского организма через плаценту, так как процессы глюконеогенеза у плода находятся на крайне низком уровне и не могут обеспечить глюкозой его потребности [5]. Известно, что прием алкоголя вызывает гипогликемию, поэтому плод пьющих матерей может подвергаться довольно резким колебаниям уровня поступающей глюкозы. Предполагается, что в основе нарушения углеводного обмена у таких детей в неонатальном периоде лежат именно вышеуказанные колебания гликемии [6]. Экспериментальные данные свидетельствуют о развитии идуцированной этанолом гипогликемии и гипоинсулинемии у потомства крыс, алкоголизированного в пренатальном периоде, которые сопровождались снижением массы мозга, массы тела, высоким уровнем смертности в постнатальном периоде [7]. Тем не менее, сведения о причинах нарушения углеводного обмена у пренатально алкоголизированного потомства, особенно в позднем периоде постнатального онтогенеза единичны и носят противоречивый характер.

Цель настоящего исследования – выявление влияния пренатальной алкогольной интоксикации на показатели углеводного обмена в печени потомства в различные сроки постнатального онтогенеза.

МЕТОДИКА. Исследование проведено на 310 потомках белых беспородных крыс в различные сроки постнатального онтогенеза. С целью моделирования пренатальной алкогольной интоксикации половозрелым самкам ежедневно интрагастрально 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-и суток.

Уровень глюкозы в плазме крови определяли при помощи стандартного набора “Глюкоза-ФКД” глюкозооксидазным методом, триацилглицеролы (ТАГ) в сыворотке крови с помощью набора “Триглицериды” (“Hospitex Diagnostics”, Италия). Определение молочной кислоты в печени производили по реакции с параоксидифенилом, пирувата – модифицированным методом Умбрайт [8]. Активность альдолазы в ткани печени измеряли по реакции образующихся в результате гидролиза фруктозо-1,6-дифосфата триозофосфатов с 2,4-динитрофенилгидразином [9]. Активность фосфорилазы определяли по неорганическому фосфату, высвобождающегося из глюкозо-1-фосфата [10]. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы определяли по приросту восстановленного NADP [11]. Глюкозо-6-фосфатазу определяли методом Свенсона в гомогенатах, обработанных раствором тритона X-100 в конечной концентрации 0,1% [12].

Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием программы Statistica 6. Статистическая значимость различий сравниваемых величин (pU) оценивалась с помощью критерия Манна-Уитни (U). Полученные результаты представлены как Me (Q1 - Q3), где Me – медиана, Q1 – 25-й перцентиль, Q3 – 75-й перцентиль. Критический уровень значимости различий результатов принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Результаты исследования уровня глюкозы в плазме крови свидетельствовали о формировании стойкой гипогликемии у потомства, перенесшего алкогольную интоксикацию во внутриутробном периоде. В данной группе концентрация глюкозы статистически значимо ниже контрольных значений в возрасте 15 и 30 суток в 1,3 раза, в возрасте 60 суток – в 1,4 раза (табл. 1).

Таблица 1. Уровень глюкозы в плазме крови, ммоль/л, Ме (Q1-Q3).

Группы	Возраст животных		
	15 суток	30 суток	60 суток
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

Признаки гипогликемии сохраняются в течение довольно длительного периода постнатального развития, хотя алкоголизация осуществлялась только в период беременности самок. Такая динамика гликемии свидетельствует о формировании выраженных нарушений углеводного обмена под воздействием пренатальной алкогольной интоксикации.

Последствием моделирования пренатальной алкогольной интоксикации явилось увеличение в печени потомства активности фосфоорилазы в возрасте 15 суток на 21,8%, в возрасте 30 суток – на 15,1% (табл. 2). При достижении 60-суточного возраста активность фосфоорилазы снизилась и не имела статистически значимых различий от значений контрольной группы.

Одновременно отмечалось некоторое снижение активности глюкозо-6-фосфатазы в печени потомства на ранних сроках постнатального развития. Так, в возрасте 15 суток активность данного фермента статистически значимо ниже контрольных цифр в 1,6 раза (табл. 2). При достижении животными 30-суточного возраста происходило увеличение активности глюкозо-6-фосфатазы, однако значения данного показателя были снижены относительно контрольных значений в 1,4 раза. В дальнейшем показатели активности глюкозо-6-фосфатазы не имели отличий от аналогичных в группе “Контроль”.

По мнению ряда авторов [13], в основе гипогликемического эффекта алкогольной интоксикации лежит снижение процессов глюконеогенеза и низкий резерв гликогена в печени. Подобные изменения являются следствием избыточного образования восстановленного NAD, что приводит к смещению равновесия в лактатдегидрогеназной реакции в сторону образования лактата и переключению на анаэробный путь гликолиза, требующего более значительного потребления глюкозы для эффективного энергообеспечения [14]. В ткани печени потомства, перенесшего пренатальную алкогольную интоксикацию, содержание лактата в возрасте 15 суток превышает контрольные значения в 1,3 раза, в возрасте 30 суток – в 1,4 раза, в возрасте 60 суток – 1,3 раза (табл. 2). Рост содержания лактата в ткани печени пренатально алкоголизированного потомства сопровождался увеличением уровня пирувата. В возрасте 15 и 30 суток содержание пирувата выше в 1,3 раза относительно аналогичного показателя в группе “Контроль”. В возрасте 60 суток эта разница возросла и составила 2,2 раза.

ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН

Таблица 2. Показатели углеводного обмена в ткани печени, Ме (Q1-Q3).

Показатель	Группа	Возраст животных		
		15 суток	30 суток	60 суток
Фосфорилаза, 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
Альдолаза, ЕД/г белка	Контроль	53,53 (47,34-58,27)	47,57 (39,89-56,39)	61,85 (53,29-76,42)
	Алкоголь	44,94 (39,91-52,11) pU=0,036	39,09 (32,40-45,29) pU=0,015	47,72 (40,82-54,15) pU=0,002
Глюкозо-6-фосфат- дегидрогеназа, мкмоль/мин*г белка	Контроль	38,96 (37,69-39,50)	60,15 (53,48-114,69)	77,16 (68,69-91,32)
	Алкоголь	14,22 (11,18-27,15) pU=0,003	30,61 (24,76-37,68) pU=0,002	18,93 (15,33-27,48) pU=0,001
Лактат, мг/г ткани	Контроль	0,044 (0,037-0,047)	0,040 (0,029-0,047)	0,043 (0,034-0,049)
	Алкоголь	0,058 (0,054-0,063) pU=0,005	0,057 (0,042-0,061) pU=0,007	0,058 (0,051-0,063) pU=0,001
Пируват, мкг/г ткани	Контроль	30,00 (26,67-30,00)	26,67 (25,67-30,00)	51,67 (42,00-55,00)
	Алкоголь	18,33 (16,67-24,67) pU=0,001	16,67 (14,17-22,67) pU=0,001	23,17 (17,50-35,00) pU=0,001
Индекс лактат/пируват	Контроль	1,46	1,54	0,83
	Алкоголь	3,22	3,35	2,52

Так как рост лактата значительно превышал увеличение содержания в печени пирувата, то это сопровождалось увеличением индекса лактат/пируват в группе “Алкоголь” во все сроки наблюдения, что свидетельствует о преобладании анаэробных процессов.

Пренатальная алкоголизация вызывала снижение активности фермента гликолиза – альдолазы: в печени животных группы “Алкоголь” активность была ниже контрольных значений на 16,1% (возраст 15 суток), на 17,8% (возраст 30 суток) и на 22,8%(возраст 60 суток).

Более выраженные изменения отмечены и в функционировании ключевого фермента пентозофосфатного пути – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в печени. В возрасте 15 суток активность этого фермента снижалась в 2,7 раза в сравнении с данными контрольной группы, в возрасте 30 суток – в 1,9 раза (табл. 2). При достижении пренатально алкоголизированными животными возраста 60-и суток активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы была

в 4,1 раза ниже, по сравнению с соответствующим показателем контрольных особей. Это свидетельствует о значительном тормозном воздействии пренатальной алкогольной интоксикации на пентозофосфатный путь превращения глюкозы в печени потомства.

В создавшихся условиях недостаточного обеспечения глюкозой и в виду подавления скорости реакций гликолиза становится возможным включение компенсаторного механизма энергетического обмена за счёт липидов, что может приводить к усилению процесса их мобилизации и, как следствие, повышению в крови уровня триацилглицеролов. На ранних сроках постнатального развития (15 и 30 суток) в крови пренатально алкоголизированных животных выявлено статистически значимое увеличение концентрации триацилглицеролов на 16,1% и 23,8% соответственно относительно контрольных значений (табл. 3). В возрасте 60 суток отмечено снижение данного показателя до значений группы “Контроль”.

Таблица 3. Концентрация ТАГ в сыворотке крови, ммоль/л, Ме (Q1-Q3).

Группы	Возраст животных		
	15 суток	30 суток	60 суток
Контроль	1,72 (1,24-1,82)	0,96 (0,90-1,10)	0,95 (0,65-1,06)
Алкоголь	2,05 (1,73-3,27) pU=0,050	1,26 (1,19-1,64) pU=0,024	0,96 (0,76-1,10) pU=0,739

ОБСУЖДЕНИЕ. Полученные нами данные свидетельствуют о выраженных нарушениях углеводного обмена при моделировании в пренатальном периоде алкогольной интоксикации, среди которых одним из наиболее серьезных является снижение уровня глюкозы крови. Токсическое воздействие алкогольной интоксикации на метаболизм плода реализуется в течение длительного отрезка времени ввиду низкой активности ферментных систем печени плода [15], обезвреживающих этанол и продукты его окисления. Согласно литературным данным [16], после рождения потребности в глюкозе у организма резко возрастают, так как прерывается снабжение глюкозой за счёт материнского организма. В связи с этим, у новорожденных наблюдается существенное увеличение активности процессов гликогенолиза и глюконеогенеза [17]. Кроме того, усиленно секретируемый в этот период кортизол стимулирует активность глюкозо-6-фосфатазы в печени, и, следовательно, высвобождение глюкозы в кровеносное русло [18]. В условиях развития гипогликемии вполне ожидаемым явлением могло быть увеличение активности глюкозо-6-фосфатазы. Однако, как показывают результаты проведенного исследования, при пренатальном воздействии алкогольной интоксикации такого роста активности данного фермента не происходит и даже отмечается некоторое снижение активности глюкозо-6-фосфатазы на ранних сроках постнатального онтогенеза и поэтому эффективного вклада гликогенолиза в повышение уровня глюкозы не происходит.

Одним из дополнительных путей отвлечения глюкозы при алкогольной интоксикации, вносящим вклад в развитии гипогликемии, так же может быть усиленный синтез глюкуроновой кислоты. Глюкуроновый путь обмена глюкозы обеспечивает ткани гликозаминогликанами, принимает участие

ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН

в обезвреживании ксенобиотиков. Ранее нами показано, что пренатальная алкогольная интоксикация приводит к изменению метаболизма углеводсодержащих биополимеров, сопровождающихся увеличением содержания в тканях глюкуроновой кислоты, гликозаминогликанов [19]. Кроме того, при интоксикации алкоголем глюкуроновая кислота участвует в обезвреживании токсических соединений, образующихся при участии этанола и ацетальдегида, путем образования глюкуронидконъюгатов, например, этилглюкуронидов. Поэтому при алкогольной интоксикации может возникать увеличение потребности в глюкуроновой кислоте [20].

Ранее полученные данные [21] указывают на тот факт, что на фоне дефицита глюкозы у пренатально алкоголизированного потомства увеличен уровень гликопротеинов как тканевых, так и плазменных, что также требует отвлечения определенного количества углеводов и может способствовать развитию гипогликемии.

ВЫВОДЫ. Таким образом, алкогольная интоксикация в пренатальном периоде оказывает значительное воздействие на плод, которое проявляется в постнатальном периоде существенными нарушениями углеводного обмена, сохраняющимися в отдаленные сроки. В основе такого длительного поддержания нарушения метаболизма углеводов, по-видимому, лежит дисрегуляция метаболических процессов в организме, что, в дальнейшем, может приводить к сахарному диабету [22]. Вскрытие механизмов, приводящих к подобным нарушениям при воздействии пренатальной алкогольной интоксикации, является актуальной задачей и требует дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Rozance P.J., Hay W.W.* (2006) *Biol. Neonate.*, **90**(2), 74-86.
2. *Leon D.D., Stanlyy C.A.* (2007) *Nat. Clin. Pract. Endocrin.*, **3**(1), 57-68.
3. *Mitanches D.* (2007) *Horm. Res.*, **68**, 265-271.
4. *Stanley C.A.* (2006) *Pediatr. Endocrinol.*, **4**(1), 76-81.
5. *McGowan J.E.* (1999) *Pediatrics in Review*, **20**(7), 6-15.
6. *Hay W.W.* (2006) *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.*, **117**, 321-340.
7. *Tanaka H., Suzuki N., Arima M.* (1982) *Brain. Dev.*, **4**(2), 97-103.
8. *Горячковский А.М.* (2005) *Клиническая биохимия в лабораторной диагностике*, Одесса: Экология.
9. *Камышников В.С.* (2002) *Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике*, Мн.: Беларусь.
10. *Орехович В.Н. (ред.)* (1977) *Современные методы в биохимии*, М.: Медицина.
11. *Прохорова М.И. (ред.)* (1982) *Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен)*, Л.: Изд-во ЛГУ.
12. *Практическое руководство по энзимологии* (1980) М.: Высш.школа.
13. *Witek-Janusek L.* (1986) *Am. J. Physiol.*, **251**(2), 178-184.
14. *Фаршатов Р.С., Кильдебекова Р.Н., Савлуков А.И.* (2009) *Фунд. иссл.*, **8**, 61-62.
15. *Шилко В.И., Малахова Ж.Л., Бубнов А.А.* (2008) *Нижегор. журн.*, **2**, 95-100.
16. *Ward Platt M., Deshpande S.* (2005) *Semin Fetal Neonatal Med.*, **10**, 341-350.
17. *Girard J.* (1986) *Biol. Neonate*, **50**, 237-258.
18. *Rozance P.J., Hay W.W.* (2010) *Early Hum. Dev.*, **86**(5), 275-280.

19. *Высокогорский В.Е., Арзамасова О.А., Курч Н.М.* (2010) Наркология, **9**, 72-75.
20. *Morini L., Falcón M., Pichini S., Garcia-Algar O., Danesino P., Groppi A., Luna A.* (2011) Anal. Biochem., **418**(1), 30-36.
21. *Курч Н.М., Высокогорский В.Е.* (2010) Вопр. биол., мед. и фарм. химии, **11**, 52-56.
22. *Hay W.W.* (2006) J. Physiol., **572**(1), 17-24.

Поступила: 04. 06. 2012.

**CARBOHYDRATES METABOLISM DISTURBANCES
WHEN SIMULATING PRENATAL ALCOHOL INTOXICATION**

N.M. Kurch, V.E. Vysokogorsky

Omsk State Medical Academy of Public Health and Social Development Ministry of Russian Federation, 644043, Omsk, Lenin ul., 12, e-mail: nkurch@mail.ru

The influence of prenatal alcohol intoxication on carbohydrate metabolism markers has been investigated at different terms of postnatal offspring development (15, 30 and 60 days). Plasma glucose decreased as compared with the same in control group was detected. In the liver homogenates an increase of phosphorylase activity and a decrease of glucose-6-phosphatase, aldolase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities were found. These changes were accompanied by the increase in the lactate/pyruvate index attributed to increased lactate content in the liver tissue. The obtained data indicate essential disturbances of carbohydrate metabolism markers in prenatal alcoholized offspring, which include stable hypoglycemia, suppression of glycolytic and pentosephosphate pathways of glucose metabolism and lactate accumulation in the liver.

Key words: Prenatal alcohol intoxication, carbohydrate metabolism, hypoglycemia, glycogenolysis, pentose-phosphate way, glycolysis.