

ЛИТЕРАТУРА

1. *Архипов С.А., Шкурупий В.А., Зайковская М.В. и др.* Разноправленные эффекты H_2O_2 на макрофаги и фибробласты в условиях моделирования окислительного стресса // Современ. наукоёмк. технол. — 2010. — №8. — С. 76–77.
2. *Дубинина Е.Е., Пустыгина А.В.* Окислительная модификация протеинов, её роль при патологических состояниях // Украин. биохим. ж. — 2008. — Т. 80, №6. — С. 5–18.
3. *Кулинский В.И., Колесниченко Л.С.* Глутатион ядра клетки и его функции // Вопр. биол., мед. и фармацевт. хим. — 2010. — №5. — С. 3–5.
4. *Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. и др.* Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. — Новосибирск: АРГА, 2008. — 284 с.
5. *Октябрьский О.Н., Смирнова Г.В.* Редокс-регуляция клеточных функций // Биохимия. — 2007. — Т. 72, вып. 2. — С. 158–174.
6. *Рязанцева Н.В., Жаворонок Т.В., Степовая Е.А. и др.* Окислительный стресс в модуляции апоптоза нейтрофилов в патогенезе острых воспалительных заболеваний // Бюлл. СО РАМН. — 2010. — Т. 30, №5. — С. 58–63.
7. *Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Кайгородова Е.В. и др.* Митоген-активированные протеинкиназы JNK и p38 являются редокс-зависимыми молекулярными мишенями нарушения апоптоза при окислительном стрессе // Успехи физиол. наук. — 2009. — Т. 40, №2. — С. 3–11.
8. *Чиссова В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В.* Злокачественные новообразования в России в 2011 г. (заболеваемость и смертность). — Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2013. — 289 с.
9. *Aslan M., Canatan D.* Modulation of redox pathways in neutrophils from sickle cell disease patients // *Exp. Hematol.* — 2008. — Vol. 36, N 11. — P. 1535–1544.
10. *Bignold L.P., Ferrante A.* Mechanism of separation of polymorphonuclear leukocytes from whole blood by the one-step Hypaque-Ficoll method // *J. Immunol. Methods.* — 1987. — Vol. 96, N 1. — P. 29–33.
11. *Cui J., Wang Q., Wang J. et al.* Basal c-Jun NH2-terminal protein kinase activity is essential for survival and proliferation of T-cell acute lymphoblastic leukemia cells // *Mol. Cancer Ther.* — 2009. — Vol. 8, N 12. — P. 3214–3222.
12. *Gibot L., Follet J., Metges J.P. et al.* Human caspase 7 is positively controlled by SREBP-1 and SREBP-2 // *Biochem. J.* — 2009. — Vol. 27, N 3. — P. 473–483.
13. *Negróni L., Samson M., Guignon J.M. et al.* Treatment of colon cancer cells using the cytosine deaminase/5-fluorocytosine suicide system induces apoptosis, modulation of the proteome, and Hsp90beta phosphorylation // *Mol. Cancer Ther.* — 2007. — Vol. 10. — P. 2747–2756.
14. *Ulmer A.J., Flad H.D.* Discontinuous density gradient separation of human mononuclear leukocytes using Percoll as gradient medium // *J. Immunol. Methods.* — 1979. — Vol. 30, N 1. — P. 1–10.
15. *Valko M., Rhodes C.J., Moncol J. et al.* Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer // *Chem. Biol. Interact.* — 2006. — Vol. 160. — P. 1–40.

УДК 612.122: 612.441: 612.018: 612.084: 613.81: 616.89-008.441.13: 618.3

НО24

ГОРМОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ У ПРЕНАТАЛЬНО АЛКОГОЛИЗИРОВАННОГО ПОТОМСТВА КРЫС

Наталья Львовна Самусева, Наталья Михайловна Курч, Валерий Евгеньевич Высокогорский*

Омская государственная медицинская академия

Реферат

Цель. Выявление роли гормональных нарушений в развитии гипогликемии при воздействии пренатальной алкогольной интоксикации у крыс.

Методы. Изучали влияние пренатальной алкогольной интоксикации на регуляцию метаболизма углеводов у потомства крыс в возрасте 15, 30 и 60 сут. С этой целью самкам белых беспородных крыс интрагестально вводили 40% раствор этанола в дозе 4 г/кг во время периода гестации. В плазме крови определяли концентрацию глюкозы, уровень инсулина, глюкагона, кортизола, содержание гормонов щитовидной железы.

Результаты. У потомства, алкоголизированного в пренатальном периоде, выявлено увеличение концентрации инсулина в крови в возрасте 30 и 60 сут, снижение концентрации глюкагона в возрасте 60 сут. Данные изменения сопровождалась стойкой гипогликемией. Концентрация кортизола в плазме крови пренатально алкоголизированных крыс не имела статистически значимых различий со значениями контрольной группы. Также установлено статистически значимое снижение концентрации трийодтиронина в возрасте 60 сут на фоне увеличения содержания в крови тироксина.

Вывод. Полученные результаты свидетельствуют о существенном влиянии пренатальной алкогольной интоксикации на процессы регуляции метаболизма углеводов в отдалённые сроки постнатального периода: установлено развитие разнонаправленных изменений уровня инсулина, глюкагона и тиреоидных гормонов в крови потомства, сохраняющихся в отдалённые периоды постнатального онтогенеза, что может играть немаловажную роль в развитии гипогликемии, а также определять высокий уровень мертворождённости и ранней постнатальной летальности.

Ключевые слова: пренатальная алкогольная интоксикация, гипогликемия, инсулин, глюкагон, тиреоидные гормоны.

Адрес для переписки: nlsam@mail.ru

HORMONAL IMBALANCE IN PRENATALLY ALCOHOLIZED RAT OFFSPRING *N.L. Samuseva, N.M. Kurch, V.E. Vysokogorskiy. Omsk State Medical Academy, Omsk, Russia.* **Aim.** To identify the role of hormonal imbalance in the development of hypoglycemia in rats exposed to prenatal alcohol intoxication. **Methods.** Effects of prenatal alcohol intoxication on carbohydrate metabolism regulation in rat youngens aged 15, 30 and 60 days were studied. For this purpose, intragastral injections of 40% ethanol (4 g/kg) were performed in female white random rats during the gestation period. Glucose, insulin, glucagon, cortisol, thyroid hormones serum concentrations were determined. **Results.** In offspring of rats exposed to alcohol during the prenatal period, increased blood insulin concentration at the age of 30, 60 days, reduced glucagon concentration at the age of 60 days were found. These changes were accompanied by persistent hypoglycemia. Plasma cortisol concentration in rats exposed to alcohol during the prenatal period had no any statistically significant differences compared to a control group. Statistically significant reduction of triiodothyronine in the age of 60 days accompanied by an increased blood thyroxin level was also observed. **Conclusion.** The gained results suggest the essential influence of prenatal alcohol intoxication on carbohydrate metabolism regulation in the remote terms of postnatal period. Prenatal alcohol exposure leads to the development of differently directed changes in offspring blood insulin, glucagon and thyroid hormones remaining in remote periods of postnatal ontogenesis, that may play a significant role in the development of hypoglycemia, and define the high level of the still birth and early postnatal mortality. **Keywords:** prenatal alcohol intoxication, hypoglycemia, insulin, glucagon, thyroid hormones.

Общая напряжённая ситуация с употреблением алкоголя в России, сопровождающаяся существенным ростом женского алкоголизма [4], привлекает внимание исследователей к возможным механизмам воздействия алкогольной интоксикации на развитие плода. Согласно литературным данным [5, 8, 13], употребление алкоголя во время беременности нарушает нормальное течение эмбрио- и фетогенеза, что может сопровождаться развитием метаболических нарушений. Один из предикторов неблагоприятного исхода неонатального периода – гипогликемия, которая в ряде случаев может приводить к так называемому «синдрому внезапной смерти» [11]. Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о развитии индуцированной этанолом гипогликемии и гипoinsулинемии у потомства крыс [15]. Наряду с этим хроническая алко-

гольная интоксикация может провоцировать нарушение функций щитовидной железы у новорождённых, перенёсших внутриутробную алкогольную интоксикацию [1, 7], что вносит свой вклад в дестабилизацию метаболизма углеводов у новорождённых. Тем не менее, сведения о причинах метаболических сдвигов у пренатально алкоголизированного потомства, особенно в позднем периоде постнатального онтогенеза, единичны и носят противоречивый характер.

Настоящее исследование проведено с целью выявления роли гормональных нарушений в развитии гипогликемии при воздействии пренатальной алкогольной интоксикации в различные сроки постнатального онтогенеза.

Объектом исследования стало потомство аутбредных крыс линии Wistar, алкоголизированных на протяжении всей беременности 40%

Таблица 1

Концентрация глюкозы и гормонов в плазме крови у потомства крыс в эксперименте, Ме (Q_1 – Q_3)

Показатель	Группа	Возраст животных, сут		
		15	30	60
Глюкоза, ммоль/л	Контроль	5,74 (5,14–6,39), n=33	6,29 (5,75–9,69), n=30	7,99 (7,00–8,19), n=38
	Алкоголь	4,27 (3,55–5,39), n=55, pU=0,003	4,60 (3,72–5,95), n=41, pU=0,006	5,52 (4,84–6,14), n=37, pU=0,001
Инсулин, нМЕ/мл	Контроль	200,2 (104,3–593,5), n=9	268,7 (209,5–548,3), n=10	449,5 (291,0–802,8), n=10
	Алкоголь	226,1 (150,1–638,7), n=11, pU=0,638	650,7 (478,4–840,9), n=10, pU=0,049	879,7 (812,3–909,1), n=12, pU=0,041
Глюкагон, нг/мл	Контроль	24,9 (14,3–32,3), n=10	34,9 (34,2–39,7), n=10	74,1 (67,1–80,4), n=10
	Алкоголь	27,7 (10,8–46,6), n=10, pU=0,971	34,3 (15,2–48,5), n=12, pU=0,968	34,3 (31,6–49,6), n=11, pU=0,009
Кортизол, нмоль/л	Контроль	26,4 (19,7–30,3), n=10	58,2 (46,6–72,9), n=10	50,1 (47,4–57,1), n=10
	Алкоголь	29,6 (12,0–42,0), n=10, pU=0,904	68,1 (55,1–87,1), n=12, pU=0,481	48,3 (35,5–57,1), n=12, pU=0,436

Примечание: pU – статистический уровень значимости различий в сравнении с показателями группы «Контроль» (критерий Манна-Уитни).

раствором этанола в дозе 4 г/кг массы тела животного. Потомство, полученное от этих самок, составило группу «Алкоголь» (n=133). Самки контрольной группы получали эквивалентное количество изотонического раствора натрия хлорида. Потомство данных самок составило группу «Контроль» (n=101). Животных выводили из эксперимента путём цервикальной дислокации в возрасте 15, 30, 60 сут.

Концентрацию глюкозы в плазме крови определяли при помощи стандартного набора «Глюкоза-ФКД» глюкозооксидазным методом. С помощью иммуноферментного анализа определяли концентрацию инсулина в крови [набор «Rat Insulin (INS) ELISA Kit», «Cusabio Biotech CO., Ltd»] и глюкагона [набор «Rat Glucagon (GC) ELISA Kit», «Cusabio Biotech CO., Ltd»]. Уровень кортизола определяли с применением набора реактивов «СтероидИФА-кортизол-01» («Компания Алкор Био», Санкт-Петербург), содержание гормонов щитовидной железы – с помощью наборов фирмы «CISBIOINTERNATIONAL» (Франция).

Статистическую значимость различий сравниваемых величин (p) оценивали с помощью критерия Манна-Уитни (U) и Стьюдента. Критический уровень значимости различий результатов принимали равным 0,05.

Интоксикация 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 сут был статистически значимо ниже контрольных значений на 25,6%, в возрасте 30 сут – на 26,9% (табл. 1). При достижении животными половозрелого возраста (60 суток) низкий уровень глюкозы сохранился. Хорошо известно, что содержание глюкозы определяет секрецию инсулина, и при выраженной гипогликемии можно ожидать гипосекреции инсулина и повышенной секреции контринсулярных гормонов.

Однако нами установлено, что у потомства крыс, перенёвших алкогольную интоксикацию в пренатальном периоде, возникают противоположные ожидаемым изменения концентрации гормонов в крови. В возрасте 15 сут концентрация инсулина в крови алкоголизированного потомства не имела статистически значимых отличий от контрольных значений, в возрасте 30 сут происходило увеличение данного показателя в 2,42 раза (табл. 1).

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.

Концентрация глюкагона в возрасте 15 и 30 сут статистически значимо не отличалась от данного показателя группы «Контроль» (см. табл. 1). Однако в возрасте 60 сут происходило снижение содержания глюкагона у пренатально алкоголизированного потомства в

2,16 раза относительно контрольных значений. При исследовании уровня кортизола статистически значимых отличий от значений данного показателя в контрольной группе не выявлено во все сроки наблюдения.

Изменения уровня тиреоидных гормонов у пренатально алкоголизированного потомства зарегистрированы также в более поздние сроки постнатального периода. Так, в возрасте 30 сут концентрация трийодтиронина ($4,93 \pm 0,19$ пмоль/л) оказалась сниженной на 26,9% ($p < 0,05$) по отношению к аналогичному показателю в группе «Контроль» ($6,74 \pm 0,56$ пмоль/л), а концентрация тетраiodтиронина ($13,41 \pm 2,05$ пмоль/л) в возрасте 60 сут увеличивалась в 2,9 раза ($p < 0,05$) в сравнении с группой «Контроль» ($4,71 \pm 0,80$ пмоль/л). Значимых изменений в других возрастных группах не отмечено.

Значительные нарушения гормональной регуляции, вызвавшие развитие гипогликемии отразились на уровне летальности и мертворождённости (табл. 2). Наиболее высокая летальность потомства в процессе постнатального развития соответствовала динамике гормональных изменений и наблюдалась в возрасте 30 сут. В возрасте 30 и 60 сут также отмечены случаи гибели пренатально алкоголизированных животных (2,10%), общая летальность составила 23,47%.

Как показали результаты проведённого исследования, у пренатально алкоголизированного потомства возникает стойкое снижение концентрации глюкозы в крови, которое сохраняется в отдалённые сроки постнатального онтогенеза – до достижения половозрелости. В отличие от общепринятых представлений [14] о том, что причиной гипогликемии при хронической алкогольной интоксикации является торможение глюконеогенеза, в основе гипогликемии, вызванной пренатальной интоксикацией, могут лежать изменения регуляторных механизмов, в частности изменения уровня гормонов. Гиперинсулинемия, развивающаяся в результате пренатального воздействия алко-

Таблица 2

Уровень мертворождённости и летальности (%) пренатально алкоголизированного потомства крыс

Показатель	Контроль, n=225	Алкоголь, n=140
Мертворождённые	0	17,14
Летальность в возрасте 15 сут	1,33	7,14
Летальность в возрасте 30 сут	4,0	14,29
Летальность в возрасте 60 сут	0	2,14
Общая летальность	5,33	23,47

ля, по мнению некоторых авторов [12], может быть вызвана активными формами кислорода, интенсивно генерируемыми в данных условиях. Иницируемый в условиях интоксикации этанолом окислительный стресс в тканях потомства крыс, дисбаланс антиоксидантной системы [3] могут предрасполагать к дисфункции β -клеток поджелудочной железы [10]. Исследования последних лет [9] указывают на значительную роль эпигенетических механизмов, включающихся в результате воздействия алкоголя и потенцируемого этим воздействием окислительного стресса. Отсутствие значимых изменений в уровне кортизола может быть обусловлено эпигенетическими изменениями хроматина, влияющими на количество внутриклеточных глюкокортикоидных рецепторов [6]. Активность щитовидной железы у потомства в раннем периоде постнатального онтогенеза оказалась в среднем в 2 раза выше, чем у взрослых особей, что соответствует интенсивным темпам роста [2]. Развитие дистиреоидной ситуации у пренатально алкоголизированного потомства может быть предпосылкой для последующего развития метаболических сдвигов.

ВЫВОДЫ

1. Пренатальная алкогольная интоксикация приводит к формированию существенных регуляторных нарушений, проявляющихся в виде разнонаправленных изменений концентрации инсулина, глюкагона и тиреоидных гормонов в крови потомства.

2. Гипогликемия, вызванная пренатальной алкогольной интоксикацией, обусловлена изменениями гормональной регуляции.

3. Дисгормональные изменения у потомства, алкоголизированного во внутриутробном периоде, проявляются в отдалённые сроки постнатального онтогенеза и могут выступать в качестве фактора, определяющего высокий уровень мертворождённости и ранней постнатальной летальности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авдеева Т.Г., Алимова И.Л. Влияние алкоголизма матери на состояние здоровья новорождённого //

Педиатрия. — 1994. — №5. — С. 57–58.

2. Рендаков Н.Л., Тютюнник Н.Н., Сироткина Л.Н. и др. Содержание тиреоидных гормонов и активность лизосомальных протеиназ у вуалевых песцов в условиях промышленной доместикиции // Вестник ВОГиС. — 2009. — Т. 13, №3. — С. 624–638.

3. Самусева Н.Л., Курч Н.М., Высокогорский В.Е. Интенсивность свободнорадикальных процессов и нарушение закономерностей органогенеза у пренатально алкоголизированных крыс // Сиб. вестн. психиатр. и наркол. — 2003. — Т. 1, №27 — С. 69–71.

4. Соколовская Т.А. Влияние перинатальных факторов на формирование инвалидности у детей // Детск. и подростк. реабил. — 2005. — Т. 2, №5 — С. 11–15.

5. Шилко В.И., Малахова Ж.Л., Бубнов А.А. Алкогольный синдром плода // Нижегород. ж. — 2008. — №2. — С. 95–100.

6. Cottrell E.C., Seckl J.R. Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of adult disease front // Behav. Neurosci. — 2009. — Vol. 3. — P. 19.

7. Hannigan I.N., Naber I.M., Martier S.S., Read K.S. Use of newborn screening data to assess possible fetal alcohol effects in infants: preliminary report of methods and thyroxine levels // Alcoholism: Clin. Exp. Res. — 1992. — Vol. 16, N 2. — P. 383.

8. Henderson G.J., Devi B.G., Peres O., Schenker S. In utero ethanol exposure elicits oxidative stress in the rat fetus // Alcoholism. — 1995. — Vol. 3. — P. 714–740.

9. Mandrekar P. Epigenetic regulation in alcoholic liver disease // World. J. Gastroenterol. — 2011. — Vol. 17, N 20. — P. 2456–2464.

10. Reusens B., Theys N., Remacle C. Alteration of mitochondrial function in adult rat offspring of malnourished dams // World J. Diabetes. — 2011. — Vol. 2, N 9. — P. 149–157.

11. Rozance P.J., Hay W.W. Hypoglycemia in newborn infants: features associated with adverse outcomes // Biol. Neonate. — 2006. — Vol. 90, N 2. — P. 74–86.

12. Saadeh M., Ferrante T.C., Kane A. et al. Reactive oxygen species stimulate insulin secretion in rat pancreatic islets: studies using mono-oleoyl-glycerol // PLoSOne. — 2012. — Vol. 7, N 1. — P. 1–10.

13. Strandberg-Larsen K. Alcohol drinking pattern during pregnancy and risk of infant mortality // Epidemiology. — 2009. — Vol. 20, N 6. — P. 884–891.

14. 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. — Vol. 41, N 2. — P. 67–75.

15. Tanaka H., Suzuki N., Arima M. Experimental studies on the influence of male alcoholism on fetal development // Brain. Dev. — 1982. — Vol. 4, N 1. — P. 1–6.