

Sıçanlara Oral Yolla Uzun Süreli Uygulanan Alkolün Gebelik Öncesi, Gebelik ve Laktasyon Dönemlerinde Serum İnsülin ve Glukagon Hormon Düzeylerine Etkisi*

Birsen ZEYBEK, Gülhan TÜRKMEN

İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 26.03.2001

Özet: Bu çalışmada uzun süreli alkol kullanımının sıçanların gebelik ve laktasyon dönemlerinde insülin ve glukagon hormon düzeylerine yaptığı etkiler incelenmiştir.

Materyal olarak Wistar albino soyu 200 ± 20 g. ağırlığında dişi sıçanlar seçilmiştir. Kontrol grubunda 15 adet, deneme grubunda kronik alkolizm oluşturulan 25 adet dişi sıçan yer almış, kontrol grubuna sukrozlu % 0.9'luk NaCl (serum fizyolojik) verilirken, deneme grubuna da 5 g/kg/gün dozda %20'lik etil alkol uygulanmıştır.

Gebelik öncesi (1), gebelik (3) ve laktasyon (1) dönemlerinde toplam 5 kere alınan kanların serumlarında insülin ve glukagon hormonu tayinleri RIA yöntemiyle yapılmıştır.

Araştırma sonuçlarına göre, kontrol grubunda serum insülin düzeyleri gebeliğin 3. trimester dönemine kadar yükselirken daha sonra düşmüştür. Aynı olgu deneme grubunda da gözlenmiş ancak deneme grubu hayvanların gebelik öncesi kontrol grubundan daha düşük olan düzeylerinin gebelik sırasında kontrol grubundan daha yüksek olduğu ($p < 0.01$) saptanmıştır.

Glukagon düzeyleri hem kontrol hem de deneme gruplarında gebelikte birlikte yükselmeye başlamış, 3. trimester döneminde düşen düzeyler laktasyon döneminde tekrar yükselmiştir. Ancak serum insülin düzeylerinde gözlenen deneme grubu düzeylerinin kontrol grubundan yüksekliğinin, glukagon düzeylerinde tersine döndüğü ve kontrol grubu düzeylerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak uzun süreli etanol verilen gruplarda gebelik öncesi dönem hariç tüm dönemlerde serum insülin düzeyleri yükselirken, glukagon düzeylerinin tüm dönemlerde gerilediği gözlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: İnsülin, Glukagon, Etil Alkol, Sıçan, Gebelik Öncesi, Gebelik, Laktasyon

Long-term Administration of Alcohol in Rats: Effects on Glucagon and Insulin Levels in Sera During Pre-Pregnancy, Pregnancy and Lactation Periods

Abstract: The effects of long-term administration of ethyl alcohol on insulin and glucagon hormone levels during pregnancy and lactation periods of rats were investigated.

Female wistar albinos, 200 ± 20 g, were used in this study. The control group consisted of 15 rats, and the experimental group consist of 25 ethyl-alcohol-addicted rats. While 0.9% saline (with sucrose) was to the control group, a 5 g kg perday dose of 20% ethyl alcohol was given to the experimental group. Blood samples were taken five times, during the pre-pregnancy (1), pregnancy (3), lactation (1) periods. Insulin and glucagon levels of sera were measured by RIA method.

Insulin hormone levels increased until the 3rd trimester in the control group and decreased during subsequent periods. Similar results were observed in the experimental group but levels in the experimental group in the pre-pregnancy period were lower than those in the control group, and in the pregnancy phase they were higher ($p < 0.01$). Glucagon levels in both groups began to increase, then decreased during the 3rd trimester and again increased in the lactation period. However, higher serum insulin levels were found in the experimental group compared to the control group and glucagon levels were higher in the control group than in the experimental group.

In conclusion it was seen that for the experimental group while serum insulin levels were increasing, glucagon levels decreased in all periods except the pre-pregnancy phase.

Key Words: Glucagon, Insulin, Ethyl Alcohol, Rats, Pre-Pregnancy, Pregnancy, Lactation

* Birsen Zeybek'in Y.Lisans tezinden özetlenmiştir.

Giriş

Alkol (etanol) basit bir moleküldür ve vücuttaki bütün sıvı kompartımanlarına basit difüzyonla hızla yayılır, alımından kısa bir süre sonra da etkilerini göstermeye başlar. Günümüzde alkolün ergin insanlardaki etkileri bilinmektedir. Ancak etanolün özellikle embriyo gelişimine etkileri 1940'lara kadar üzerinde durulacak bir konu olarak değerlendirilmemiştir. Son 30 yıldır karakteristik anomali örnekleri Fetal Alkol Sendromu (FAS)' un yeniden tanımlanmasını sağlamıştır. Bu olay son yıllarda özellikle Fransa ve sonra A.B.D.' de güncelleşmiştir (1). Sadece 1981 yılında 800'den fazla klinik vaka araştırılmış ve yayınlanmıştır. Yumuşak huylu FAS (düşük doğum ağırlığı) erken hamilelik döneminde bir miktar günlük (30 ml civarı) tüketimle tetiklenmektedir. Ancak tam sendrom genellikle maternal tüketimin günlük 60-75 ml saf alkol veya daha fazla miktarlara ulaşmasıyla ortaya çıkabilir. Hamile kadınlarda alkol alındığında, alkol plasental fütal dolaşıma kolayca geçebilir ve fetus kanı konsantrasyonu anne kanına eşit olabilir (1-3).

Alkolün hem embriyo gelişimine etki ettiği hem de özellikle ilk trimester ile ikinci trimester ortalarına kadar olan dönemde fetus ve anne için ciddi bir risk taşıdığı çeşitli literatürler tarafından bildirilmektedir (1-4). Bilindiği gibi, uzun süreli (kronik) alkol kullanımı karaciğer ve pankreas metabolizmasında önemli değişikliklere yol açmaktadır. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalar karaciğer enzimlerinde (ALP, AST, ALT) anlamlı artışlar olduğunu göstermektedir. (4-6). Bunun yanında alkolün karaciğerde yaptığı hasarın diğer bir sonucu olarak lipid birikiminin ortaya çıktığı ve total kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol gibi lipid fraksiyonlarını arttırdığı öne sürülmektedir (5,7). Ayrıca, uzun süreli alkol alımı sonucunda metabolizmanın hız kazanmasıyla insülin tüketiminin artışı, hiperinsülinemi ve hipoglisemi, serbest radikal birikimi, mitokondrial ve mikrotübül fonksiyon bozuklukları gözlemlendiği bildirilmektedir (8-12).

Yapılan çalışmalarda (13,14) alkol verilen sıçanlarda pankreas ağırlıklarında azalma olduğu ve aynı zamanda pankreatik β hücrelerinde stoplazmik granüllerde ve endoplazmik retikulum sayısında düşme gözlemlendiği öne sürülmektedir. Pankreasa ait muskarinik reseptörlerle hormonun bağlanma düzeyleri insülin konsantrasyonu ile direkt ilişkili olduğundan uzun dönem alkol kullanımı ile pankreasta bulunan muskarinik reseptör sayısının etkilendiği açıklanmaktadır. Buna bağlı olarak da pankreas insülin düzeyleri değiştiği böylelikle insülin

sekresyonu düştüğü için insülin eksikliği görüldüğü bildirilmektedir (15-19).

Araştırmacılar (20-22) kısa dönem alkol kullanımında ise hepatik sistem aktivitesinin baskılanmasıyla glukagon indüksiyonunun azaldığını açıklamaktadırlar. Ayrıca alkolün hepatik reseptörlerde insülin ve glukagon hormonlarının bağlanma yüzdelerinde düşüşlere (%20-25 arası) yol açtığını ileri sürmektedirler (23-25). Çeşitli araştırmacılar (25-30) tarafından gebelik ve laktasyon dönemlerinde pankreatik β hücrelerinde artan hiperplazi ve proliferasyonun, hücrelerin boyutlarındaki büyümenin, hücreler arasındaki birleşme noktalarında eşleşme artışının, insülin üretim ve sekresyonunda çoğalmanın, β hücrelerinde glikoz duyarlılığının, glikoz metabolizmasında hızlanmanın ve cAMP düzeylerinde artışın, ön plana çıkan ve üstünde durulması gerekli değişiklikler olduğu bildirilmektedir.

Glukoz intoleransı ve insülin direncindeki düşüş, alkol tüketimindeki artışa bağlı olarak adipositlerde insülin mekanizmasını düzenleyen glukoz transportunun bozulmasıyla açıklanmaktadır. (31,32). Söz konusu mekanizmada özellikle GLUT-4'ün alkol alımı sonrası insülin stimülasyonu ile hücre yüzeyine doğru olması gereken hareketinin kısmen azaldığı, insüline bağlı glukoz alımının ve endositozisin alkol konsantrasyonundaki artışa bağlı kaldığı ileri sürülmektedir (33-36).

Glukagon ve insülin hormonlarını etkileyen bir diğer faktör ise hepatik sinirlerdir (23,24,37). Kronik veya akut alkol kullanımı merkezi ve periferel sinirlerin uyarımını düşürdüğü ve bu şekilde sinirlerin baskılanmasıyla sinir uyarısına bağlı glikoz atılımının azaldığı öne sürülmektedir (37-39).

Yapılan çalışmada, kronik alkolizm oluşturulan sıçanlarda metabolizmadaki değişikliklere paralel olarak, insülin ve glukagon düzeylerinde gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon dönemlerindeki değişimleri gözlemlenerek ve bu konuda temel bilgi oluşturmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmada İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nde yetiştirilen Wistar albino soyu 200 ± 20 g. ağırlıkta, dişi sıçanlar kullanılmıştır. Kronik alkolizm oluşturmak için %20'lik etil alkol seçilmiştir. (15,16). % 0.9'luk NaCl (serum fizyolojik), hem vaginal smear preparatlarının hazırlanmasında kullanılmış, hem de

kontrol grubu hayvanlara oral yolla uygulanmıştır. Hayvanlar kontrol ve deneme olmak üzere iki gruba ayrılmışlardır.

1. Grup: (Kontrol grubu): Kronik alkolizm oluşturulmayan bu grup için, başlangıçta 30 adet dişi sıçan deneye alınmıştır. Dişi sıçanlar, erkek sıçanlarla çiftleşme kafesine konmuşlar ve vaginal smear yöntemiyle gebelikleri belirlendikten sonra 15 adeti deney kafesine aktarılmıştır. Gebelik ve laktasyon dönemlerine ait kontrol grubu olan bu hayvanlara toplam 10 hafta süre ile oral yolla serum fizyolojik verilmiştir.

2. Grup: (Deneme grubu - %20'lik alkol verilen grup): Deneme grubunda kronik alkolizm yaratmak için başlangıç aşamasında 50 adet dişi sıçan deneye alınmıştır. Bu hayvanlara, çiftleşmeye alınmadan önce, 3 hafta süre ile her gün oral yolla 5g/kg/gün dozda olacak şekilde % 20'lik etil alkol verilmiştir (15,16). Daha sonra çiftleşme kafesine alınan dişi ve erkek sıçanlara alkol uygulamasına devam edilmiştir ve dişi hayvanlarda vaginal smear yöntemiyle gebelik tayini yapılmıştır. Gebelikleri saptanan 25 adet dişi sıçan çiftleşme kafesinden ayrılarak deneyin devam edeceği diğer kafeslere alınmış ve 10 hafta süre ile alkol verilmesi sürdürülmüştür.

Her 2 gruptaki dişi sıçanlardan insülin ve glukagon tayini için, gebelik öncesi 1, gebelik devam ederken her 7 günlük dönemde (trimesterde) 1'er defadan toplam 3 kez ve laktasyon döneminde de 1 kere olmak üzere, 5 defa, eter anestezisi altında kuyrukları kesilerek kan alınmıştır.

Tablo 1. Kontrol ve Alkol Verilen Deneme Gruplarına ait Sıçanlarda Serum İnsülin Düzeyleri (ng/ml) ve önem kontrolleri.

Dönemler	Kontrol Grubu		Deneme Grubu	
	\bar{x}	S D n=15	\bar{x}	S D n=25
Gebelik Öncesi	4,56	± 0,41 a	3,86	± 0,54* a
Gebelik Dönemi				
1. Trimester	9,92	± 0,92 b	11,97	± 1,12* b
Gebelik Dönemi				
2. Trimester	15,95	± 1,24 c	18,45	± 1,33 c
Gebelik Dönemi				
3. Trimester	10,84	± 1,02 d	14,77	± 1,23** d
Gebelik Sonrası				
(Laktasyon)	8,28	± 0,91 e	10,43	± 1,14* e

* ; p<0.05, ** ; p<0.01, sütunlar arasındaki istatistiksel fark önemlidir. a,b,c,d,e; her satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (p<0.01).

Elde edilen kan örneklerinden ayrılan serumlarda Rat-RIA insülin ve Rat-RIA glukagon (Linco Research, Inc. RI-13K ve GL-32K) kitleri kullanılarak ölçümler yapılmıştır.

İstatistiki analizler için "Mann-Whitney U" testi ile "student" testi kullanılmıştır.

Bulgular

Çalışmada yer alan gruplar içinde kontrol ve deneme gruplarına ait gebelik öncesi, gebelik ve gebelik sonrası (laktasyon) dönemlerde yapılan ölçümlere ait ortalama serum insülin düzeyleri ve istatistiki analiz sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. Kontrol ve deneme gruplarına ait gebelik öncesi, gebelik ve gebelik sonrası (laktasyon) dönemlerinin ortalama serum glukagon değerleri ve istatistiki analiz sonuçları da Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tartışma

Gebelik ve laktasyon dönemlerinde, gelişen fizyolojik ve metabolik değişikliklerin bir parçası olarak, insülin ve glukagon salınımı ile doku ve organlardaki seviyelerinin düzenlenmesinin gerçekleştiği bilinmektedir (1,9,25,30,35,38,39). Gebelik ve sonrasında alkol alımının ise anne ve fetüs metabolizmasında olumsuz gelişmelere neden olduğu açıklanmaktadır (13,14,16,18,21).

Tablo 2. Kontrol ve Alkol Verilen Deneme Gruplarına ait Sıçanlarda Serum Glukagon Düzeyleri (ng/ml) ve önem kontrolleri.

Dönemler	Kontrol Grubu		Deneme Grubu	
	\bar{x}	S D n=15	\bar{x}	S D n=25
Gebelik Öncesi	293	± 2 a	261	± 17** a
Gebelik Dönemi				
1. Trimester	386	± 43 b	321	± 24** b
Gebelik Dönemi				
2. Trimester	473	± 51 c	405	± 41** c
Gebelik Dönemi				
3. Trimester	365	± 30 d	339	± 28** d
Gebelik Sonrası				
(Laktasyon)	428	± 47 e	389	± 44** e

* ; p<0.05, ** ; p<0.01, sütunlar arasındaki istatistiksel fark önemlidir. a,b,c,d,e; her satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (p<0.01).

Bir çok araştırmacı tarafından (14,16,19,22,23,31) sıçanlar üzerinde akut veya kronik alkolizm oluşturularak insülin ve glukagon hormon düzeylerindeki değişimler incelenirken, uzun süreli alkol verilen sıçanların gebelik ve laktasyon dönemlerinde adı geçen hormonların incelenmesi üzerine araştırmalara pek rastlanmamıştır, yapılan araştırma ile bu konuya ışık tutulmak istenmiştir.

Çalışmada kontrol grubuna ait gebelik öncesi, ortalama serum insülin düzeyi 4,56 ng/ml olup bu değer sağlıklı sıçanların ortalama insülin hormonu düzeyleri ile paralellik göstermektedir. (26,28,30). İnsülin düzeyleri, gebelik süresinin ilk 2 haftasında (1. ve 2. trimester) yükselme 3. dönemde (3. trimester) ve laktasyonda düşme görülmektedir. Bu sonuçlarla çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilen, sıçanların gebelik dönemlerinde ortaya çıkan metabolik farklılıklara bağlı olarak şekillenen insülin düzeyindeki değişiklikler arasında benzerlik görülmüştür (26,27,30,34,37).

Gebelik başlangıcında hem kontrol hem de deneme gruplarında yükselen insülin düzeyi 2. trimester içinde pike ulaşmış, daha sonra doğuma yakın dönemde düşüş göstermiştir. Bu yükseliş ve düşüşler, fetusun ihtiyacına paralel oluşan aşırı hormon sentezi ve metabolizmanın hızlı olmasından kaynaklanmış olabilir (20). Gebeliğin ilk dönemlerinde insülin ve glukagon hormonlarının ana rolü besin alımının kontrolü olduğu için fetal gereksinimin düzenlenmesine göre hormon salınımları artmaktadır (9,28). İnsülin plasentaya geçemediği fakat taşınabilir metabolitlere etki ettiği için insülinin kan düzeyinde artış saptanmaktadır (9,26-28). Ayrıca insülin tüketiminin artışıyla metabolizmada insülin direnci ortaya çıkabilmekte ve bunun sonucunda da insülin düzeyinde sabitlik görülebilmektedir (31,34).

Araştırmada, kontrol grubuna ait sıçanların gebelik öncesi ortalama glukagon düzeyleri 293 pg/ml olarak saptanmıştır. Bu değerler araştırmacıların sağlıklı sıçanlar için verdikleri düzeylerle benzerlik göstermektedir (26,33,37). Kontrol grubunun glukagon seviyeleri, gebeliğin ilk trimesterine göre 2. trimester döneminde artmış 3. trimester döneminde ise düşmüş ancak laktasyonda tekrar yükselmiştir. Glukagon hormonu da insülin hormonu gibi, gebelikde, fetal gereksinime göre salınımı düzenlendiğinden fetüsün beslenme büyüme ihtiyaçlarına paralel olarak (26,28) artış göstermiştir.

Çeşitli araştırmacılar (13,16,18,19,21,22) tarafından, etanolün insülin ve glukagon hormonları üzerinde etkili olduğunu açıklanmıştır.

Kucera ve ark. (23) kronik alkol kullanımının hepatik sinirleri hasara uğratması sonucu glukoz atılımı ile insülin ve glukagon düzeylerinin etkilendiğini ve yaptıkları çalışmada ortalama insülin düzeyinin 3.2 ng/ml'den 2.3 ng/ml'ye gerilediğini bildirmektedirler. Aynı olgu Laine ve ark. (21)'nce da gözlenmiş ve kronik alkol kullanımının muskarinik reseptör sayısının azalmasına buna paralel olarak insülin düzeylerinin de 4.01 ng/ml'den 2.95 ng/ml'ye bir düşürdüğünü öne sürmektedirler. Wilkes ve ark. (18) ise sıçan adipositlerinde insülinin düzenlediği glukoz transportunun, kronik etanol kullanımı ile azaldığını bildirmektedirler. Mc Cashland ve ark. (14) ise etanolün akut alımında hepatik reseptörlere insülin bağlanmasının % 20-25 oranında azaldığını belirtmektedirler.

Yapılan çalışmada kronik alkolizm oluşturulan sıçanların insülin hormonu seviyeleri gebelik öncesinde ki değerler açısından, literatür bilgilerine paralel olarak, kontrol hayvanlarının sonuçlarına göre anlamlı düzeyde düşüş gösterirken, gerek gebelik gerekse laktasyon dönemlerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde yükselmiştir (Tablo 1).

Alkolün metabolik zararlarına bağlı olarak, gebelik öncesinde azalan insülin hormonu düzeyinin gebelik ve laktasyon dönemlerinde yükselmesi, bu iki dönemde hızlanan metabolizmaya uyum sağlamak için, pankreas adacıklarındaki hücresel artışa ve adacık insülin hormonu konsantrasyonunun çoğalmasına bağlanabilir (28,30,34). Gebelik döneminde artan hücresel proliferasyonun, etanolün beta hücrelerinde yaptığı hasara karşın, insülin üreten hücreleri oldukça arttırdığı (29,30) ve metabolizmanın hızlanmasına (30,32) öncülük ettiği düşünülebilir.

Çeşitli araştırmacılar tarafından alkolün glukagon hormonu üzerine de etkili olduğu açıklanmaktadır (13,23,25). Mc Cashland ve ark. (14)'da bu etkinin karaciğer hücrelerindeki glukagon reseptörlerinin glukagon bağlanmasının engellenmesi üzerinden ortaya çıktığını öne sürmektedirler. Maillard ve ark. (22) da aynı doğrultuda etkinin varlığından söz etmişler ve etanolün glukagonun karaciğer hücrelerine bağlanmasını sağlayan reseptör sisteminin %19-30 oranında hasara uğrattığını saptadıklarını bildirmektedirler. Kucera ve ark. (23) ise

yaptıkları çalışmada kronik etanol kullanımı sonucu gelişen hepatik sinir hasarına bağlı olarak serum glukagon hormonu düzeyinin 235 pg/ml'den 186 pg/ml'ye düştüğünü belirtmektedirler

Deneme grubuna ait kronik alkolizm oluşturulmuş sıçanlarda, elde edilen glukagon değerleri (Tablo 2) kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiki açıdan anlamlı düzeyde düşüktür. Söz konusu düşüşün, etanolün hepatik sistem gibi glukagon ile bağlantılı, taşıyıcı hücresel elemanlara verdiği zarardan (13,23,25) ve etanol kullanımı ile belirli düzeyde artan insülinin etkisini kısmen azaltmaya yönelik bir davranıştan (28,30) kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Gerald, G., Briggs, R.K., Freeman, S.J., Yaffe, A.: Reference Guide to Fetal and Neonatal Risk Drugs in Pregnancy and Lactation. 5th Edition., New York, 1998; 401-549.
2. Kayaalp, S.O.: Tıbbi Farmakoloji. 3. Baskı, İstanbul, 1985; 1663-1683.
3. Yıldırım, B.D., İşcan, C.: Alkol Bağımlılığı. 3P Dergisi, Cilt: 4, Ek Sayı: 2, İstanbul, 1996; 6-10.
4. İst.Üniv. Tıp Fak. 12. Tıp Kurultayı Özet Kitabı., İstanbul, 1993; 24-25.
5. Özcan, A.: Ratlarda oral olarak verilen alkolün serum, karaciğer ve böbrekteki γ -GT, ALT ve AST düzeyleri ile karaciğer yağlanması üzerine etkileri. İst. Üniv. Sağlık Bilimleri Enst. Biyokimya Doktora Tezi, İstanbul, 1995.
6. Türkalp, I., Türkmen, G., Mengi, A., Özkazanç, D., Zohouri, A., Öztürk, K.: Tek yüksek doz etanolün ratlarda serum enzim ve lipid düzeylerine etkisi. İst. Üniv. Vet. Fak. Derg. 1997; 23(2): 212-223.
7. Onat, T., Emerk, K.: Temel Biyokimya. 2. Baskı., İstanbul, 1997.
8. P.C.Champe-R.A.Harvey. Lippincott's Biyokimya. 2. Baskı, İstanbul, 1997.
9. Greenspan, F.S., Forsham, P.H.: Basic and Clinical Endocrinology. Middle East Edition. California, 1983.
10. Candeğer, Y.: İnsülin, Sorular ve Yanıtlar. İzmir, 1993.
11. Esen, A., Özalp, D.: Farmakoloji. 2. Baskı, İstanbul, 1995.
12. Robert, H.W.: Textbook of Endocrinology. 6th Edition. A.B.D. 1996; 873-874.
13. Subramanian, M.G.: Effects of chronic alcohol administration on lactational performance in the rat. Alcohol. 1995; 12(2): 137-143.
14. McCashland, T.M., Tuma, D.J., Sorrell, M.F., Casey, C.A.: Zonal differences in ethanol-induced impairments in hepatic receptor binding. Alcohol. 1993; 10 (6): 549-554.
15. do Carmo, M.G., do Nascimento, C.M., Martin Hidalgo, A.M., Herrera, E.: Effects of ethanol intake on lipid metabolism in the lactating rat. Alcohol 1996; 13 (5): 443-448.
16. Fawcett, J., Hammond, B., Smith, G.D.: Acute effects of ethanol on hepatic endocytosis and processing of insulin in perfused rat liver. Am. J. Physiol. 1993; 264(3 Pt 1) : E 420-427.
17. Crabb, D.W.: Recent developments in alcoholism: the liver. Alcohol 1993; 11: 207-230.
18. Wilkes, J.J., DeForrest, L.L., Nagy, L.E.: Chronic ethanol feeding in a high fat diet decreases insulin-stimulated glucose transport in rat adipocytes. Am. J. Physiol. 1996; 271 (3 Pt 1): 477-484.
19. Koko, V., Todorovic, V., Nikolic, J.A., Glisic, R., Cakic, M., Lackovic, V., Petronijevic, L., Stojkovic, M., Varagic, J., Janic, B.: Rat pancreatic B-cells after chronic alcohol feeding. A morphometric and fine structural study. Histol. Histopathol. 1995; 10 (2): 325-337.
20. Lin, Y., Lee, M., Leichter, J.: Interactive effects of alcohol and diabetes during pregnancy on the rat fetus. Teratog. Carcinog. Mutagen. 1995; 15(3): 147-153
21. Laine, V.J., Hupponen, R., Kaila, T., Gronroos, J., Nevalainen, T.J.: Muscarinic receptors and insulin concentration in the rat pancreas after chronic alcohol intake and cholinergic stimulation. Exp. Toxicol. Pathol. 1996; 48 (1): 77-79.
22. Mailliard, M.E., Carippa, R., Banks, R.K.: Impairment of glucagon-induced hepatic system A activity by short-term ethanol administration in the rat. Gastroenterology. 1994; 106 (2): 480-487.
23. Kucera, T., Stumpel, F., Jungerman, K.: Impairment of metabolic hepatic nerve action by chronic but not acute ethanol intoxication studied in isolated perfused rat liver. J. Hepatol. 1997; 26 (1): 183-190.

24. Rouach, H., Houze, P., Gentil, M., Orfanelli, M.T., Nordman, R.: Changes in some pro-and antioxidants in rat cerebellum after chronic alcohol intake. *Biochem. Pharmacol.* 1997; 21: 53 (4): 539-545.
25. Cooperstein, S.J., Watkins, D.: *The Islets of Langerhans*. London, 1981.
26. Movassat, J., Saulnier, C., Serradas, P., Portha, B.: Impaired development of pancreatic beta cell mass is a primary event during the progression to diabetes in the GK rat. *Diabetologia.* 1997; 40: 916-925.
27. Nieuwenhuizen, A.G., Schuiling, G.A., Moes, H., Koiter, T.R.: Role of increased insulin demand in the adaptation of the endocrine pancreas to pregnancy. *Acta. Physiol. Scand.* 1997; 159(4): 303-312.
28. Parsons, J.A., Brelje, T.C., Sorenson, R.L.: Adaptation of islets of Langerhans to pregnancy: increased islet cell proliferation and insulin secretion correlates with the onset of placental lactogen secretion. *Endocrinology.* 1992; 130(3): 1459-1466.
29. Omori, Y.: Abnormal carbohydrate metabolism during pregnancy. *Nippon-Rinse.* 1996; 54(10): 2779-2784.
30. Sorenson, R.L., Brelje, T.C.: Adaptation of islets of Langerhans to pregnancy: Beta-cell growth, enhanced insulin secretion and the role of lactogenic hormones. *Horm. Metab. Res.* 1997; 29(6): 301-307.
31. Subramanian, M.G.: Evaluation of lactational parameters after alcohol administration for four days during early or midlactation in the rat. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 1997; 21(5): 799-803.
32. Wijkstra, S., Moes, H., Koiter, T.R.: Metabolism of pregnant-lactating rats is adapted to pregnancy rather than to lactation. *Am. J. Physiol.* 1992; 263 (4 Pt1): E766-771.
33. Chiasson, J.L., El-Ackhar, G.G., Ducros, F., Bourge, J., Maheux, P.: Glucose turnover and gluconeogenesis during pregnancy in women with and without insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin. Invest. Med.* 1997; 20(3): 140-151.
34. Nolan, C.J., Proietto, J.: The set point for maternal glucose homeostasis is lowered during late pregnancy in the rat: the role of the islet beta cell and liver. *Diabetologia.* 1996; 39(7): 785-792.
35. Koiter, T.R., Faas, M.M., Visscher, A., Kievit, C., Steffens, A.B., Schuiling, G.A.: Regulation of peripheral glucagon concentrations in cyclic, pregnant and lactating rats. *Physiol. Behav.* 1992; 51(6): 1173-1178.
36. Lucas, A., Baker, B.A., Desai, M., Hales, C.N.: Nutrition in pregnant and lactating rats programs lipid metabolism in the offspring. *Br. J. Nutr.* 1996; 76(4): 605-612.
37. Moes, H., Schuiling, G.A., Koiter, T.R.: Arginine stimulated glucagon and insulin secretion by islets of Langerhans of pregnant and lactating rats. *Horm. Metab. Res.* 1993; 25(5): 246-249.
38. Robinson, S., Viira, J., Learner, J., Chan, S.P.: Insulin insensitivity is associated with a decrease in postprandial thermogenesis in normal pregnancy. *Diabet. Med.* 1993; 10(2): 139-145.
39. Hoegsberg, B., Gruppuso, P.A., Coustan, D.R.: Hyperinsulinemia in macroscopic infants of nondiabetic mothers. *Diabetes. Care.* 1993; 16 (1): 32-36.