

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1999

УДК 616.831.41-06:616.432]-092:612.67]-092.9

Н. Д. Гончарова, Т. Э. Оганян, А. Г. Таранов

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ СТАРЕНИИ У САМОК ОБЕЗЬЯН

НИИ медицинской приматологии (дир. — акад. РАМН Б. А. Лапин) РАМН, Сочи; Новосибирский областной диагностический центр (зав. А. М. Орбей)

Представлены результаты сравнительного изучения функции коры надпочечников у самок макаков резусов (*Macaca mulatta*) разных возрастных групп: 6–9 лет (молодые половозрелые; $n = 5$) и 20–26 лет (старые; $n = 5$). Содержание кортикостероидов — кортизола (F) и дегидроэпиандростерона сульфата (ДЭАС) определяли специфичными радиоиммунологическим и иммуноферментным методами в базальных условиях, на фоне острых стрессовых воздействий (инсулининдуцированной гипогликемии, 2-часового ограничения подвижности животных) и введения дексаметазона.

Выявлено, что базальные уровни F не претерпевают выраженных возрастных различий, в то время как концентрация ДЭАС у старых животных резко снижается. Последнее демонстрировало также ослабление реакции коры надпочечников на ограничение подвижности, выражающееся в задержке пиковых значений уровня F и ДЭАС и снижении площади их ответа за исследуемый 4-часовой период. Тест с введением дексаметазона позволил выявить развитие у 20–26-летних обезьян относительной резистентности гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы к подавляющему действию глюкокортикоидов по механизму отрицательной обратной связи. Высказано предположение, что нарушения обратных связей в системе регуляции функции коры надпочечников могут быть хотя бы частично обусловлены формированием в процессе старения в периферической крови стероидного дисбаланса и прежде всего снижением содержания ДЭА (ДЭАС), известных своей нейробиологической активностью.

The adrenocortical function has been studied in *Macaca mulatta* of different age: 6–9 years (young adult, $n=5$) and 20–26 years old, $n=5$). Corticosteroids (hydrocortisone and dihydroepiandrosterone sulfate - DEAS) were measured by radioimmunoassay and enzyme immunoassay under basal conditions, during acute stress (insulin-induced hypoglycemia and 2-hour immobilization), and after dexamethasone injection.

The basal hydrocortisone levels were virtually the same in both groups, while the concentration of DEAS dropped in old animals. The reaction of the adrenal cortex to immobilization was decreased in old monkeys, which manifested by delayed peak values of both hydrocortisone and DEAS and a lesser area of their response for the examined 4-hour period. Dexamethasone test detected in monkeys aged 20–26 years the development of relative resistance of the hypothalamo-pituitary-adrenal system to the overwhelming majority of glucocorticoids by the feedback mechanism. The feedback impairment in the regulation of the adrenocortical function may be at least partially mediated by the formation of a steroid imbalance in the peripheral blood during aging, primarily by a decrease in DEA (DEAS).

В последние годы увеличивается интерес исследователей к использованию лабораторных приматов старого возраста в качестве экспериментальной модели для изучения этиопатогенеза дегенеративных заболеваний человека, таких как болезнь Альцгеймера, цереброваскулярные заболевания, возрастная патология репродуктивной системы, сахарный диабет II типа и др. Однако в литературе имеются лишь немногочисленные сведения, отражающие процесс физиологического старения обезьян, в том числе характер возрастных изменений функции эндокринных желез.

В настоящей работе представлены результаты изучения возрастных особенностей функционирования гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (ГГАС), занимающей центральное положение в интеграции процессов неспецифической адаптации организма к стрессорным факторам, у самок макаков резусов.

Материалы и методы

В опытах использовали 5 молодых фертильных самок макаков резусов (*Macaca mulatta*) в возрасте 6–9 лет (средний возраст $7,9 \pm 0,6$ года) массой тела $5,9 \pm 0,6$ кг и 5 старых животных того же пола и вида в возрасте 20–26 лет (средний возраст $22,2 \pm 0,6$ го-

да) массой тела $5,9 \pm 0,3$ кг, содержащихся в Адлерском приматологическом центре. Перед началом эксперимента в течение 2 нед животные адаптировались к условиям содержания в метаболических клетках и процедуре взятия крови.

Функциональное состояние ГГАС у обезьян оценивали в базальных условиях, на фоне стрессовых воздействий и функционального теста с дексаметазоном. Для оценки базальных уровней надпочечниковых гормонов у всех животных на протяжении эксперимента брали кровь из локтевой или бедренной вен в 9 ч 30 мин–10 ч 30 мин. Кроме того, дополнительно исследовали циркадные ритмы секреции кортикостероидов, для чего образцы крови брали в 9, 15 и 21 ч.

В качестве стрессовых воздействий использовали гипогликемию, индуцированную введением инсулина, и ограничение подвижности животных. Инсулин кратковременного действия (хумулин Р; фирма "Lilly", Франция) вводили в дозе 0,2 ЕД/кг массы тела внутривенно в 9 ч 30 мин–10 ч 30 мин. Кровь при этом брали до введения препарата (0 мин), а также через 30, 60, 120 и 240 мин после введения.

Ограничение подвижности обезьян достигалось прижатием их к передней стенке метаболической клетки путем перемещения задней подвижной стенки и продолжалось в течение 2 ч. При этом животное

Динамика концентрации F в плазме периферической крови у молодых (6—9 лет; $n = 5$) и старых (20—26 лет; $n = 5$) самок макак резусов в ответ на введение инсулина (хумулин Р; 0,2 ЕД на 1 кг массы тела внутривенно) ($M \pm m$)

Время после введения инсулина, мин	Возрастная группа	Концентрация F	
		нмоль/л	%
0	6—9 лет	560 $\pm$ 60	100
30		580 $\pm$ 80	104 $\pm$ 14
60		800 $\pm$ 140	140 $\pm$ 26
120		745 $\pm$ 60	130 $\pm$ 8
240		470 $\pm$ 50	80 $\pm$ 8
0	20—26 лет	600 $\pm$ 50	100
30		690 $\pm$ 60	110 $\pm$ 10
60		830 $\pm$ 80	140 $\pm$ 15
120		745 $\pm$ 90	120 $\pm$ 13
240		540 $\pm$ 50	90 $\pm$ 8

обычно находилось в вертикальном положении, конечности и туловище не были жестко фиксированы. Кровь брали сразу после прижатия животных (0 мин), а также через 30, 60, 120 и 240 мин после начала стрессирования.

Дексаметазон (фирма KRKA, Словения) вводили в утренние часы (9 ч 30 мин—10 ч 30 мин) внутримышечно в дозе 4 мг/сут в течение 2 сут. Кровь брали до введения препарата (0 мин), а также через 1, 2 и 3 сут после введения.

Все полученные образцы крови центрифугировали для получения плазмы, которую впоследствии хранили при -20°C до проведения гормонального и биохимического анализа. В плазме крови определяли содержание кортизола (F), дегидроэпиандростерона сульфата (ДЭАС) вместе с дегидроэпиандростероном (ДЭА) и глюкозы. Концентрацию F измеряли прямым радиоиммунологическим методом, разработанным на основе специфичной антисыворотки (фирма "Sigma", США) и [1, 2, 6, 7- ^3H]-кортизола ("Изотоп", Санкт-Петербург). Чувствительность метода составляет 15 нг/мл. Содержание ДЭАС определяли иммуноферментным твердофазным методом с помощью наборов фирмы "Bio-Rad Laboratories", предварительно адаптированным к плазме крови самок макак резусов. Чувствительность метода определения ДЭАС составляет 11 нг/мл. Коэффициент вариации значений F и ДЭАС в пределах одной реакции не превышал 10%, разных реакций — 12%. Уровень глюкозы определяли глюкозооксидазным методом (фирма "Lachema", Чехия).

Статистическую обработку данных проводили по Стьюденту. Расчет площади ответа F и ДЭАС на острое стрессовое воздействие проводили по формуле трапеций [1].

Результаты и их обсуждение

Сравнительный анализ базальных уровней F в плазме периферической крови у старых и молодых самок обезьян позволил выявить отсутствие достоверных возрастных различий (765 ± 41 нмоль/л у молодых против 748 ± 36 нмоль/л у старых). Не выявлено существенных возрастных различий и в характере циркадного ритма F (рис. 1). Следует, одна-

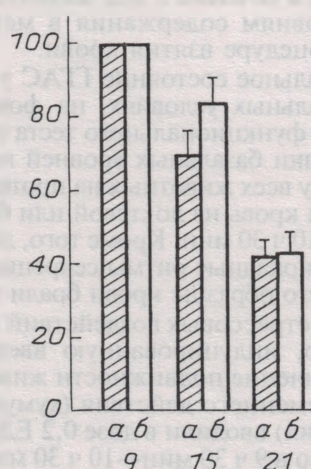


Рис. 1. Суточный ритм содержания F ($M \pm m$) в периферической крови у 6—9-летних (a: $n = 5$) и 20—26-летних (b; $n = 5$) самок макак резусов.

По оси ординат — изменение концентрации F в плазме периферической крови в разное время суток по отношению к содержанию F в 9 ч (в %); по оси абсцисс — время суток (в ч).

ко, подчеркнуть наблюдаемую тенденцию к повышению уровня F у старых животных в 15 ч.

Оценка реакции коры надпочечников на острое стрессовое воздействие в виде инсулинизированной гипогликемии также не обнаружила достоверных возрастных различий (табл. 1), что свидетельствует прежде всего о сохранении кортикотропных резервов гипофиза у старых животных.

Однако использование другого вида стрессового воздействия — ограничения подвижности — мощного психоэмоционального стрессора у обезьян — позволило выявить наличие у самок макак резусов возрастных различий в характере функционирования адреналовых желез (рис. 2). В ответ на ограничение подвижности уровень F в крови у молодых животных увеличивался более стремительно и на более значительную величину. Так, максимальные значения концентрации F в группе молодых животных достигала через 30 мин после начала стрессирования, в то время как у старых — только через 60 мин. Суммарное же повышение уровня F за исследуемый 4-часовой период (площадь ответа) у молодых обезьян достоверно превышало аналогичные показатели у старых животных (2110 ± 240 нмоль/л $\cdot$ ч и $155 \pm 6\%$ $\cdot$ ч у молодых самок против 1160 ± 120 нмоль/л $\cdot$ ч и $18 \pm 3\%$ $\cdot$ ч у старых соответственно; $p < 0,001$).

Следует отметить, что в обеих группах животных реакция на ограничение подвижности была более выраженной, чем на индуцированную введение инсулина гипогликемию. Так, в условиях ограничения подвижности увеличение уровня F у молодых обезьян за 4-часовой период в среднем почти в 6 раз превышало соответствующие значения в крови у тех же обезьян, индуцируемые введением инсулина (2110 ± 240 нмоль/л $\cdot$ ч против 355 ± 30 нмоль/л $\cdot$ ч; $p < 0,001$). У старых животных аналогичные показатели различались приблизительно в 3 раза (1160 ± 120 нмоль/л $\cdot$ ч против 400 ± 40 нмоль/л $\cdot$ ч; $p < 0,001$). По-видимому, ограничение подвижности является более мощным стрессорным фактором у макак по сравнению с инсулинизированной гипогликемией.

Наблюдаемые возрастные различия в реакции коры надпочечников на ограничение подвижности, возможно, обусловлены различиями в реактивности животных молодого и старого возраста на

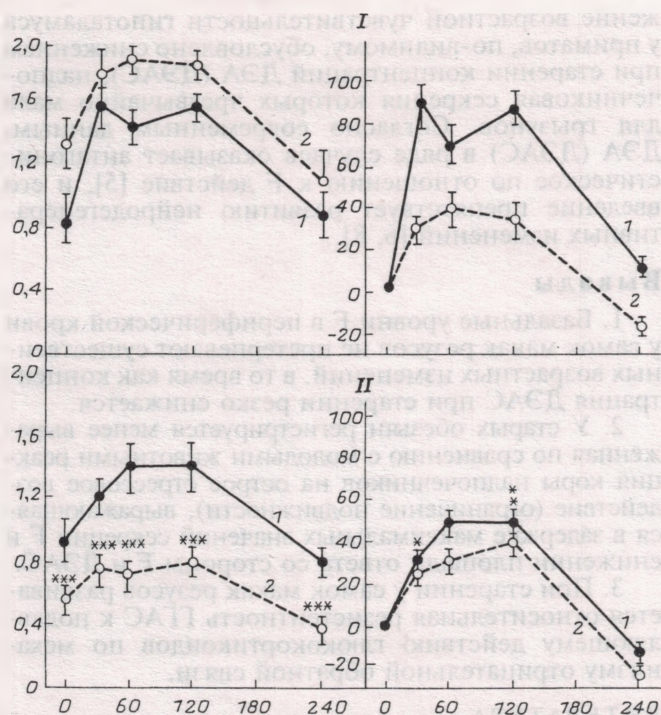


Рис. 2. Динамика содержания F (1) и ДЭАС (2) в периферической крови ($M \pm m$) и процент его изменения ($M \pm m$) у 6—9-летних (I; $n = 5$) и 20—26-летних (II; $n = 5$) самок макаков резусов в ответ на острое стрессовое воздействие (ограничение подвижности).

По осям ординат: слева — концентрация F и ДЭАС (в нмоль/л $\cdot 10^3$), справа — изменение концентрации F и ДЭАС (в %); по осям абсцисс — время от начала стрессового воздействия (в мин).
* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ по сравнению с соответствующими значениями в группе молодых животных.

данный вид стрессора. У 20—26-летних самок ограничение подвижности, по-видимому, является более слабым стрессорным фактором ("повидали много в жизни"), чем у 6—9-летних. В пользу этого предположения могут свидетельствовать данные о сходном характере реакции ГГАС у старых и молодых обезьян в ответ на стрессовое воздействие одинаковой силы — гипогликемию, индуцированную введением инсулина. Как видно из табл. 2, динамика уровня глюкозы в ответ на введение стандартной дозы инсулина у молодых и старых животных носила сходный характер. Однако возрастные различия в реакции коры надпочечников обезьян на ограничение подвижности могут отражать и ослабление способности ГГАС старых обезьян к адекватной реакции на мощное стрессовое воздействие.

Базальные уровни ДЭАС — другого важного кортикостероида, имеющего важное значение в интеграции процессов неспецифической адаптации организма к стрессовому воздействию, в отличие от F существенно снижались при старении. Так, если в группе 6—9-летних животных средний базальный уровень ДЭАС достигал 1330 ± 130 нмоль/л, то у старых животных он составлял лишь 550 ± 30 нмоль/л ($p < 0,001$).

Существенные возрастные различия наблюдались у обезьян и в отношении реакции ДЭАС на ограничение подвижности (см. рис. 2). Повышение уровня ДЭАС за 4-часовой период после начала иммобилизации у молодых животных составляло 1210 ± 130 нмоль/л $\cdot$ ч, а у старых обезьян — всего 425 ± 25 нмоль/л $\cdot$ ч.

Снижение концентрации ДЭАС у старых животных в базальных условиях и при стрессе приво-

дило к резкому изменению соотношения F/ДЭАС в плазме периферической крови при старении. Так, если отношение концентрации F к концентрации ДЭАС в базальных условиях у молодых животных составляло в среднем $0,6 \pm 0,05$, то у старых обезьян оно возрастало до $1,6 \pm 0,1$ ($p < 0,001$). При стрессе это соотношение показателей площади ответа F за 4-часовой период после начала иммобилизации к значениям суммарного повышения уровня ДЭАС за тот же интервал времени составляло у старых обезьян $2,7 \pm 0,3$ нмоль/л $\cdot$ ч, а у молодых — $1,7 \pm 0,1$ нмоль/л $\cdot$ ч ($p < 0,001$).

Таким образом, при старении в плазме периферической крови у самок макаков резусов развивается выраженный дисбаланс в уровне основных кортикостероидных фракций (F и ДЭАС), выражающийся в увеличении удельного веса кортизола, т. е. формируется относительная гиперкортизолемика. Сходная закономерность отмечена у людей [4, 9], а также у павианов [2—4, 11].

Заметные возрастные нарушения наблюдались и в характере функционирования гипоталамо-гипофизарного звена ГГАС. Об этом свидетельствуют результаты теста с дексаметазоном. Следует заметить, что в зависимости от реакции коры надпочечников на введение дексаметазона животных обеих возрастных групп можно было разделить на 2 подгруппы — более и менее чувствительные к препарату (по 3 и 2 животных в каждой подгруппе соответственно). Как видно на рис. 3, уровень F у 3 молодых животных через 1 и 2 сут снижался до значений, соответствующих чувствительности используемого метода, т. е. 41 нмоль/л (15 нг/мл), что составляло менее 5% от базального уровня. В то же время значения F в периферической крови у старых самок через 1 и 2 сут после введения дексаметазона были значительно выше (130 ± 30 и 110 ± 20 нмоль/л соответственно) и составляли 13 ± 4 и $11 \pm 4\%$ от исходных концентраций.

Сходные возрастные различия в чувствительности ГГАС к дексаметазону отмечены и у обезьян, вошедших в подгруппы менее чувствительных к дексаметазону животных. Так, снижение уровня F в ответ на введение стандартной дозы дексаметазона у старых самок было менее выраженным по сравнению с молодыми животными. Как видно на рис. 3, уровень F через 1 и 2 сут у 6—9-летних животных составляли соответственно 30 и 15% (Ia; № 4001) и 19 и 5% (Ib; № 30410), в то время как у

Таблица 2

Динамика концентрации глюкозы в плазме периферической крови у молодых (6—9 лет; $n = 5$) и старых (20—26 лет; $n = 5$) самок макаков резусов в ответ на введение инсулина (хумулин Р; 0,2 ЕД на 1 кг массы тела внутривенно) ($M \pm m$)

Время после введения инсулина, мин	Возрастная группа	Концентрация глюкозы	
		ммоль/л	%
0	6—9 лет	$2,9 \pm 0,2$	100
30		$1,2 \pm 0,2$	41 ± 4
60		$1,3 \pm 0,2$	45 ± 7
120		$2,5 \pm 0,2$	86 ± 8
240		$2,9 \pm 0,3$	100 ± 4
0	20—26 лет	$2,6 \pm 0,1$	100
30		$1,1 \pm 0,1$	42 ± 4
60		$1,3 \pm 0,2$	50 ± 4
120		$2,3 \pm 0,1$	88 ± 7
240		$2,6 \pm 0,1$	100 ± 4

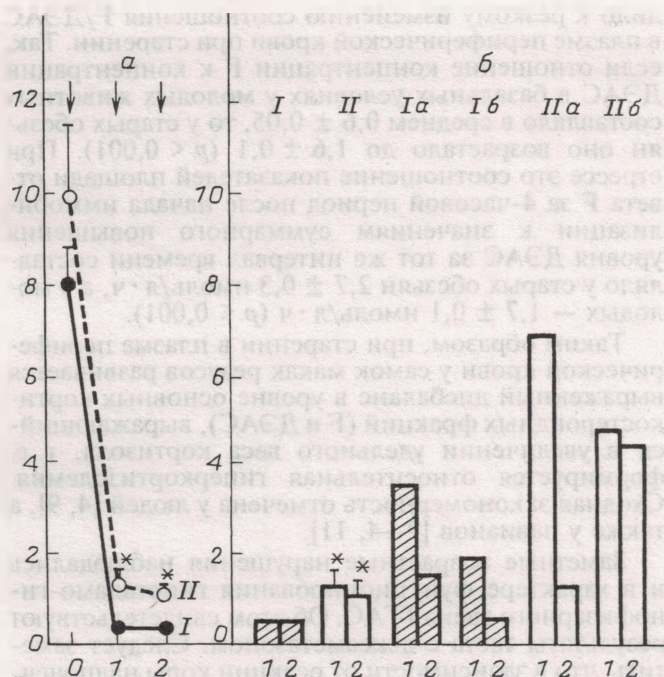


Рис. 3. Содержание F в периферической крови (а) и процент его изменения (б) в процессе введения дексаметазона (по 4 мг в течение 2 сут) 6—9-летним (I; n = 3) и 20—26-летним (II; n = 3) самкам макаков резусов.

По осям ординат: слева — концентрация F (в нмоль/л · 100), справа — % изменения концентрации F (в % · 10); по осям абсцисс — время от начала введения дексаметазона (в сут). Ia, Ib, IIa, IIб — процент изменения содержания F у молодых (Ia, Ib; № 4001 и 30410) и старых (IIa, IIб; № 14859 и 15645) животных, составивших подгруппы менее чувствительных к дексаметазону животных. * — $p < 0,001$ по сравнению с исходным уровнем.

20—26-летних — 69 и 13% (IIa; № 14859) и 48 и 44% (IIб; № 15645).

Представленные данные свидетельствуют о понижении у старых самок макаков резусов чувствительности ГГАС к ингибирующему действию глюкокортикоидов по механизму отрицательной обратной связи. Сходные данные были получены для грызунов [10] и человека [7]. По мнению ряда авторов [10], в основе подобных нарушений у крыс лежит токсическое действие повышенных концентраций глюкокортикоидов, регистрируемых у старых грызунов, на глюкокортикоидчувствительные клетки гиппокампа, сопряженные с гипоталамическими центрами секреции кортиколиберина. Сни-

жение возрастной чувствительности гипоталамуса у приматов, по-видимому, обусловлено снижением при старении концентраций ДЭА (ДЭАС), надпочечниковая секреция которых чрезвычайно мала для грызунов. Согласно современным данным, ДЭА (ДЭАС) в ряде случаев оказывает антагонистическое по отношению к F действие [5], и его введение препятствует развитию нейродегенеративных изменений [6, 8].

Выводы

1. Базальные уровни F в периферической крови у самок макаков резусов не претерпевают существенных возрастных изменений, в то время как концентрация ДЭАС при старении резко снижается.

2. У старых обезьян регистрируется менее выраженная по сравнению с молодыми животными реакция коры надпочечников на острое стрессовое воздействие (ограничение подвижности), выражающаяся в задержке максимальных значений секреции F и снижении площади ответа со стороны F и ДЭАС.

3. При старении у самок макаков резусов развивается относительная резистентность ГГАС к подавляющему действию глюкокортикоидов по механизму отрицательной обратной связи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Выгодский М. Я. Справочник по высшей математике. — М., 1962.
2. Гончарова Н. Д. // Бюлл. exper. биол. — 1993. — Т. 116, № 12. — С. 598—601.
3. Гончарова Н. Д., Мхитарова Л. А. // Пробл. эндокринол. — 1996. — Т. 42, № 2. — С. 37—41.
4. Гончарова Н. Д. // Журн. эволюц. биохим. — 1997. — Т. 33, № 1. — С. 44—51.
5. Araneo B., Daynes R. // Endocrinology. — 1995. — Vol. 136, N 2. — P. 393—401.
6. Diamond D. M., Branch B. J., Fleshner M., Rose G. M. // Dehydroepiandrosterone (DHEA) and Aging. — New York, 1995. — P. 304—307.
7. Ferrari E., Magri F., Dori D. et al. // Neuroendocrinology. — 1995. — Vol. 61, N 4. — P. 464—470.
8. Majewska M. D. // Dehydroepiandrosterone (DHEA) and Aging. — New York, 1995. — P. 111—120.
9. Orentreich N., Brindl J. L., Rizer R. L., Vogelmann J. H. // J. clin. Endocr. — 1984. — Vol. 59. — P. 551—555.
10. Sapolsky R. M., Krey L. C., McEwen B. S. // Endocr. Rev. — 1986. — Vol. 7, N 3. — P. 284—301.
11. Sapolsky R. M., Vogelmann J. H., Orentreich N. et al. // J. Geront. — 1993. — Vol. 48, N 5. — P. B196—B200.

Поступила 23.09.98

♦ ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1999

УДК 616.379-008.64:681.581

А. В. Древаль, Ю. А. Редькин, И. В. Мисникова

РЕГИСТР САХАРНОГО ДИАБЕТА КАК БАЗИС КОНТРОЛЯ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ БОЛЬНЫМ

Отделение терапевтической эндокринологии (руководитель А. В. Древаль)
МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского

Сахарный диабет относится к числу заболеваний, которые благодаря широкой распространенности и наличию осложнений представляют реальную угрозу для экономики многих стран мира. Распространенность диабета и нарушенной толерантности к глюкозе составляет в Европе 3—10 и 3—15% соответственно [7, 38].

По данным национальных регистров, высокая распространенность диабета в настоящее время выявлена в развивающихся странах, этнических меньшинствах и "неблагополучной" части населения индустриализированных стран. Около 30% населения Арабских Эмиратов и 2/3 индейцев Пимы имеют нарушения уг-