

А. В. Абрамов

РОЛЬ ОКСИТОЦИНА В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖИВОТНЫХ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, КОРРИГИРУЕМЫМ ИНТЕРВАЛЬНЫМИ ГИПОКСИЧЕСКИМИ ТРЕНИРОВКАМИ

Кафедра патофизиологии (зав. — проф. Ю. М. Колесник) Запорожского государственного медицинского университета

На крысах Вистар изучено состояние окситоцинсинтезирующей системы гипоталамуса, представленной супраоптическим, заднемедиальным и передним крупноклеточными субъядрами паравентрикулярного ядра гипоталамуса. Оценку состояния этой системы проводили с помощью морфометрических исследований и выявления окситоцинсинтезирующих нейронов методом непрямой иммунофлуоресценции с количественным определением в них и срединном возвышении гипоталамуса содержания иммунореактивного окситоцина. Показано, что интервальные гипоксические тренировки оказывают корригирующее влияние на течение экспериментального сахарного диабета. В этом процессе активную роль играет усиление синтеза и секреции окситоцина. Интервальные гипоксические тренировки интактных животных вызывают повышение содержания иммунореактивного окситоцина в нейронах СОЯ и ПВЯ и срединного возвышения гипоталамуса без изменений объемов ядрышек нейронов. При сахарном диабете содержание окситоцина в нейронах было увеличено в меньшей степени, однако объемы ядрышек были значительно увеличены. Интервальные гипоксические тренировки животных с диабетом вызвали наиболее выраженное повышение содержания окситоцина в нейронах и срединном возвышении гипоталамуса, что свидетельствовало о высоком уровне синтетической и секреторной активности окситоцинсинтезирующей системы гипоталамуса.

The oxytocin-producing system of the hypothalamus, represented by the supraoptic and posteromedial and anterior large-cell subnuclei of the hypothalamic paraventricular nuclei was studied in Wistar rats. Morphometric methods and detection of oxytocin-producing neurons by indirect immunofluorescence and measurements of immunoreactive oxytocin in the neurons and the median eminence of the hypothalamus were used in the study. Interval hypoxic training corrected the course of experimental diabetes mellitus. Increased production and secretion of oxytocin play an active role in this process. Interval hypoxic training led to an increase of the levels of immunoreactive oxytocin in the neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei and in the median eminence of the hypothalamus, whereas the size of neuronal nucleoli remained unchanged. In diabetes mellitus the content of oxytocin in the neurons was less increased, whereas the nucleoli were notably enlarged. Interval hypoxic training caused the most expressed increase of oxytocin content in the neurons and the median eminence of the hypothalamus, which indicated a high level of synthetic and secretory activity of oxytocin-producing system of the hypothalamus.

Крупноклеточная окситоцинсинтезирующая система гипоталамуса представлена скоплением нейросекреторных клеток в супраоптическом ядре (СОЯ), а также в переднем (ПК) и заднемедиальном крупноклеточных (ЗМК) субъядрах паравентрикулярного ядра (ПВЯ) гипоталамуса [21, 22]. Однако эфферентные проекции этих структур, синтезирующих один и тот же гормон, различаются: аксоны окситоцинсинтезирующих нейронов СОЯ направляются преимущественно во внутреннюю зону срединного возвышения и далее в заднюю долю гипофиза, поступая в дальнейшем в системный кровоток; аксоны аналогичных нейронов субъядер ПВЯ направляются в наружную зону срединного возвышения, принимая участие в контроле аденогипофизарного гормонопоза [1, 21, 22]. Таким образом, данные нейроанатомических исследований предполагают многообразие функций, выполняемых одним и тем же гормоном, но синтезирующимся в различных отделах гипоталамуса.

В последние годы появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что для окситоцина характерно значительно большее количество эффектов, чем хорошо известное его классическое влияние на мускулатуру матки и процессы лактации, тем более что этот гормон в физиологических условиях синтезируется у животных обоего пола. Е. Wiedmaier [24] отмечает, что в условиях стресса или патологии роль окситоцина

может значительно возрастать и на первый план могут выступать другие его эффекты, связанные с включением этого гормона в процессы регуляции деятельности эндокринных желез и метаболизма, например эндокринной функции поджелудочной железы и углеводного и жирового обмена. Таким образом, речь идет о значительном расширении представлений о функциях окситоцина.

Учитывая вышесказанное, целью настоящего исследования было изучение состояния крупноклеточной окситоцинсинтезирующей системы гипоталамуса у животных с экспериментальным сахарным диабетом, корригируемым с помощью интервальных гипоксических тренировок.

Материалы и методы

Исследования проведены на крысах Вистар массой 200—230 г отдельно на самцах и самках в осенне-зимний период. Животные находились в условиях естественной освещенности на стандартном рационе питания в условиях свободного доступа к пище и были разделены на 5 экспериментальных групп: 1-я — контроль; 2-я — животные, подвергающиеся гипоксическим тренировкам на протяжении 3 нед; 3-я — животные с экспериментальным сахарным диабетом продолжительностью 2 нед; 4-я — животные с экспериментальным сахарным диабетом продолжительностью 5 нед; 5-я — животные с сахарным диабетом, ко-

торых с 15-го дня течения заболевания подвергали гипоксическим тренировкам на протяжении 3 нед. Сахарный диабет (легкое течение) моделировали при помощи стрептозотоцина по описанной нами ранее методике [1]. Гипоксические тренировки осуществляли в барокамере ежедневно в течение 6 ч, при этом pO_2 в 1-й день соответствовало "высоте" 1 км, во 2-й — 2 км, в 3-й — 3 км, в 4-й — 4 км, в 5-й — 5 км, в 6-й день и далее до конца исследования — 6 км [4].

Идентификацию окситоцинсинтезирующих нейронов в гипоталамусе и иммунореактивных волокон в срединном возвышении осуществляли с помощью антисыворотки против этого гормона производства фирмы ("Amersham", Англия) методом непрямой иммуофлюоресценции, используя в качестве вторичных антител козы IgG против кролика, конъюгированные с FITC ("Amersham", Англия). Иммуоцитохимические исследования проводили на серийных срезах гипоталамуса толщиной 12 мкм, включающих СОЯ и ПВЯ. О состоянии синтетической и секреторной функции окситоцинсинтезирующих нейронов судили по содержанию в них окситоцина, а также по его концентрации в срединном возвышении гипоталамуса. Содержание окситоцина в нейронах СОЯ и ПВЯ, прямо пропорциональное интенсивности флюоресценции, определяли, используя компьютерную цитофотометрическую систему на базе цитофлуориметра ЛЮМАМ-И2 (ЛОМО, Россия) с помощью зонда площадью 125 мкм². Предварительно определяли интенсивность неспецифической флюоресценции. Для исключения методических артефактов изучали по 2 соседних серийных среза с трехкратным измерением концентрации гормона. Концентрацию окситоцина в срединном возвышении гипоталамуса определяли с помощью зонда площадью 125 мкм² по ходу иммунореактивных терминалей и выражали в условных микроединицах (усл. мкЕ).

Проводили также морфометрические исследования нейронов ПК и ЗМК ПВЯ (объемы клеток и их ядрышек), позволяющие косвенно судить об их функциональной активности. Морфометрические исследования проводили на срезах гипоталамуса толщиной 4 мкм, окрашенных для выявления нуклеиновых кислот галлоцианинхромовыми квасцами по Эйнарсону, содержание которых в ядрышках выражали в усл. мкЕ. Для проведения

этой части исследований использовали систему компьютерного анализа изображения VIDAS-386 ("Zeiss-Kontron Elektronik", Германия), связанную с помощью высокочувствительной телекамеры СОНУ-4722 (США) с микроскопом AXIOSKOP ("Zeiss", Германия). С использованием этой же системы проводили изучение препаратов в спектре флюоресценции.

Результаты исследований подвергали стандартной статистической обработке с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В наших предыдущих исследованиях [2—4] показано, что интервальные гипоксические тренировки на протяжении 3 нед вызывали усиление биосинтеза инсулина, стимулировали процесс новообразования β -клеток, достоверно снижали концентрацию глюкозы в крови, несмотря на активацию секреции глюкагона α -клетками. В этих условиях в крупноклеточных окситоцинсинтезирующих нейронах СОЯ и ПВЯ достоверно увеличивались содержание окситоцина (табл. 1), содержание нуклеиновых кислот в ядрышках нейронов ПК ПВЯ и ЗМК ПВЯ (табл. 2), концентрация окситоцина в срединном возвышении гипоталамуса. Эти данные свидетельствовали об усилении процессов синтеза и секреции окситоцина в условиях гипоксических тренировок. Для сравнения можно отметить, что морфофункциональная активность крупноклеточных вазопрессинсинтезирующих нейронов снижалась, о чем свидетельствовало уменьшение объемов ядрышек и концентрации вазопрессина в крови [2].

Развитие экспериментального диабета у крыс в условиях сохраненной остаточной секреции инсулина характеризовалось гипергликемией, нарушением теста толерантности к глюкозе, деструкцией β -клеток с уменьшением содержания в них инсулина, увеличением содержания глюкагона в α -клетках и соматостатина в Δ -клетках с соответствующими изменениями концентрации этих гормонов в периферической крови, т. е. наблюдались все признаки, характерные для сахарного диабета [2—4]. У животных с длительностью заболевания 2 нед содержание окситоцина в нейронах СОЯ и ПВЯ и его концентрация в срединном возвышении гипоталамуса достоверно уменьшались (см. табл. 1). В это же время отмечалось достовер-

Таблица 1

Содержание иммунореактивного окситоцина (в усл. мкЕ) в нейронах СОЯ, ПВЯ и срединном возвышении гипоталамуса крыс в экспериментальных группах ($M \pm m$)

Структура	Контроль	Гипоксические тренировки	Диабет продолжительностью 2 нед	Диабет продолжительностью 5 нед	Диабет с последующими гипоксическими тренировками
СОЯ	749,3 $\pm$ 17,3	960,4 $\pm$ 29,4***	572,5 $\pm$ 20,5***	656,5 $\pm$ 25,1*	1037,4 $\pm$ 24,4***
ПВЯ	765,2 $\pm$ 23,1	1132,2 $\pm$ 27,2***	639,7 $\pm$ 29,0**	1091,6 $\pm$ 22,6***	1023,2 $\pm$ 33,1***
Срединное возвышение	1692,9 $\pm$ 35,9	1828,4 $\pm$ 29,2*	1559,9 $\pm$ 23,1*	1711,8 $\pm$ 31,9	1946,6 $\pm$ 28,8***

Примечание. Здесь и в табл. 2: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

Морфофункциональное состояние нейронов ПК и ЗМК ПВЯ крыс в экспериментальных группах ($M \pm m$)

Структура	Контроль	Гипоксические тренировки	Диабет продолжительностью 2 нед	Диабет продолжительностью 5 нед	Диабет с последующими гипоксическими тренировками
ПК ПВЯ	$7,02 \pm 0,55$ $95,8 \pm 1,82$	$6,50 \pm 0,62$ $113,2 \pm 1,57^{***}$	$9,50 \pm 0,42^{**}$ $100,4 \pm 1,09$	$9,27 \pm 0,52^*$ $112,3 \pm 1,32^{***}$	$6,77 \pm 0,48$ $97,4 \pm 1,3$
ЗМК ПВЯ	$5,19 \pm 0,25$ $88,7 \pm 1,36$	$5,77 \pm 0,37$ $107,1 \pm 1,47^{***}$	$10,23 \pm 0,44^{***}$ $97,1 \pm 1,38^{***}$	$12,01 \pm 0,34^{***}$ $117,7 \pm 1,24^{***}$	$10,61 \pm 0,41^{***}$ $111,7 \pm 1,34^{***}$

Примечание. В числителе — объемы ядрышек нейронов (в мкм^3), в знаменателе — содержание нуклеиновых кислот (в усл. мкЕ).

ное увеличение объемов ядрышек и содержания в них нуклеиновых кислот в нейронах ПК и ЗМК ПВЯ (см. табл. 2). У животных с диабетом продолжительностью 5 нед содержание окситоцина в нейронах ПВЯ достоверно возросло по сравнению как с контролем, так и с 2-недельным сроком заболевания (см. табл. 1); при этом наблюдалось увеличение объемов ядрышек нейронов и содержания в них нуклеиновых кислот в обоих окситоцинсинтезирующих субъядрах ПВЯ (см. табл. 2). В нейронах СОЯ достоверное повышение содержания окситоцина отмечалось только по сравнению с 2-недельным сроком течения диабета. Описанные изменения происходили на фоне достоверного увеличения концентрации окситоцина в срединном возвышении гипоталамуса. Таким образом, при сахарном диабете происходило повышение функциональной активности окситоцинсинтезирующей системы ПВЯ и СОЯ, причем в большей степени, чем при интервальных гипоксических тренировках интактных животных.

Ранее нами показано [2–4], что 3-недельные гипоксические тренировки животных с сахарным диабетом (с 15-го дня заболевания) оказывали положительное воздействие на течение заболевания, что проявлялось торможением процесса деструкции β -клеток, восстановлением уровня инсулина в крови до 80% от исходного уровня, снижением гликемии и секреции контринсулярных гормонов глюкагона и глюкокортикоидов. На этом фоне в нейронах СОЯ, ПВЯ и в срединном возвышении гипоталамуса увеличивалось содержание окситоцина, при этом уровень гормона был наиболее высоким по сравнению с предыдущими сериями экспериментов (см. табл. 1). Объемы ядрышек нейронов ПК ПВЯ уменьшались до уровня контроля, а ЗМК ПВЯ оставались достоверно увеличенными (см. табл. 2), что в совокупности с данными иммуноцитохимических исследований свидетельствовало о высоком уровне синтетической и секреторной активности окситоцинсинтезирующих нейронов.

Таким образом, проведенные исследования показали изменение функциональной активности окситоцинсинтезирующей системы гипоталамуса в зависимости от состояния эндокринной функции поджелудочной железы. Анализ данных литературы с учетом полученных экспериментальных

данных позволяет предположить несколько механизмов возможного участия окситоцинсинтезирующей системы гипоталамуса в регуляции эндокринной функции поджелудочной железы.

Так, в условиях гипогликемии, наблюдаемой при гипоксических тренировках интактных животных, могут преобладать периферические эффекты окситоцина, связанные со стимуляцией секреции глюкагона α -клетками поджелудочной железы [11, 20], процессов гликогенолиза и глюконеогенеза в печени [14, 20] и направленные на адекватное снабжение тканей организма энергетическими субстратами, в том числе глюкозой. С этим хорошо согласуются данные о стимуляции синтетических и секреторных процессов в окситоцинергических нейронах ПВЯ при гипогликемии, вызванной введением инсулина [13].

Вместе с тем окситоцин обладает способностью давать инсулиноподобный эффект, способствуя усилению поступления глюкозы в адипоциты [14, 17]. Установлены прямое стимулирующее влияние окситоцина на функцию β -клеток островков Лангерганса [11] и опосредуемая пролактином [16] активация пролиферации β -клеток [9]. Эти периферические эффекты окситоцина, по-видимому, зависят от уровня его секреции, максимум которой наблюдается при гипоксических тренировках животных с диабетом. Однако эффективность инсулинотропных эффектов окситоцина зависит от концентрации контринсулярных гормонов АКТГ и кортикостероидов [25], уровень которых достоверно повышается при сахарном диабете [2]. Кроме того, при сахарном диабете окситоцин усиливает синтез и секрецию гормонов гипофизарно-надпочечниковой системы [25]. На этом фоне будут усиливаться контринсулярные эффекты кортикостероидов и ослабляться инсулинотропное действие окситоцина. В то же время гипоксические тренировки животных с диабетом нормализуют концентрацию гормонов гипоталамо-гипофизарно-адреноренальной оси [2]. В последнем случае контринсулярные эффекты кортикостероидов будут менее существенны, а инсулинотропные эффекты окситоцина, по-видимому, более выражены.

Помимо периферических, следует учесть возможность реализации центральных эффектов окситоцина. Так, окситоцин самостоятельно [7] и совместно с синтезирующимся в тех же крупно-

клеточных гипоталамических нейронах холецистокинином [23] является мощным регулятором потребления пищи и дает анорексический эффект. Его реализация возможна благодаря эфферентным проекциям окситоцинсинтезирующих нейронов ПВЯ к нейронам вентромедиального ядра гипоталамуса [21, 22], которые к тому же имеют наивысшую среди гипоталамических нейронов плотность рецепторов к окситоцину [18]. Однако дегенеративные изменения в нейронах вентромедиального ядра, наблюдаемые исключительно у животных с сахарным диабетом без гипоксических тренировок [5, 12], делают невозможной реализацию центральных анорексических эффектов окситоцина. В условиях снижения функциональной активности вентромедиального ядра [5] возможна реализация другого механизма активирующего влияния окситоцина на процессы синтеза и секреции инсулина, который связан с его центральной стимуляцией нейронов дорсального моторного ядра блуждающего нерва [10, 19], иннервирующего поджелудочную железу [8]. Нами показано, что при диабете у крыс наблюдается гипертрофия нейронов дорсального моторного ядра блуждающего нерва, которая в большей степени выражена на фоне гипоксических тренировок животных с диабетом.

Таким образом, активация крупноклеточной окситоцинсинтезирующей системы гипоталамуса, наблюдаемая при интервальных гипоксических тренировках интактных крыс и животных с диабетом, приводит к реализации целого комплекса центральных и периферических эффектов окситоцина, которые могут осуществляться путем непосредственного влияния этого гормона на метаболизм углеводов и жиров в печени и жировой ткани, на функциональное состояние эндокринных желез, а также реализовываться нервно-проводниковым путем через изменение функциональной активности дорсального моторного ядра блуждающего нерва и вентромедиального ядра гипоталамуса. Исходя из сказанного, вполне понятен значительно возросший в последние годы интерес исследователей к "неклассическим" эффектам окситоцина [1, 7, 15], что закономерно предполагает продолжение экспериментального изучения настоящей проблемы.

Выводы

1. Оценка состояния синтетической и секреторной функции крупноклеточной окситоцинсинтезирующей системы гипоталамуса должна производиться комплексно с использованием иммуноцитохимических и морфометрических методов ис-

следования нейронов ПВЯ, СОЯ и срединного возвышения гипоталамуса с обязательным количественным определением содержания окситоцина в этих структурах.

2. Установлена взаимосвязь состояния эндокринной функции поджелудочной железы и крупноклеточной окситоцинсинтезирующей системы гипоталамуса, которая свидетельствует об участии окситоцина в регуляции состояния β - и α -клеток поджелудочной железы при экспериментальной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Колесник Ю. М., Василенко Г. В., Абрамов А. В. // Арх. пат. — 1992. — № 12. — С. 24—27.
2. Колесник Ю. М., Абрамов А. В. // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 1993. — Т. 79, № 9. — С. 34—42.
3. Колесник Ю. М., Абрамов А. В. // Пробл. эндокринолог. — 1993. — № 5. — С. 37—40.
4. Колесник Ю. М., Середенко М. М., Абрамов А. В. // Докл. Рос. АН. — 1995. — Т. 343, № 1. — С. 127—129.
5. Колесник Ю. М., Абрамов А. В., Василенко Г. В., Жулинский В. А. // Пробл. эндокринолог. — 1995. — № 5. — С. 34—37.
6. Мельникова О. В., Колесник Ю. М., Абрамов А. В. // Экспериментальная и клиническая физиология. — Львов, 1995. — С. 226—227.
7. Benelli A., Bertolini A., Arletti R. // Neuropeptides. — 1991. — Vol. 20, N 1. — P. 57—62.
8. Berthoud H.-R., Fox E. A., Powley T. L. // Amer. J. Physiol. — 1990. — Vol. 258, N 1, Pt 2. — P. R160—R168.
9. Billestrup N., Nielsen J. H. // Endocrinology. — 1991. — Vol. 129, N 2. — P. 883—888.
10. Dreifuss J. J., Tribollet E., Dubois-Dauphin M., Raggenbass M. // Arch. Histol. Cytol. — 1989. — Vol. 252, Suppl. — P. 129—138.
11. Gao Z. Y., Drews G., Gerard M., Henquin J. C. // Diabetologia. — 1991. — Vol. 34, Suppl. 2. — P. 25.
12. Garri D. R. // Brain Res. — 1989. — Vol. 501, N 1. — P. 162—170.
13. Griffond B., Deray A., Bahjaoui-Bounaddi M. et al. // Neurosci. Lett. — 1994. — Vol. 178, N 1. — P. 119—123.
14. Hems D. A., Whitton P. D. // Physiol. Rev. — 1980. — Vol. 260. — P. 1—60.
15. Jenkins J. S., Nussey S. S. // Clin. Endocrinol. — 1991. — Vol. 34, N 6. — P. 515—525.
16. Kiss J. L., Kanyicska B., Nagy G. Y. // Endocrinology. — 1986. — Vol. 119, N 2. — P. 870—873.
17. Knudtzon J. // Horm. Metab. Res. — 1983. — Vol. 15, N 2. — P. 103—104.
18. Kremarik P., Freundmercier M. // Brain Res. Bull. — 1995. — Vol. 35, N 2. — P. 195—203.
19. Landgraf R., Malkinson T., Horn T. // Amer. J. Physiol. — 1990. — Vol. 258, N 1, Pt 2. — P. R155—R159.
20. Paolisso J., Sgambato S., Pussariello N. et al. // Diabet. Metab. — 1989. — Vol. 14, N 2. — P. 104—107.
21. Silverman A.-J., Zimmerman E. A. // Ann. Rev. Neurosci. — 1983. — Vol. 6. — P. 357—380.
22. Swanson L. W., Sawchenko P. E. // Ibid. — P. 269—324.
23. Verbalis J. G., Stricker E. M., Robinson A. G., Hoffman G. E. // J. Neuroendocrinol. — 1991. — Vol. 3, N 2. — P. 205—213.
24. Widmaier E. P. // Mol. Cell. Endocrinol. — 1991. — Vol. 75, N 1. — P. C1—C6.
25. Widmaier E. P., Shah P. R., Lee G. // Regul. Peptides. — 1991. — Vol. 234, N 3. — P. 235—249.

Поступила 19.11.96