

возрастанием количества НАДФ в печени, сердце и селезенке [10]. Подтверждение этому было получено в эксперименте 2 со стрептозототиновым диабетом. При неизменной концентрации триптофана и серотонина в плазме крови содержание окисленных и восстановленных никотинамидных коферментов в печени крыс с экспериментальным диабетом, находившихся на рационе с повышенной квотой белка, как следует из табл. 2, действительно имело тенденцию к увеличению по сравнению с животными, получавшими рацион с оптимальным уровнем белка. Экскреция 1-метилникотинамида — конечного продукта метаболизма триптофана по ниациновому пути — также имела тенденцию к возрастанию.

Таким образом, эти данные свидетельствуют в пользу высказанного выше предположения об интенсификации эндогенного синтеза ниацина из белка рациона.

Еще одним доводом в пользу этого предположения может служить отсутствие аддитивности эффектов повышенного уровня белка в рационе и никотинамида при их совместном применении (см. табл. 1). Снижение уровня глюкозы в крови в этом случае составляет 28 % и таким образом не превышает эффект воздействия никотинамида (на 22 %) или повышенного уровня белка (на 42 %) (группы 4, 5, 6). Это можно расценивать как свидетельство того, что механизм действия никотинамида и повышенного уровня белка в рационе один и тот же, т. е. сахаропонижающее действие повышенной квоты белка реализуется через эндогенный синтез никотинамида из триптофана. В противном случае эффекты никотинамида и повышенного уровня белка должны были бы суммироваться.

## Выводы

1. При использовании высокобелковой диеты, обеспечивающей поступление триптофана в количестве 7—7,8 г на 1 кг рациона, для крыс со стрептозототиновым и аллоксановым сахарным диабетом наблюдается тенденция к увеличению содержания никотинамидных коферментов в печени и экскреции 1-метилникотинамида с мочой, что отражает увеличение синтеза ниацина из этой аминокислоты.

2. Сахаропонижающий эффект высокой дозы никотинамида не потенцируется повышением

квоты белка рациона, что можно рассматривать как свидетельство того, что оба нутриента действуют по одному и тому же механизму.

3. На основании полученных данных высказывается предположение, что один из путей защитного действия высокобелковой диеты при диабете заключается в интенсификации эндогенного синтеза ниацина из триптофана белка рациона.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Зелинский Б. А., Зелинский С. Ц., Гончаров Л. И., Вернигородский В. С. // Эндокринология.— Киев, 1981.— Вып. 11.— С. 19—22.
2. Подорожный П. Г., Березин П. К. // Актуальные проблемы физиологии, биохимии и патологии эндокринной системы.— М., 1972.
3. Теоретические и клинические аспекты науки о питании.— М., 1987.— Т. 8.
4. Bender D. A., Bender A. E. // Nutr. Abstr. Rev. Ser. A.— 1986.— Vol. 56.— P. 695—719.
5. Eizirik D. L., Boschero A. C., Migliorini R. H. // Brazilian J. med. biol. Res.— 1985.— Vol. 18.— P. 233—235.
6. Eizirik D. L., Germano C. M., Migliorini R. H. // Acta diabetol. lat.— 1988.— Vol. 25.— P. 117—126.
7. Ho Ch.-K., Hashim S. // Diabetes.— 1972.— Vol. 21.— P. 789—793.
8. Masiello P., Bergamini E. // Experientia.— 1977.— Vol. 33.— P. 1246—1247.
9. McDaniel E. G., Hundley J. M., Sebrell W. H. // J. Nutr.— 1966.— Vol. 59.— P. 407—423.
10. Powanda M. C., Wannemacher R. W. // Ibid.— 1970.— Vol. 100.— P. 1471—1478.
11. Sanada H., Miyazaki M., Takahashi T. // J. Nutr. Sci. Vitam.— 1980.— Vol. 26.— P. 449—459.
12. Schein P., Loftus S. // Cancer Res.— 1968.— Vol. 28.— P. 1501—1506.
13. Shibata K. // Agric. biol. Chem.— 1987.— Vol. 51.— P. 811—816.
14. Wright J. R., Mendola J., Lacy P. E. // Experientia.— 1988.— Vol. 44.— P. 38.

Поступила 13.04.93

R. Ye. Sadykova, V. M. Kodentsova, A. V. Dreval — BODY NIACIN STATUS IN DIABETES MELLITUS: EFFECT OF PROTEIN LEVEL IN A RATION

Summary. Administration of a high-protein diet providing 7-7.8 g of tryptophan per kg of the ration to rats with streptozotocin and alloxan diabetes mellitus resulted in development of a trend to increased liver content of nicotinamide coenzymes and in increased 1-methylnicotinamide excretion with the urine in both groups of animals, this reflecting increased niacin synthesis from tryptophan. Sugar-reducing effect of high-dose nicotinamide was not potentiated by increase of protein share in the ration. These results permitted the authors to suggest that intensification of endogenous niacin synthesis from tryptophan contained in the ration may be one of the mechanisms of a protective effect of high-protein diets in diabetes.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 616.379-008.64-092.9-07:616.154:577.175.327

В. Н. Бабичев, Е. И. Адамская, Т. А. Перышкова

## БАЗАЛЬНАЯ И ЛЮЛИБЕРИНСТИМУЛИРОВАННАЯ СЕКРЕЦИЯ ГОНАДОТРОПИНОВ У ОВАРИЭКТОМИРОВАННЫХ САМОК КРЫС СО СТРЕПТОЗОТОЦИНИНДУЦИРОВАННЫМ ДИАБЕТОМ

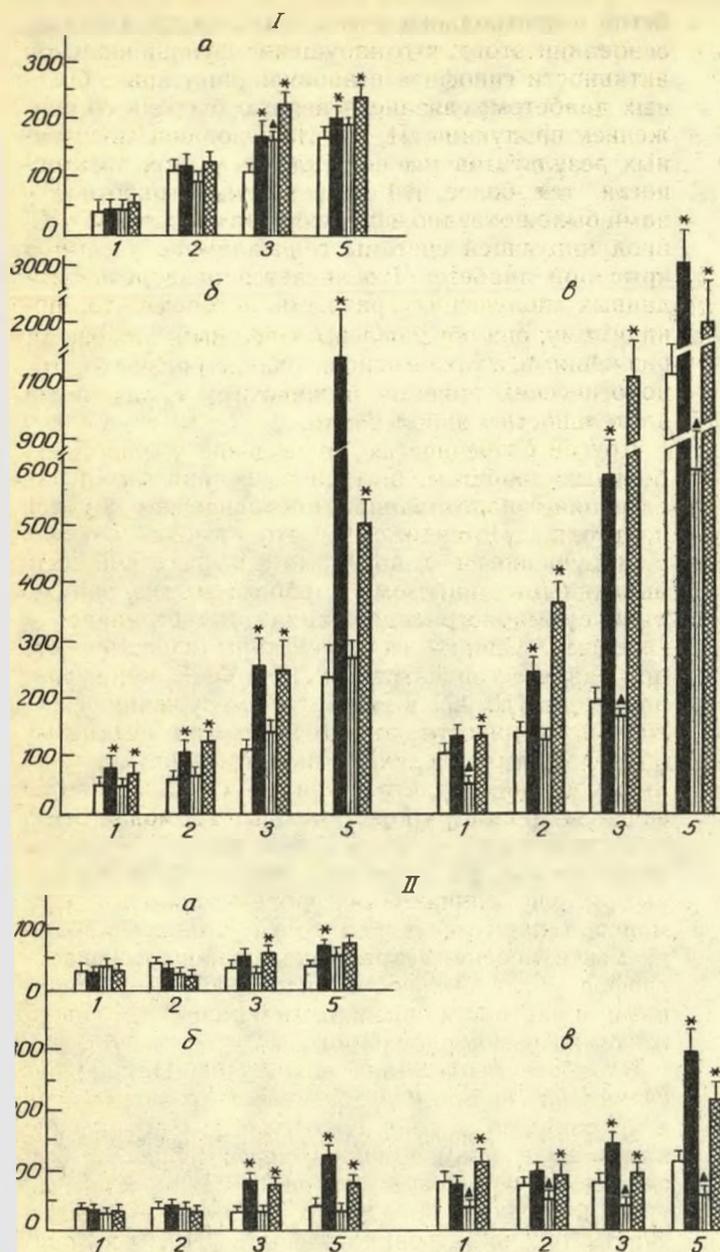
Лаборатория физиологии эндокринной системы (зав. — проф. В. Н. Бабичев) Института экспериментальной эндокринологии (дир. — член-корр. РАМН И. Г. Акмаев) Эндокринологического научного центра (дир. — член-корр. РАМН И. И. Дедов), Москва

Известно, что нарушение функциональной активности репродуктивной системы организма у лабораторных животных при диабете связано не

только с деструктивными изменениями гонад, но и с дисфункцией гипоталамо-гипофизарного комплекса [11, 12]. Показано, что у самок крыс с

Концентрация ЛГ (I) и ФСГ (II) в среде при инкубации аденогипофизов ОВК (а), ОВК+Е<sub>2</sub> (б) или ОВК+Е<sub>2</sub>+СТЗ (в).

Светлые столбики — базальный уровень гормона (I), темные — при нагрузке ЛГ-РГ (2), заштрихованные вертикальными линиями — при нагрузке инсулином (3), заштрихованные кривой клеткой — при нагрузке ЛГ-РГ и инсулином (5). Звездочка —  $p < 0,05$  при сравнении группы 2 и 1 или 4 и 3, треугольник —  $p < 0,05$  при сравнении групп 3 и 1. По оси ординат — содержание гормона ЛГ в среде (в нг на 1 мг ткани), по оси абсцисс — время инкубации (в ч).



## Материалы и методы

Опыты проводили на беспородных белых половозрелых самках крыс массой тела 160—180 г, которых содержали в условиях контролируемого температурного режима (22—25 °С) и освещенности (свет с 5 до 19 ч). Животных овариэктомировали под эфирным наркозом и через 7 дней вводили стрептозотцин (СТЗ) в дозе 60 мг на 1 кг массы тела в 0,2 мл цитратного буфера (рН 4,5), внутривенно или тот же объем буфера. В группу экспериментальных животных отбирали крыс, у которых концентрация глюкозы в крови составляла более 12 ммоль/л (у контрольных животных — 2,7—3,6 ммоль/л). Через 21—25 дней после введения СТЗ животные получали эстрадиол бензоат (Е<sub>2</sub>) в дозе 5 мкг в 0,2 мл оливкового масла. Крыс декапитуировали через 72 ч, извлекли аденогипофизы, которые делили на 2 части и по 2 половинки от разных гипофизов преинкубировали в 1 мл среды 199, насыщенной в атмосфере 95 % О<sub>2</sub> и 5 % СО<sub>2</sub> и содержащей 20 ммоль НEPES и 20 ммоль бацитроцина («Seriva»). После смены среды гипофизы инкубировали при 37 °С при постоянном встряхивании с добавлением ЛГ-РГ (50 нг/мл) и/или инсулина (24 мкЕД/мл) в течение 5 ч, собирая аликвоты по 20 мкл каждый час для последующего определения лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов, причем через 4 ч проводили замену среды на новую.

Определение концентрации ЛГ и ФСГ в среде проводили радиоиммунологическим методом с использованием наборов NIDDK (США). Концентрацию гормонов выражали в нанogramмах NIDDK-rLH-RP-3 и NIDDK-rFSH-RP-2 соответственно на 1 мг ткани гипофиза.

Результаты обрабатывали статистически с помощью *t*-критерия Стьюдента.

## Результаты и их обсуждение

Определение секреции гонадотропинов аденогипофизами овариэктомированных самок крыс (ОВК) в условиях *in vitro* показало, что добавление в среду ЛГ-РГ вызывает увеличение концентрации ЛГ только через 3 ч инкубации (см. рисунок, I, а), а ФСГ — через 5 ч (см. рисунок, II, а). Инсулин не влиял на параметры базальной и ЛГ-РГ-стимулированной секреции ЛГ, но ускорял ответную реакцию ФСГ на введение ЛГ-РГ, которую регистрировали через 3 ч. Предварительное введение животным Е<sub>2</sub> не вызывало особых изменений уровня базальной секреции гонадотропинов, но ЛГ-РГ-стимулированная секреция гормонов была иной: увеличение концентрации ЛГ наблюдали уже через 1 ч инкубации (см. рисунок, I, б), а ФСГ — через 3 ч (см. рисунок, II, б). Максимальное увеличение концентрации гормонов в среде регистрировали через 5 ч. Такая же тенденция сохранялась после добавления инсулина в инкубационную среду.

Известно, что введение половых гормонов ОВК вызывает массивное высвобождение гонадотропинов из гипофиза, аналогично тому, как это наблюдается у интактных самок крыс в стадию проэструса (П). Эта модель позволяет изучать действие половых гормонов по механизму отрицательной и положительной обратной связи на уровне гипоталамо-гипофизарного комплекса. В утренние часы, через 72 ч после введения Е<sub>2</sub>

экспериментальным диабетом снижение базальной секреции гонадотропинов и половых гормонов и отсутствие ее циклических изменений могут быть обусловлены нарушениями центральной гипоталамической регуляции репродуктивной системы [6, 14]. Не исключена возможность изменений секреции гонадотропинов, связанных с нарушением чувствительности гонадотрофов гипофиза к действию люлиберина (ЛГ-РГ). Причем из литературы известно, что у особей мужского и женского пола эти нарушения проявляются в разной степени [3]. До сих пор остается спорным вопрос о том, насколько нарушения, возникающие при диабете, зависят от уровня половых стероидов и инсулина в организме [4, 19]. Учитывая тот факт, что инсулин может непосредственно участвовать в регуляции функции гонадотрофов [2], мы исследовали в условиях *in vitro* его влияние на чувствительность гипофиза к ЛГ-РГ на модели овариэктомированных самок крыс со стрептозотцини-дуцированным диабетом, которые получали эстрадиол в качестве компенсаторной гормонотерапии.

чувствительность гипофиза к ЛГ-РГ примерно такая, как и в первой половине дня стадии П. Из литературы известно, что секреция гонадотропинов у ОВК осуществляется на повышенном уровне, аналогичном тому, который характерен для первой половины дня стадии П [8]. В нашем эксперименте прослеживалась подобная закономерность. Однако изменение ЛГ-РГ-стимулирующей секреции гонадотропинов было различным у ОВК и ОВК+Е<sub>2</sub>: чувствительность гипофизов ОВК+Е<sub>2</sub> к ЛГ-РГ была выше, чем у ОВК.

Полученные результаты согласуются с представлением о том, что у ОВК повышенный уровень гонадотропинов в циркулирующей крови связан не с повышенной чувствительностью гипофиза к ЛГ-РГ, а с одновременным увеличением скорости синтеза и секреции гонадотропинов из аденогипофиза [8, 13].

В следующей серии опытов исследовали особенности секреции гонадотропинов из аденогипофизов ОВК+Е<sub>2</sub> с экспериментальным диабетом в условиях *in vitro*. Для этой группы животных была характерна повышенная скорость базальной секреции как ЛГ (см. рисунок, I, в), так и ФСГ (см. рисунок, II, в) во все временные интервалы. ЛГ-РГ-стимулированный ответ ЛГ регистрировали через 2 ч инкубации и по амплитуде он был ниже, чем у ОВК+Е<sub>2</sub>, составляя 160,8 % относительно контроля, тогда как в группе ОВК+Е<sub>2</sub> — 227 %.

Инкубация гипофизов животных опытной группы с инсулином значительно изменяла параметры как базальной, так и ЛГ-РГ-стимулированной секреции гонадотропинов: уровень базальной секреции гормонов снижался до такового контрольной группы животных, а величина ЛГ-РГ-вызванной секреции гонадотропинов даже превышала ту, которую наблюдали у контрольных животных.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что чувствительность гипофиза к ЛГ-РГ у ОВК+Е<sub>2</sub> снижена при стрептозотозининдуцированном диабете. Причем это снижение не связано с измененным уровнем половых гормонов при данном заболевании, так как животные получали заместительную гормонотерапию.

Данные литературы по этому вопросу довольно разноречивы. Так, L. Seethalakshimi и соавт. [15] наблюдали снижение чувствительности гипофиза к ЛГ-РГ у самцов крыс со стрептозотозининдуцированным диабетом. Q. Dong и соавт. [7] сообщили о снижении амплитуды пиков пульсирующей секреции ЛГ у орхиэктомированных крыс с экспериментальным диабетом, индуцированным стрептозотозином, в ответ на импульсное введение экзогенного ЛГ-РГ. В работе M. Tesone и соавт. [18] у ОВК крыс, получавших стрептозотозин, зарегистрировано снижение биологически активного, но не иммунореактивного ЛГ в ответ на введение ЛГ-РГ, тогда как C. Valdes и соавт. [19] наблюдали гиперответ секреции ЛГ на внутривенное введение ЛГ-РГ у самок крыс с экспериментальным диабетом на стадии диэструса. В то же время S. Katayama и соавт. [11] не выявили различий чувствительности гипофиза к экзогенному ЛГ-РГ между группами больных диа-

бетом и контрольных самок крыс, предполагая на основании этого, что нарушение функциональной активности гипофиза и ановуляция у крыс, больных диабетом, связано в первую очередь со снижением продукции ЛГ-РГ. На основании полученных результатов мы не исключаем этой возможности, тем более что в предыдущей работе [1] нами было показано изменение активности ЛГ-РГ-продуцирующей системы гипоталамуса у самок крыс при диабете. Что касается разноречивости данных, полученных разными авторами, то, по-видимому, они обусловлены известными половыми различиями, а также использованием разных методологических приемов и животных с различной длительностью заболевания.

Другой особенностью, отмеченной у животных, больных диабетом, была повышенная базальная секреция гонадотропинов по сравнению с группой контроля. По-видимому, это также связано с нарушениями гипоталамо-гипофизарной оси, вызванными диабетом. В работе мы не определяли суммарного содержания гонадотропинов в гипофизе. Однако из литературы известно, что при диабете концентрация ЛГ и ФСГ в гипофизе повышена [10, 17] в результате нарушения секреторной активности гонадотрофов по механизму обратной связи. К такому выводу авторы пришли на основании того, что у животных при диабете на фоне сниженного уровня половых гормонов отмечен сниженный уровень ЛГ в крови. В нашем эксперименте подопытные и контрольные животные имели одинаковый уровень половых гормонов в циркулирующей крови, поэтому наблюдаемые изменения секреторной активности гонадотрофов могли быть обусловлены другими причинами, в частности связанными с развитием гипергликемии и гипоинсулемии.

В работе мы изучали возможное влияние инсулина на секреторную активность гонадотрофов в условиях *in vitro* и показали, что добавление инсулина в инкубационную среду способствует снижению базальной секреции ЛГ и ФСГ до уровня, наблюдаемого у контрольных животных, а чувствительность гонадотрофов к ЛГ-РГ возрастает у ОВК+Е<sub>2</sub>, получавших СТЗ. В то же время инсулин практически не влиял на эти параметры у ОВК и ОВК+Е<sub>2</sub>. То, что инсулин способен менять секреторную активность клеток гипофиза, уже сообщалось в литературе. Например, показано его тормозящее влияние на соматотрофы [5] и лактотрофы [16], активирующее действие на гонадотрофы в культуре клеток гипофиза [2], регуляторное влияние на функцию нейрогипофиза [9]. В отличие от этих сообщений мы не зарегистрировали значительного влияния инсулина на базальную и ЛГ-РГ-стимулирующую секрецию гонадотропинов у животных, не получавших с СТЗ. И это в первую очередь связано с условиями проведения экспериментов: в нашем случае использовалась кратковременная инкубация гипофизов, в цитируемых работах — культура клеток и следовательно воздействие инсулина было более длительным и могло влиять на процессы как синтеза, так и секреции гормонов.

Можно предположить, что в норме инсулин оказывает тоническое влияние на секреторную активность клеток аденогипофиза по принципу отрицательной обратной связи. Именно этим, по-

видимому, можно объяснить торможение базальной секреции ЛГ и ФСГ у крыс, больных диабетом, после добавления инсулина к среде. Каким образом и на каком уровне осуществляется данное влияние инсулина, остается пока неясным.

В заключение следует отметить, что полученные результаты свидетельствуют о нарушении чувствительности гонадотрофов гипофиза к ЛГ-РГ при экспериментальном диабете и возможной физиологической роли инсулина в регуляции репродуктивной функции организма на уровне гипофиза.

## Выводы

1. Введение  $E_2$  овариэктомированным самкам крыс изменяет характер ЛГ-РГ-стимулированной секреции гонадотропинов из аденогипофиза.

2. Уровень базальной, но не ЛГ-РГ-стимулированной секреции гонадотропинов повышен у крыс с экспериментальным диабетом.

3. Инсулин тормозит базальную и повышает ЛГ-РГ-стимулированную секрецию ЛГ и ФСГ у ОВК, получавших  $E_2$ , со стрептозототининдуцированным диабетом.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ельцева Т. В., Адамская Е. И., Перышкова Т. А., Бабичев В. Н. // Пробл. эндокринологии.— 1992.— № 6.— С. 46—50.
2. Adashi E. Y., Hsueh A. J. W., Yen S. S. C. // Endocrinology.— 1981.— Vol. 108.— P. 1441—1449.
3. Bestetti G., Locatelli V., Tirone F. et al. // Ibid.— 1985.— Vol. 117.— P. 208—216.
4. Bestetti G., Yuiker V., Locatelli V. et al. // Diabetes.— 1987.— Vol. 36.— P. 1315—1319.
5. Betteridge A., Wallis M. // J. Endocr.— 1979.— Vol. 80.— P. 239—245.
6. Chandrashekar V., Steger R. W., Bartke A. et al. // Neuroendocrinology.— 1991.— Vol. 54.— P. 30—36.
7. Dong Q., Lazarus R. M., Wong L. S. et al. // J. Endocr.— 1991.— Vol. 131.— P. 49—55.

8. Falset P. C., Hiatt E. S., Schwartz N. B. // Endocrinology.— 1989.— Vol. 124.— P. 1370—1379.
9. Porsting M. L., Stempniak B., Guzek J. W. // J. Physiol. (Lond.).— 1992.— Vol. 446.— P. 272.
10. Howland B. E., Zebrowski E. J. // Experientia.— 1980.— Vol. 36.— P. 610—611.
11. Katayama S., Brownsheidle C. M., Wootten V. et al. // Diabetes.— 1984.— Vol. 33.— P. 324—327.
12. King T. S., Kang I. S. // Biochem. Res.— 1989.— Vol. 10.— P. 333—339.
13. Olson D. R., Blake C. A. // Neuroendocrinology.— 1991.— Vol. 53.— P. 124—133.
14. Sahu A., Sninsky C., Kalra P. S. et al. // Endocrinology.— 1990.— Vol. 126.— P. 192—198.
15. Seethalakshmi L., Menon M., Diamond D. // J. Urol. (Baltimore).— 1987.— Vol. 138.— P. 190—194.
16. Shenai R., Wallis M. // Biochem. Soc. Trans.— 1974.— Vol. 2.— P. 955—950.
17. Steger R. W., Amador A., Lam E. et al. // Endocrinology.— 1989.— Vol. 124.— P. 1737—1743.
18. Tesone M., Ladenheim R. G., Cheb-Terrab R. et al. // Ibid.— 1986.— Vol. 119.— P. 2412—2416.
19. Valdes C. T., Elkind-Hirsch K. E., Rogers D. G. // Neuroendocrinology.— 1990.— Vol. 51.— P. 406—412.

Поступила 25.06.93

V. N. Babichev, Ye. I. Adamskaya, T. A. Peryshkova —  
BASAL AND LH-RH-STIMULATED GONADOTROPIN SECRETION IN OOPHORECTOMIZED FEMALE RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES

Summary. *In vitro* insulin effect on basal and LH-RH-stimulated gonadotropin secretion in oophorectomized female rats with streptozotocin diabetes administered estradiol as replacing hormone therapy was studied. The results were compared to those obtained after a similar incubation of adenohipophyses of oophorectomized rats and of oophorectomized rats administered estradiol. Estradiol was found to change the type of LH-RH-stimulated gonadotropin secretion in oophorectomized animals. Basal, but not LH-RH-stimulated gonadotropin secretion, was increased in rats with experimental diabetes as against other groups. Insulin inhibited basal and increased LH-RH-stimulated gonadotropin secretion in oophorectomized rats with streptozotocin diabetes administered estradiol. A conclusion is made about impaired sensitivity of hypophyseal gonadotrophs to LH-RH in streptozotocin diabetes and about a possible contribution of insulin to regulation of body reproductive system at the level of hypophysis.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 616.379-008.84-092.9-07[616.831.41+616.432+618.111]-008.8

В. Н. Бабичев, Е. И. Адамская, Т. А. Перышкова

## АНАЛИЗ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-ГОНАДАЛЬНЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ У САМОК КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВЫЗВАННОМ ДИАБЕТЕ

Лаборатория физиологии эндокринной системы (зав.— проф. В. Н. Бабичев) Института экспериментальной эндокринологии (дир.— член-корр. РАМН И. Г. Акмаев) Эндокринологического научного центра (дир.— член-корр. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Москва

Логическим продолжением выполненных нами ранее работ [4, 5] по анализу взаимосвязи нарушений репродуктивной системы и полового поведения у самцов крыс при диабете явились исследование по оценке состояния репродуктивной системы у самок крыс при экспериментальном диабете, вызванном введением стрептозототина (СТЗ). Известно, что в отличие от самцов, для самок характерны циклические изменения активности репродуктивной системы. Следовательно, не исключено, что наблюдаемые в норме различия в регуляции гонадотропной функции гипофиза у самцов и самок крыс могут объяснять тот факт, что самцы, в основном более чувствительны к гипергликемическому действию СТЗ, чем самки

[13]. Кроме того, некоторые данные указывают на неодинаковые изменения в организме самцов и самок при дефиците инсулина [10]. На основании результатов морфологических и физиологических исследований G. Bestetti и соавт. [7] заключили, что у самок крыс изменения в гипофизе менее выражены, чем у самцов. Трактовка результатов, полученных разными исследователями при изучении репродуктивной системы у самок при диабете, осложнена наличием циклических изменений.

Нарушения циклическости при тяжелых формах диабета могут быть обусловлены множественными нарушениями гипоталамо-гипофизарно-гонад-