

8. Федотов В. П., Гудошников В. И., Баранова И. Н. // Изв. АН СССР. Сер. биол.— 1991.— № 2.— С. 287—290.
9. Федотов В. П., Гудошников В. И., Кожолов И. С., Абрамова В. В. // Бюл. экспер. биол.— 1992.— Т. 113, № 4.— С. 402—404.
10. Britton J. R., Kastin A. J. // Amer. J. med. Sci.— 1991.— Vol. 301.— P. 124—132.
11. Carbajo-Perez E., Watanabe Y. G. // Cell Tiss. Res.— 1990.— Vol. 261.— P. 333—338.
12. Cuttler L., Welsh J. B., Szabo M. // Endocrinology.— 1986.— Vol. 119.— P. 152—158.
13. Hemming F. J., Dubois M. P., Dubois P. M. // Cell Tiss Res.— 1986.— Vol. 245.— P. 457—460.
14. Hoeffler J. P., Boockfor F. R., Frawley L. S. // Endocrinology.— 1985.— Vol. 117.— P. 187—195.
15. Smels G., Velkeniers B., Herregodts P. et al. // Histochem. J.— 1989.— Vol. 21.— P. 337—342.
16. Welsh J. B., Cuttler L., Szabo M. // Endocrinology.— 1986.— Vol. 119.— P. 2368—2375.

Поступила 08.07.93

© В. Н. БАБИЧЕВ, И. В. ШИШКИНА, 1994

УДК 616.379-008.64-092.9-07:618.179

В. Н. Бабичев, И. В. Шишкина

СТАНОВЛЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ У ПОТОМСТВА КРЫС, БОЛЬНЫХ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВЫМ 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

В исследованиях, направленных на изучение сахарного диабета, особое место занимает диабет у беременных, так как он является причиной нарушения обменных процессов не только в организме матери, но и у ее потомства. Независимо от вида диабета у матери развитие плода протекает при метаболических процессах, отличных от нормы, что оказывает патогенное влияние на формирование всех органов и функциональных систем молодого организма. Все проблемы, связанные с потомством матерей, больных диабетом, объединяются понятием «диабетическая фетопатия».

К настоящему моменту по этому вопросу уже накоплено немало данных, которые в подавляющем большинстве являются клиническими наблюдениями и включают в себя широкий спектр характеристик как анатомических отклонений от нормы, так и нарушений жизнедеятельности различных функциональных систем организма [1, 7, 10]. Одной из таких систем является репродуктивная система. Состоянию ее при сахарном диабете уделяется очень мало внимания, а также практически отсутствуют какие-либо данные о влиянии диабета родителей на становление и функционирование репродуктивной системы у потомства.

Целью настоящей работы явилось изучение процессов формирования всех звеньев репродуктивной системы и прежде всего механизмов гипоталамического контроля гонадотропной функции гипофиза у потомства больных диабетом крыс.

Материалы и методы

Работу проводили на беспородных самках и самцах белых крыс, которых содержали в условиях температурного режима (22—25 °C) и стабильной освещенности (свет с 5 до 19 ч). Все животные являлись потомством 4 вариантов родитель-

V. P. Fedotov, V. I. Gudoshnikov, T. V. Mamayeva — AGE-SPECIFIC FEATURES OF NEUROHUMORAL REGULATION OF SOMATOTROPIC HORMONE SECRETION

Summary. Experiments with primary cultures demonstrated a stimulating effect of TRF on somatotrophic hormone (STH) secretion by hypophyseocytes of neonatal but not adult rats and a reduced reactivity of neonatal somatotrophs to the inhibitory effect of somatostatin during short-term incubation. No noticeable serotonin effect on STH release from hypophyseal cells of animals of various ages was observed. During prolonged (24 h) incubation a weak inhibitory effect of bromocryptine and melatonin on STH secretion by pituitary cells of neonatal but not adult rats was observed. These results permit us to propose a similarity of the functional characteristics of neonatal pituitary somatotrophs to somatomammotroph properties.

ских пар. 1-я группа — потомство здоровых родителей; 2-я группа — потомство здоровой самки и больного стрептозотоциновым (СТЗ) диабетом самца; 3-я группа — потомство больной СТЗ-диабетом самки и здорового самца; 4-я группа — потомство больных СТЗ-диабетом обоих родителей. Животных (родителей), больных СТЗ-диабетом, получали в результате внутрибрюшинного введения СТЗ в дозе 50 мг на 1 кг массы тела в 0,2 мл цитратного буфера pH 4,5. Больными считали животных, у которых концентрация глюкозы в крови через 10 дней после введения СТЗ составляла не менее 8 ммоль/л (в норме 2,3—3,1 ммоль/л).

Было проведено 3 серии экспериментов. В первой серии с целью индуцирования преовуляторной волны ЛГ самкам

Таблица 1

Концентрация половых гормонов и ЛГ у неполовозрелых самок, обработанных E_2 и П, и самцов крыс, кастрированных в 5-дневном возрасте ($M \pm m$)

Группа животных		Гормон		
группа родительских пар	потомство	E_2 , пг/мл	T, нг/мл	ЛГ, нг/мл
1	Самки (8):			
	И	$12,48 \pm 1,36$	$0,44 \pm 0,10$	$4,85 \pm 0,81$
	И+ E_2 +П	$9,77 \pm 0,87$	$0,38 \pm 0,09$	$30,75 \pm 2,46$
	Самцы (8):			
2	И	$15,10 \pm 1,65$	$1,04 \pm 0,28$	$1,55 \pm 0,36$
	кастрированные	$1,4 \pm 0,31$	$0,15 \pm 0,05^{**}$	$8,90 \pm 1,45$
	Самки (8):			
	И	$11,54 \pm 1,21$	$0,33 \pm 0,07$	$3,97 \pm 0,65$
3	И+ E_2 +П	$10,90 \pm 0,98$	$0,37 \pm 0,08$	$23,31 \pm 2,91$
	Самцы (7):			
	И	$13,51 \pm 1,56$	$1,21 \pm 0,31$	$1,24 \pm 0,29$
	кастрированные	$1,12 \pm 0,18^{**}$	$0,14 \pm 0,03^{**}$	$7,15 \pm 1,56$
4	Самки (7):			
	И	$12,79 \pm 1,24$	$0,41 \pm 0,09$	$4,05 \pm 0,91$
	И+ E_2 +П	$12,13 \pm 1,30$	$0,36 \pm 0,07$	$5,21 \pm 1,05^*$
	Самцы (6):			
5	И	$14,0 \pm 1,48$	$1,15 \pm 0,24$	$1,31 \pm 0,34$
	кастрированные	$1,33 \pm 0,29^{**}$	$0,12 \pm 0,03^{**}$	$1,64 \pm 0,45^*$
	Самки (7):			
	И	$10,25 \pm 1,48$	$0,43 \pm 0,11$	$4,41 \pm 0,70$
6	И+ E_2 +П	$11,48 \pm 1,30$	$0,40 \pm 0,09$	$5,85 \pm 1,10^*$
	Самцы (6):			
	И	$12,20 \pm 1,19$	$1,25 \pm 0,26$	$1,19 \pm 0,22$
	кастрированные	$1,00 \pm 0,15^{**}$	$0,17 \pm 0,04^{**}$	$1,27 \pm 0,25^*$

Примечание. И — интактные животные. Достоверность различий: одна звездочка — $p < 0,05$ в сравнении с 1-й и 2-й группами; две звездочки — $p < 0,01$ в сравнении с интактными самцами. Здесь и в табл. 2 в скобках — число животных.

Таблица 2

Концентрация E_2 , Т и ЛГ в сыворотке крови у взрослого потомства интактных и больных СТЗ-диабетом родителей ($M \pm m$)

Группа животных		Гормон		
группа родитель- ских пар	потомство	E_2 , пг/мл	Т, нг/мл	ЛГ, нг/мл
1	Самки (10):			
	Д ₁	13,17 ± 1,56	0,45 ± 0,12	6,83 ± 1,03
	П ₁₇ ч	11,49 ± 1,15	0,31 ± 0,07	39,31 ± 2,45
	Самцы (10)	9,55 ± 0,87	2,90 ± 0,47	2,24 ± 0,34
	Самки (9):			
2	Д ₁	11,71 ± 1,03	0,38 ± 0,08	5,45 ± 1,06
	П ₁₇ ч	9,87 ± 1,00	0,25 ± 0,02	36,20 ± 2,31
	Самцы (10)	8,80 ± 0,76	2,77 ± 0,41	1,88 ± 0,30
	Самки (8):			
	Д ₁	12,15 ± 1,29	0,39 ± 0,08	4,70 ± 0,95*
3	П ₁₇ ч	10,08 ± 1,15	0,29 ± 0,04	28,15 ± 2,33*
	Самцы (8)	8,11 ± 0,84	2,49 ± 0,38	1,11 ± 0,25*
	Самки (8):			
	Д ₁	12,85 ± 1,41	0,42 ± 0,10	4,43 ± 0,86*
	П ₁₇ ч	10,56 ± 1,06	0,24 ± 0,03	26,72 ± 2,15*
4	Самцы (9)	9,05 ± 0,95	2,71 ± 0,39	1,32 ± 0,29*

Примечание. Звездочка — $p < 0,01$ в сравнении с интактными животными (1-я группа).

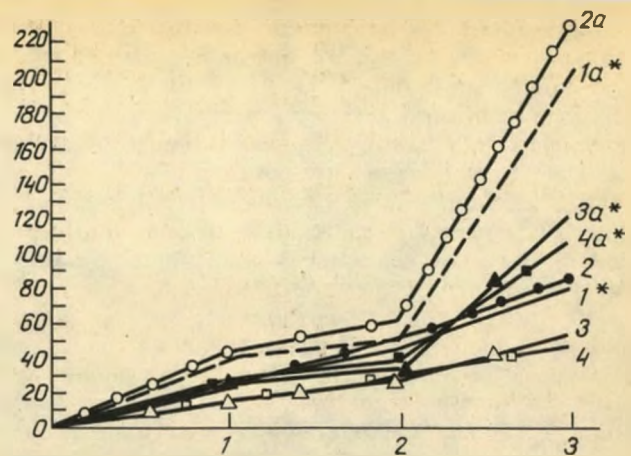
(потомство всех групп), достигшим 26-дневного возраста, в 10 ч вводили эстрадиол-бензоат (E_2B) в дозе 2,5 мкг на 100 г массы тела, а через 48 ч — прогестерон (П) в дозе 2,5 мг на 100 г массы тела. Самок декапитировали в возрасте 28 дней в 17 ч. Самцов тех же групп кастрировали в возрасте 5 дней и забивали в возрасте 7 дней, когда в результате действия уже сформировавшихся обратных связей кастрация вызывает резкое повышение уровня ЛГ.

Во второй серии экспериментов животных забивали в возрасте 90 дней, причем самок в 10 ч в стадии Д₁ и в 17 ч в стадии П. В сыворотке крови животных всех групп определяли содержание ЛГ радиоиммунологическим методом с использованием наборов № 1 ДДК (США) и выражали концентрацию в нанограммах № 1 ДДК-rLH RP-3 на 1 мл сыворотки. Кроме того, определяли содержание эстрадиола (E_2) и тестостерона (Т) наборами для радиоиммунологического анализа стерон Т-¹²⁵I (Минск) и EsTP-Direct «Sorin» и TESTO-CT (Франция). Уровень инсулина в крови определяли с помощью набора рино-ИПС-ПН-¹²⁵I и выражали в мкЕД на 1 мл сыворотки. В цельной крови и моче измеряли концентрацию глюкозы глюкозооксидазным методом на приборе «Эксан», которую выражали в ммоль на 1 л. В третьей серии половозрелых самцов декапитировали в 10 ч. Извлеченные гипофизы делили на 2 половинки и по 2 половинки разных гипофизов после взвешивания помещали в инкубационные флаконы с 1 мл среды 199, насыщенной в атмосфере 95 % CO_2 [8]. Инкубацию проводили при 37 °C при постоянном встряхивании. Через 30 мин среду заменяли на свежую и добавляли ЛГ-рилизинг-гормон (ЛГ-РГ) в дозе 50 нг/мл. Каждый час брали аликвоты по 25 мкл, в которых определяли содержание ЛГ.

Результаты и их обсуждение

У новорожденных всех групп в первые сутки жизни определяли концентрацию глюкозы в моче. У потомства как здоровых родителей, так и во всех других группах эта величина не превышала 2,5 ммоль/л.

У 28-дневного потомства — самок всех групп концентрация половых гормонов не изменялась в результате предварительной обработки E_2 и П (табл. 1). Концентрация ЛГ у самок первых двух групп увеличивалась в 6—7 раз, а у самок 3-й и 4-й групп практически не менялась. У 7-дневного потомства-самцов в результате кастрации в 5-дневном возрасте отмечено (см. табл. 1) снижение уровня половых гормонов в 9—11 раз во всех группах животных, в то же время концентрация ЛГ повышалась в 16 раз только у животных первых 2 групп, а у животных 3-й и 4-й групп оставалась без изменений.



Концентрация ЛГ в среде при инкубации аденогипофизов половозрелых самцов, являющихся потомством 4 групп родительских пар (базальная 1—4 и при нагрузке ЛГ-РГ — 1а—4а).

По оси ординат — содержание ЛГ в среде (в нг на 1 мг гипофиза); по оси абсцисс — время инкубации (в ч). Звездочка — $p < 0,05$ при сравнении групп 3, 3а, 4, 4а, с 1, 1а.

Концентрация инсулина и глюкозы в крови у самок и самцов-потомков не различалась между группами и была в пределах 21,5 мкЕД/мл и 2,9 ммоль/л соответственно.

У половозрелого потомства-самок и самцов концентрация половых гормонов не зависела от состояния углеводного обмена у родителей (табл. 2) и была сходной между группами — у самок и группами в одинаковых стадиях цикла — у самок.

Уровень ЛГ у потомства родительских пар 3-й и 4-й групп был в 1,5 раза ниже, чем у интактных животных. Концентрация инсулина и глюкозы в крови у всех животных этих групп составляла 26,5 мкЕД/мл и 3,7 ммоль/л соответственно.

В третьей серии опытов, проводимых *in vitro*, определяли чувствительность гонадотрофов аденогипофиза к ЛГ-РГ у половозрелых самцов — потомства всех групп. Было показано (см. рисунок), что у самцов — потомства родительских пар 1-й и 2-й групп как уровень базальной секреции ЛГ в течение всего периода инкубации, так и ответ на ЛГ-РГ сходен, а в 3-й и 4-й группах уровень базальной секреции и чувствительность к ЛГ-РГ были 1,5—1,7 раза снижены по сравнению с потомством здоровых родителей.

Результаты наших экспериментов показали, что диабет отцов не влияет на формирование всех уровней репродуктивной системы потомства обоего пола. В то же время у потомства больных СТЗ-диабетом матерей отмечены отклонения от нормы в развитии этой системы. Для нормального функционирования любого нейроэндокринного комплекса необходима координированная деятельность периферических желез и центрального его отдела, осуществляемая по механизму обратных связей. У самок крыс к 26-му дню жизни, а у самцов к 5-му дню жизни уже полностью сформирована в соответствии с полом система обратных связей, способная регулировать секрецию гонадотропинов [3, 6].

Полученные нами данные свидетельствуют, что у потомства — самок родительских пар 3-й и 4-й

групп к 26-му дню жизни еще не сформировалась система положительной обратной связи в гипоталамо-гипофизарно-гонадных отношениях, так как у обработанных Е₂ и П животных не наблюдался пик содержания ЛГ, характерный в аналогичных условиях для интактных особей. У потомства — самцов этих же групп, кастрированных в 5-дневном возрасте, также отсутствует повышение уровня ЛГ, наблюдаемое у кастрированных интактных 5-дневных самцов крыс.

Из литературы известно, что в организме плодов больных диабетом матерей наблюдается, с одной стороны, повышенное поступление глюкозы и гиперинсулинемия, а с другой — пониженное и диспропорциональное поступление аминокислот и нарушение состава белков по отношению к срокам внутриутробного развития [4, 9]. В ряде работ отмечено уменьшение массы мозга и его функциональное недоразвитие [2, 5]. По-видимому, нарушенный белковый обмен на протяжении всего развития плода и особенно в период формирования нейроэндокринных структур гипоталамуса является причиной задержки в развитии гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы как в целом, так и на отдельных ее уровнях. В частности, в опытах *in vitro* нами было показано снижение и базального уровня ЛГ и чувствительности гонадотрофов гипофиза к ЛГ-РГ у потомства больных матерей на протяжении всего времени исследования. Снижение уровня ЛГ в 1,5 раза наблюдалось в этих же группах и в сыворотке половозрелых животных. В то же время концентрация половых гормонов была одинаковой соответственно у самцов и самок, являющихся потомством родительских пар всех групп.

Подтверждением имеющихся отклонений от нормы в механизме регуляции гипоталамусом секреции гонадотропинов является и тот факт, что у 75 % самок — потомства больных диабетом матерей наблюдается нестабильный половой цикл. Тем не менее 95 % самцов и самок этих групп дали 2-е поколение потомства, а это может служить свидетельством в пользу того, что периферическое звено репродуктивной системы этих животных, по-видимому, не подвергается дисбалансирующему влиянию диабета родителей.

В заключение можно отметить, что у крыс — потомства больных диабетом матерей имеются нарушения в механизме контроля репродуктивной системы организма, но при этом остается возможным функционирование этой системы и воспроизводство потомства.

Выводы

1. Концентрация ЛГ в сыворотке половозрелого потомства матерей, больных СТЗ-диабетом, снижена по сравнению с потомством здоровых родителей.

2. У потомства самок, больных СТЗ-диабетом, наблюдали возрастное отставание от нормы в процессе формирования обратных связей в гипоталамо-гипофизарно-гонадной системе.

3. У потомства матерей, больных СТЗ-диабетом, базальный уровень ЛГ и чувствительность гипофиза к ЛГ-РГ снижена по сравнению с интактными животными.

ЛИТЕРАТУРА

1. Полякова Г. П., Уголева С. В. // Вопр. охр. мат.— 1982.— № 1.— С. 66—70.
2. Aerts L., Van Bree R., Feytans V. et al. // Biol. Neonate.— 1989.— Vol. 56, N 1.— P. 31—39.
3. Andrews W. W., Geda S. R. // Endocrinology.— 1977.— Vol. 101, N 5.— P. 1517—1524.
4. Canovan J. P., Goldspink D. F. // Diabetes.— 1988.— Vol. 37, N 12.— P. 1671—1677.
5. Dianoud M. P., Harbert-Moley K., London J. et al. // Metabolism.— 1990.— Vol. 39, N 3.— P. 220—224.
6. Goldman H. R., Gorski D. L. // Endocrinology.— 1971.— Vol. 89.— P. 112—117.
7. Kitzmiller J. L., Choterty J. P., Younger M. D. et al. // Amer. J. Obstet. Gynec.— 1978.— Vol. 131, N 5.— P. 560—578.
8. Koning J., Tissen A. M., Van Rees G. P. // J. Endocr.— 1989.— Vol. 120.— P. 439—447.
9. Robinson J., Canovan J. P., El Haj Alicia et al. // Diabetes.— 1988.— Vol. 37, N 12.— P. 1665—1670.
10. Van Herlogh R. V., Verchevel M., Pampfer S. // Diabetologia.— 1989.— Vol. 32, N 7.— P. 480—485.

Поступила 12.08.93

V. N. Babichev, I. V. Shishkina — DEVELOPMENT OF THE REPRODUCTIVE SYSTEM IN THE PROGENY OF RATS WITH STREPTOZOTOCIN DIABETES

Summary. Specificities of functioning and development of the reproductive system and mechanism of its regulation with hypothalamic structures were studied in the progeny of rats with streptozotocin diabetes. For this purpose pituitary sensitivity was analyzed in mature animals, as was functional capacity of the feedback system mediating the hypothalamic regulation of gonadotropin secretion in rat males and females at the age when this system normally starts functioning in health. The hypothalamohypophyseogonadal system feedback mechanism was found to develop in the progeny of female rats with streptozotocin diabetes later than in health. Pituitary sensitivity to LH-RH was reduced and LH level reduced by 1.5 times in mature progeny of rats with streptozotocin diabetes as compared to that in the progeny of healthy rats. These results permit a conclusion that the progeny of rats with streptozotocin diabetes develop disorders in the mechanism regulating the reproductive system of the body, though not so grave as to make this system functioning impossible.