

О.В. Ганчева, Ю.М. Колесник, О.В. Мельникова, В.А. Жулинский, А.В. Абрамов

Нейроэндокринные и метаболические нарушения у крыс с генетически детерминированной гипертензией

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: крысы линии SHR, гипоталамус, гормонально-цитокиновый статус, углеводный обмен.

Установлено, что генетически детерминированная гипертензия в сочетании с внешними факторами у крыс линии SHR приводит к существенным метаболическим нарушениям. Эти нарушения характеризуются гиперлептинемией, гиперлипидемией, гипертриглицеридемией, гиперхолестеринемией, изменениями в системе монооксида азота и гормонально-цитокинового статуса. При этом, еще до формирования развернутой клинической картины эндокринной патологии в эугликемическом периоде у крыс наблюдается гиперинсулинемия вследствие повышенного синтеза и нарушения ранней фазы секреции инсулина β -клетками, высокий уровень контринсулярных гормонов – кортикостерона и катехоламинов. Отмечают существенные изменения состояния ядер гипоталамуса, которые напрямую зависят от уровня гликемии.

Нейроендокринні та метаболічні порушення у щурів з генетично детермінованою гіпертензією

О.В. Ганчева, Ю.М. Колесник, О.В. Мельникова, В.О. Жулинський, А.В. Абрамов

Встановлено, що генетично детермінована гіпертензія в поєднанні з зовнішніми чинниками у щурів лінії SHR призводить до суттєвих метаболічних порушень. Ці порушення характеризуються гіперлептинемією, гіперліпідемією, гіпертригліцеридемією, гіперхолестеринемією, порушеннями в системі монооксиду азоту та гормонально-цитокинового статусу. При цьому, ще до формування розгорнутої клінічної картини ендокринної патології в еулікемічному періоді у щурів спостерігається гіперінсулінемія внаслідок підвищеного синтезу та порушення ранньої фази секреції інсуліну β -клітинами, високий рівень контринсулярних гормонів – кортикостерону і катехоламінів. Відзначають суттєві зміни стану ядер гіпоталамуса, що мають пряму залежність від рівня глікемії.

Ключові слова: щури лінії SHR, гіпоталамус, гормонально-цитокиновий статус, вуглеводний обмін.

Патологія. – 2011. – Т.8., №2. – С. 15–17

Neuroendocrine and metabolic disturbances in rats with genetically determined hypertension

O.V. Gancheva, Yu.M. Kolesnik, O.V. Melnikova, V.A. Zhulinsky, A.V. Abramov

It is established in the research that genetically determined hypertension in SHR rats in combination with external factors leads to considerable metabolic disorders. These disorders are characterized by hyperleptinemia, hyperlipidemia, hypertriglyceridemia, hypercholesterolemia, disturbances in nitrogen monoxide system and hormone-cytokine status. Furthermore, even before the formation of full clinical manifestation of endocrine pathology in euglycemic period hyperinsulinemia is observed in rats due to increased synthesis and disturbed early phase of insulin secretion in pancreatic β -cells, high level of contra-insular hormones – corticosterone and catecholamines. Important alterations in hypothalamic nuclei state are observed which are dependent on glycemia level.

Key words: SHR line rats, hypothalamus, hormonal-cytokine status, carbohydrate metabolism.

Pathologia. 2011; 8(2): 15–17

По данным специальной литературы и ряда исследований, которые изучали отдельные звенья патогенеза формирования метаболических нарушений у крыс линии SHR, у животных этой линии отмечаются изменения в углеводном и жировом обменах с нарушением основных биохимических показателей, с изменением гормонально-цитокинового статуса [1–4]. У крыс с гипертензией установлены нарушения в обмене нейротрансмиттеров аминной (норадреналина, адреналина, дофамина, серотонина, гистамина) и пептидной природы (β -эндофина, динорфина, вещества P, NPY) в ЦНС [5, 6], морфогистохимические и биохимические отличия эндокриноцитов поджелудочной железы [7–9] от нормы. Приведенные данные позволили предположить, что у крыс линии SHR помимо формирующейся спонтанной гипертензии наблюдаются сложные многоуровневые и взаимозависимые изменения в регуляторных системах контроля метаболизма, но при этом отдельные разрозненные данные медицинской литературы далеки от окончательного понимания целостной картины.

Отличительной особенностью нашей работы являлось то, что в ней применен метод комплексного и параллельного изучения как самих показателей углеводного и жирового обмена, так и анализа уровней его регуляции: субстратного, гормонально-цитокинового и центрального гипоталамического. Проведено несколько этапов исследования на доклиническом уровне при эугликемии и нарушенном тесте толерантности к глюкозе и при развитии патологии – стойкой тощачковой гипергликемии. При этом главным критерием в оценке степени выраженности нарушения углеводного обмена были уровень тощачковой гликемии и результаты глюкозо-толерантного теста (ГТТ).

Цель работы

Изучение состояния уровней регуляции углеводного обмена (субстратного, гормонально-цитокинового и гипоталамического) у крыс линии SHR, в зависимости от концентрации глюкозы.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на 45 крысах-самцах линии

SHR возрастом 6–7 месяцев, распределенных на три группы, в зависимости от веса и уровня гликемии (1 группа – вес 300–350 г с эугликемией, 2 – вес 350–400 г с нарушенным тестом толерантности к глюкозе (ГТТ) и 3 – вес более 400 г с гипергликемией) и 10 крысах-сацах линии Wistar, использованных в качестве контроля. В экспериментальных группах учитывали вес животного, определяли концентрацию глюкозы глюкозооксидазным методом; содержание липидов (ЛП), триглицеридов (ТГ) и холестерина (ХС) в плазме крови с помощью стандартных биохимических методов; наборов, концентрацию инсулина, С-пептида, лептина, кортикостерона, ИЛ-4, ИЛ-6 и ФНО- α в плазме определяли иммуноферментным методом с использованием наборов фирм DRG и Peninsula Lab. Inc. (США). Для определения концентрации адреналина и норадреналина в плазме крови экспериментальных животных использовали разработанную и запатентованную нами методику, принцип которой заключался в избирательной экстракции адреналина и норадреналина с последующим флюорометрическим анализом окисленных комплексов. Для изучения морфофункционального состояния β -клеток панкреатических островков, гипоталамических крупноклеточных ПВЯ, мелкоклеточных АрЯ, ВМЯ и ПВЯ нейронов, NPY-эргической системы АрЯ и ВМЯ, экспрессии транскрипционного фактора белка c-Fos в ПВЯ, АрЯ и ВМЯ ядрах гипоталамуса в экспериментальных группах животных проводили комплекс морфометрических, гистохимических и флюорометрических методик с использованием в качестве экспериментального материала поджелудочные железы и гипоталамусы.

Результаты и их обсуждение

В ходе исследования установлено, что у крыс линии SHR 1 группы с нормогликемией отмечали увеличенный вес, гиперинсулинемию, гиперлептинемия, увеличение концентрации С-пептида в крови, наблюдали уменьшение содержания иммунореактивного инсулина в панкреатических островках, что в сочетании с увеличением уровня С-пептида в плазме свидетельствовало об усилении процессов синтеза и секреции инсулина в кровотоке. Вместе с тем можно предположить, что повышение морфофункциональной активности β -клеток носило компенсаторный характер, направленный на поддержание уровня глюкозы в крови в эугликемическом диапазоне. Обращал на себя внимание еще и тот факт, что у крыс 1 группы эугликемический период характеризовался высокими концентрациями в крови лептина, адреналина, норадреналина и кортикостерона. Установлены изменения в балансе цитокинов, наблюдалось более чем двукратное увеличение уровня ФНО- α на фоне повышенного содержания ИЛ-6.

У крыс 2 группы с нарушенным ГТТ наблюдали дальнейшее прогрессирование нарушения жирового обмена (гипертриглицеридемия, гиперлипидемия, гиперхолестеринемия), гиперинсулинемию, гиперлептинемия, увеличение уровня С-пептида, на фоне снижения содержания инсулина в панкреатических островках. Отмечали высо-

кий уровень кортикостерона и адреналина с типичными изменениями баланса цитокинов; увеличением концентрации ФНО- α и ИЛ-6 на фоне снижения ИЛ-4.

Рассматривая особенности метаболических процессов в 3 группе крыс линии SHR с гипергликемией следует отметить, что изменения констант жирового обмена сохраняли свою направленность в сторону повышения, на фоне гиперинсулинемии и гиперлептинемии. Концентрация С-пептида в крови экспериментальных животных становилась ниже значений контроля, тип гликемической кривой при проведении ГТТ был диабетическим. Определение концентрации С-пептида позволило оценить остаточную синтетическую функцию β -клеток и предположить ее снижение. Подтверждением этому предположению служил факт снижения содержания инсулина в панкреатических островках и уменьшение их площади. При этом установленное увеличение концентрации инсулина в крови крыс с гипергликемией, вероятно, связано с резистентностью инсулинзависимых тканей к гормону.

Анализируя концентрации кортикостерона и катехоламинов у крыс с тощакковой гипергликемией следует отметить, что нарастание концентрации кортикостерона происходило на фоне снижения уровня моноаминов. Дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов достигал пиковых значений, когда происходило 3–6-ти кратное увеличение концентрации ФНО- α , со снижением уровня ИЛ-4 и ИЛ-6.

В соответствии с полученными данными о динамичных и однонаправленных изменениях показателей метаболизма в процессе формирования нарушений в углеводном обмене у крыс с генетически детерминированной гипертензией, выдвинута гипотеза о сопряженности и определенной зависимости изменений всех трех уровней контроля углеводного гомеостаза – субстратного, гормонально-цитокинового и гипоталамического, прогрессирующих по мере формирования стойкой тощакковой гипергликемии.

Установлено, что у крыс линии SHR по мере прогрессирования нарушений в углеводном обмене наблюдались изменения в степени экспрессии белка c-Fos, NPY-эргической активности ядер и морфофункционального состояния нейронов в гипоталамусе. Оказалось, что, по сравнению с контролем (крысы линии Вистар), у крыс с гипертензией эугликемический период характеризовался низкой степенью экспрессии белка c-Fos в ПВЯ, с сохранением в АрЯ и ВМЯ. Особенностью реакции НPY-синтезирующей системы гипоталамуса у экспериментальных животных с эугликемией было уменьшение содержания NPY. Анализ морфогистохимических параметров крупно- и мелкоклеточных нейронов ПВЯ и АрЯ показал однонаправленность их изменений, отмечали уменьшение площади ядрышка на фоне повышения содержания гетерогенной РНК во всех нейрональных структурах (цитоплазме, ядре и ядрышке). При этом снижалась активность нейронов ВМЯ.

По мере прогрессирования нарушений углеводного об-

мена и формирования стойкой гипергликемии произошло изменение степени экспрессии транскрипционного фактора c-Fos в ядрах гипоталамуса. Наблюдали высокую его экспрессию в нейронах ПВЯ и АрЯ гипоталамуса, вероятно, приводящая к нарушению стрессоустойчивости, скоординированности вегетативных функций и сбалансированности гипоталамо-гипофизарно-эндокринной системы в целом. Сверхэкспрессия белка c-Fos в нейронах АрЯ и дефект его экспрессии в клетках ВМЯ гипоталамуса, на наш взгляд, играет существенную роль в формировании нарушений пищевого поведения у животных и, как следствие, метаболических нарушений, с дальнейшим поддержанием гиперинсулинемии, гипергликемии, инсулинорезистентности, гиперлипидемии, гипертриглицеридемии.

Неоднозначные изменения наблюдали и в состоянии НРУ-эргической системы гипоталамуса при прогрессировании нарушений в углеводном гомеостазе. Особо следует отметить, что в начале формирования нарушений происходила активация ее в АрЯ и снижение в ВМЯ на фоне усиления секреции нейрогормона по терминалям срединного возвышения, в то время как стойкие нарушения в углеводном обмене сопровождались активацией синтетической активности нейронов АрЯ и ВМЯ гипоталамуса, но снижением секреции нейропептида по терминалям срединного возвышения. На основании этого можно признать патогенетическую роль дисфункции гипоталамических ядер в формировании метаболических нарушений.

Выводы

У крыс линии SHR по мере увеличения массы формируются нарушения в углеводном обмене с развитием тощаковой гипергликемии. Прогрессирующие нарушения метаболизма сопровождаются гиперлипидемией, гиперкортикостеронемией, увеличением уровня инсулина, С-пептида, адреналина и норадреналина.

Формирование и прогрессирование нарушений в углеводном обмене происходят на фоне гормонально-цитокинного дисбаланса.

У крыс линии SHR наблюдаются сопряженные изменения во всех уровнях регуляции гомеостаза, которые формируются еще в эугликемическом периоде и прогрессируют по мере развития стойкой тощаковой гипергликемии.

Литература

1. Резников А.Г. Перинатальная модификация развития нейроэндокринной системы: феномены и механизмы / А.Г. Резников // Проблемы эндокринологии. – 2004. – Т. 50, №4. – С. 42–48.
2. Correction of glycaemia and GLUT1 level by mildronate in rat streptozotocin diabetes mellitus model / J. Sokolovska, S. Isajevs, O. Sugoka [et al.] // Cell. Biochem. Funct. – 2011. – Vol. 29, №1. – P. 55–63.
3. D'mello A.P. Effects of maternal immobilization stress on birth weight and glucose homeostasis in the offspring / A.P. D'mello, Y. Liu. // Psychoneuroendocrinology. – 2006. – Vol. 31, №3. – P. 395–406.
4. Prior preterm or small-for-gestational-age birth related to maternal metabolic syndrome / J.M. Catov, R. Dodge, J.M. Yamal [et al.] // Obstet Gynecol. – 2011. – Vol. 117, №2, Pt. 1. – P. 225–232.
5. Ghrelin's role as a major regulator of appetite and its other functions in neuroendocrinology / C.T. Lim, B. Kola, M. Korbonits [et al.] // Prog. Brain Res. – 2010. – Vol. 182. – P. 189–205.
6. Corticotrophin-releasing factor receptors within the ventromedial hypothalamus regulate hypoglycemia-induced hormonal counterregulation / R.J. Mc Crimmon, Z. Song, H. Cheng [et al.] // J. Clin. Invest. – 2006. – Vol. 116, №6. – P. 1723–1730.
7. Резников А.Г. Патогенетический базис профилактики синдрома пренатального стресса / А.Г. Резников // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2008. – Т. 1, №11. – С. 16–21.
8. Schwartz M.W. The hypothalamus and β -cell connection in the gene-targeting era / M.W. Schwartz, S.J. Guyenet, V. Cirulli // Diabetes. – 2010. – Vol. 59, №12. – P. 2991–2993.
9. Mechanism-based disease progression modeling of type 2 diabetes in Goto-Kakizaki rats / W. Gao, S. Bihorel, D.C. DuBois [et al.] // J. Pharmacokinet. Pharmacodyn. – 2011. – Vol. 38, №1. – P. 143–162.

Сведения об авторах:

Ганчева О.В., д. мед. н., доцент каф. патофизиологии ЗГМУ.
 Колесник Ю.М., д. мед. н., профессор, зав. каф. патофизиологии ЗГМУ, ректор ЗГМУ.
 Мельникова О.В., к. мед. н., ст. преподаватель каф. патофизиологии ЗГМУ.
 Жулинский В.А., к. мед. н., доцент каф. патофизиологии ЗГМУ.
 Абрамов А.В., д. мед. н., профессор каф. патофизиологии ЗГМУ.

Адрес для переписки:

Ганчева Ольга Викторовна. 69035, г. Запорожье, пр. Маяковского, 26, ЗГМУ, каф. патофизиологии.
 Тел.: (0612) 34 35 61.