13. Schulster M., Bernie A. M., Ramasamy R. The role of estradiol in male reproductive function. *Asian J. Androl.* 2016;18(3):435-440. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.173932>
14. Darbandi M., Darband S., Agarwal A., Sengupta P., Durairajanayagam D. [et al.]. Reactive oxygen species and male reproductive hormones. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2018;16(1):87. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0406-2>
15. Rehman S., Usman Z., Rehman S., AlDraheim M., Rehman N. [et al.]. Endocrine disrupting chemicals and impact on male reproductive health. *Translat. Androl. Urol.* 2018;7(3):490-503. <https://doi.org/10.21037/tau.2018.05.17>

Сведения об авторах:

Беляев Николай Георгиевич, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры биомедицины и физиологии института живых систем; тел.: 89034411854; e-mail: belyaev_nikolay@mail.ru

Тимченко Людмила Дмитриевна, доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры прикладной биотехнологии; тел.: 89054173022; e-mail: l_timchenko@mail.ru

Ржепаковский Игорь Владимирович, кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник; тел.: 89054164981; e-mail: 78igorr@mail.ru

Писков Сергей Иванович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник; тел.: 89054191482; e-mail: piskovsi77@mail.ru

Груднева Александра Дмитриевна, аспирант; тел.: 89888629264; e-mail: s9888629264@yandex.ru

Михайленко Виктор Васильевич, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы, анатомии и патанатомии; тел.: 89188663103; e-mail: mihaylenko@live.ru

© Л. И. Губарева, 2021

УДК 618. 3:612.64/65.612.45.

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2021.16014>

ISSN – 2073-8137

ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОГЛИКЕМИИ НА АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ГИПОТАЛАМО- ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ И РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К СТРЕССУ У КРЫС

Л. И. Губарева

Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Российская Федерация

INFLUENCE OF PRENATAL HYPOGLYCEMIA ON THE ADAPTIVE POSSIBILITIES OF THE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSEAL-ADRENOCORTICAL SYSTEM AND RESISTANCE TO STRESS IN RATS

Gubareva L. I.

North Caucasus Federal University, Stavropol, Russian Federation

Изучали содержание глюкозы в крови, функциональное состояние гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы (ГГКС) и ее реакцию на действие стрессоров у самок крас, подвергнутых в период беременности гипогликемии введением инсулина, а также у их потомства. Установлено, что гипогликемия во время беременности вызывает стрессовое активирование ГГКС по сравнению с физиологической беременностью. Эпизодическая гипогликемия матери приводит к двухфазной реакции ГГКС её потомства: повышению функциональной активности в поздний пренатальный и ранний постнатальный периоды (–1–30 дней) и последующему понижению (45–365 дней) по сравнению с контролем. Для обеих фаз характерно снижение резистентности к предельным мышечным нагрузкам и иммобилизации, а также истощение ГГКС, наиболее выраженное в период новорожденности, полового созревания и в 12-месячном возрасте.

Ключевые слова: крысы, гипогликемия, гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система, адаптация, стрессрезистентность потомства

We studied the blood glucose content, functional state of HHACS and its response to stressors in female rats exposed to insulin hypoglycemia during pregnancy, as well as in their offspring. It was found that hypoglycemia during pregnancy causes stressful activation of HHACS in comparison the level of physiological pregnancy. Episodic hypoglycemia of the mother leads to a two-phase reaction of HHACS of her offspring: an increase in functional activity in the late prenatal and

early postnatal periods (–1–30 days) and a subsequent decrease (45–365 days) compared with the control group. Both phases are characterized by a decrease in resistance to extreme muscular loads, immobilization, as well as depletion of HHACS, which is most pronounced during neonatal period, puberty and 12 months of age.

Keywords: rats, hypoglycemia, hypothalamo-hypophyseal-adrenocortical system, adaptation, resistance to stress on offspring's

Для цитирования: Губарева Л. И. ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОГЛИКЕМИИ НА АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ И РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К СТРЕССУ У КРЫС. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2021;16(1):55-59.
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2021.16014>

For citation: Gubareva L. I. INFLUENCE OF PRENATAL HYPOGLYCEMIA ON THE ADAPTIVE POSSIBILITIES OF THE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSEAL-ADRENOCORTICAL SYSTEM AND RESISTANCE TO STRESS IN RATS. *Medical News of North Caucasus*. 2020;16(1):55-59. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2021.16014> (In Russ.)

11-ОКС	– 11-оксикортикостероиды	ГСД	– гестационный сахарный диабет
ГГЛКС	– гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальная система	ГЭ	– гипоталамический экстракт
ГИ	– гипоталамический инкубат	КЛ-активность	– кортиколибериновая активность
		СД	– сахарный диабет

Глюкоза является основным метаболическим субстратом для производства энергии в тканях. Наиболее существенные нарушения метаболизма глюкозы встречаются при метаболическом синдроме и сахарном диабете [1, 2]. Учитывая рост числа выявляемого сахарного диабета и его омоложение, нагрузка у акушеров, гинекологов и эндокринологов по сопровождению беременности у таких женщин и рожденных ими детей существенно увеличилась [3–5]. Кроме того, клиническая практика свидетельствует, что сахарный диабет у беременной женщины ставит под угрозу не только здоровье матери, но также может иметь серьезные последствия для будущего ребенка [6–8].

Одним из аспектов, на которые обращают внимание клиницисты, остается гипогликемия во время беременности [9, 10]. Существенную помощь в выявлении последствий гипогликемии матери на плод и развитие ребенка в постнатальном онтогенезе оказывают модельные эксперименты на животных. Учитывая тот факт, что ГГЛКС является одной из ведущих систем адаптации организма к факторам внешней и внутренней среды, представляет интерес изучение ее активности в ответ на пренатальную гипогликемию как у матери, так и у потомков в пре- и постнатальном онтогенезе, в том числе в условиях нарастающего числа психосоматических и эндокринных нарушений [7, 11].

Цель исследования – изучить в эксперименте влияние инсулиновой гипогликемии матери во время беременности на состояние и резервные возможности ГГЛКС у её потомков в различные периоды онтогенеза.

Материал и методы. Исследования выполнены на 1540 белых крысах линии F-344, из которых 395 крыс было использовано для биологического тестирования. Крысы содержались в виварии, в стандартных условиях при свободном доступе к воде и пище. Материнское поколение исследовали вне беременности и на 21-й день беременности. Общий контроль составили 24 intactных самки (I группа). Во II группу вошли 28 самок, которым вводили инсулин вне беременности. Физиологическое течение беременности оценивали на 90 самках, которые получали на 21-й день беременности эквивалентный объем физиологического раствора. Опытную группу составили

самки (n=120, IV группа), у которых моделировали инсулиновую гипогликемию в течение 21 дня беременности.

Гипогликемию у крыс материнского поколения вызывали ежедневным однократным внутримышечным введением инсулина (фирма «Галеника», ФРЮ) в дозе 1 МЕ/100 г массы тела. Потомков исследовали в основные «критические» периоды онтогенеза: 21-й день внутриутробного развития, 1–2, 7, 15–16 (реакция на звук – прозревание), 21, 30 (отъем от матери), 45, 60, 90-й дни постнатальной жизни, а также в возрасте 180, 365 дней.

Исследовали содержание глюкозы в крови, функциональное состояние ГГЛКС, а также ее реакцию на действие стрессоров. В качестве стрессоров использовали иммобилизацию в течение 1 часа и предельную мышечную нагрузку бегом на тредбане со скоростью 20 м/мин. Предельной продолжительностью считался бег до отказа, несмотря на электростимуляцию. Уровень глюкозы в крови определяли фотометрическим методом. О функциональной активности ГГЛКС судили по уровню 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) в плазме крови, продукции 11-ОКС надпочечниками *in vitro*, по содержанию кортикотропина в гипофизе, кортиколибериновой активности (КЛ-активность) гипоталамических экстрактов (ГЭ) и инкубатов (ГИ). КЛ-активность ГЭ и ГИ определяли методом биологического тестирования по Arimura, Saito, Shally (1967).

Содержание кортикотропина определяли по видоизмененной Ю. Б. Скебельской (1964) методике Батла и Ходжеса. Концентрацию 11-ОКС в плазме и инкубатах надпочечников определяли по методу Ю. А. Панкова и И. Я. Усватовой (1965). Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Microsoft Excel 2006 с использованием t-критерия Стьюдента: при $p \leq 0,05$ разницу между группами считали достоверной.

Результаты и обсуждение. Необходимо отметить, что у 90 самок, которым вводили физиологический раствор, родилось 333, а у 120 самок с моделированием гипогликемии – 310 особей.

Установлено, что введение инсулина небеременным крысам приводило к выраженной гипогликемии (рис. 1). Гипогликемия вызывала стимуляцию ГГЛКС, о чем свидетельствует прирост КЛ-активности ГЭ на 108 %, ГИ – на 70,5 %, концентрации 11-ОКС в кро-

Рис. 1. Функциональное состояние ГГАС самок крыс при инсулиновой гипогликемии вне и во время беременности:
* – различия достоверны по сравнению с контрольной группой;
– различия достоверны по сравнению с физиологической беременностью

ви на 67,6 %, продукции 11-ОКС надпочечниками *in vitro* – на 42,9 % ($p < 0,001$), а также увеличение массы гипофиза и надпочечников.

Физиологическая беременность сама по себе приводила к повышению базального уровня глюкозы в крови. Вместе с тем инсулиновая гипогликемия во время беременности способствовала повышению КЛ-активности ГЭ на 50,0 % и ГИ – на 23,6 % по сравнению с беременными самками контрольной группы ($p < 0,001$). Наблюдалось также резкое снижение содержания кортикотропина в гипофизе – на 69,6 % ($p < 0,001$), что сопровождалось увеличением содержания 11-ОКС в плазме крови и инкубатах надпочечников по сравнению с беременными самками, не получавшими инсулин. Рост функциональной активности коры надпочечников у самок опытной группы в период беременности подтверждает увеличение их массы ($37,6 \pm 0,8$ мг по сравнению с $33,0 \pm 0,8$ мг в контрольной группе, $p < 0,001$). В совокупности полученные данные свидетельствуют о развитии стрессорной реакции к концу беременности у крыс с эпизодической инсулиновой гипогликемией.

Гипогликемия матери во время беременности приводила к отклонениям в становлении и развитии ГГАС её потомков. У потомков контрольной группы развитие ГГАС протекало гетерохронно (рис. 2).

Максимальные показатели КЛ-активности ГЭ и ГИ, содержания кортикотропина в гипофизе, концентрации 11-ОКС в плазме крови отмечены в периоде полового созревания – 45–90 дней. У потомков опытной группы наблюдали двухфазную реакцию ГГАС в ходе онтогенеза. Первая фаза, длившаяся от 21-го дня пренатального онтогенеза до 45-го дня постнатального онтогенеза, характеризовалась значимым возрастанием активности ГГАС по сравнению с потомками контрольной группы. Вторая фаза – от 45-го дня до 365-го дня – отличалась более низкими по сравнению с контрольной группой величинами КЛ-активности ГЭ и ГИ, содержания кортикотропина в гипофизе, концентрации 11-ОКС в крови и их продукции надпочечниками *in vitro*. Особо низкой функциональная активность ГГАС потомков матерей, испытывавших эпизодическую инсулиновую гипогликемию, была в «критические» периоды постнатального онтогенеза – прозревания (17 дней), пубертата (45–60 дней).

В совокупности полученные данные дают основание полагать, что гипогликемия матери во время беременности стимулирует ГГАС еще пренатально. Столь раннее стимулирование гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы приводит в более поздние сроки онтогенеза к понижению ее функциональной активности.

Рис. 2. Функциональное состояние ГГАС потомков крыс от матерей, испытывавших гипогликемию во время беременности (* – различия достоверны по сравнению с контрольной группой)

Выявленная закономерность подтвердилась при применении иммобилизационного стресса. У потомков контрольной группы стресс приводил к повышению уровня 11-ОКС в плазме крови и инкубациях надпочечников во всех возрастных группах. При этом у потомков регистрировали значимое повышение КЛ-активности ГЭ и ГИ в 30, 45, 60 и 90 дней, а содержания кортикотропина в гипофизе – в 30, 60 и 90 дней ($p < 0,05$). У новорожденных крысят и 12-месячных потомков регистрировали снижение показателей функциональной активно-

сти гипоталамо-гипофизарного комплекса ($p < 0,05-0,001$), что может свидетельствовать об ограниченных резервных возможностях центрального и периферического звеньев ГГАС у крыс в раннем неонатальном и старческом периодах. Начиная с 30-дневного возраста у потомков контрольной группы наблюдали односторонний ответ со стороны всех звеньев ГГАС на воздействие иммобилизационного стресса, что свидетельствует об окончательном созревании прямых связей в ГГАС. При этом абсолютные величины прироста кортиколибериновой активности, кортикотропина в гипофизе и 11-ОКС в плазме крови у 30-дневных крысят были выше, чем в других возрастных группах. Стабильной реакцией на иммобилизационный стресс поддерживалась с 60-дневного возраста. Таким образом, при физиологическом течении беременности окончательное созревание ГГАС наступало к 60-дневному возрасту, то есть к концу пубертатного периода онтогенеза.

У потомков опытной группы иммобилизационный стресс приводил к менее выраженному приросту КЛ-активности ГЭ во все исследуемые периоды онтогенеза, к отсутствию прироста кортикотропина в гипофизе в критические периоды онтогенеза – 45 дней (пубертатный период) и 90 дней (период ранней половозрелости), а также к снижению прироста 11-ОКС в крови в 60 и 90 дней, а в инкубациях надпочечников – в 30, 60 и 90 дней. Стоит отметить, что в период отъема крысят от матери (30 дней) и в пубертатный период (45 дней) уровень 11-ОКС в плазме крови в ответ на иммобилизационный стресс был значительно ниже уровня физиологического покоя ($p < 0,05$), что указывает на ограниченные резервные возможности не только гипоталамо-гипофизарного комплекса, но и периферического звена ГГАС – коры надпочечников. Следовательно, раннее (пренатальное) активирование ведущей адаптационной системы – ГГАС у крыс, испытывавших эпизодическую инсулиновую гипогликемию в течение беременности, сочетается с меньшими ее резервными возможностями во все сроки постнатального онтогенеза.

Данный вывод подтвердился в эксперименте с предельной физической нагрузкой. Длительность бега на тредбане у потомков контрольной группы варьировала от 190 до 254 минут у самцов и от 155 до 223 минут у самок. Адаптивные возможности были

наиболее высоки у половозрелых потомков, о чем свидетельствовала максимальная продолжительность бега на тредбане. У потомков опытной группы длительность бега на тредбане достоверно уменьшалась начиная с пубертата (45–60 дней) и составляла 62–72 % от длительности бега потомков контрольной группы, что свидетельствует об уменьшении адаптационных возможностей к физической нагрузке. Это сочеталось с более низкими показателями функционального состояния ГГКС.

Экстраполируя результаты исследования на человека, следует подчеркнуть, что гипогликемия матери во время беременности влияет не только на саму мать, но и на плод, и врач должен знать об осложнениях, которые могут возникнуть из-за плохого контроля гликемии во время беременности. В частности, было показано, что прегестационный СД и ГСД отрицательно влияют на продолжительность внимания и двигательные функции у детей, способствуют развитию пороков сердечно-сосудистой, мочеполовой, центральной нервной систем [7, 11]. Поэтому дородовой скрининг с целью достижения жесткого гликемического контроля имеет важное значение для минимизации неблагоприятных исходов [12].

Заключение. Физиологическая беременность у крыс сопровождается повышением функциональной активности ГГКС, а её сочетание с инсулиновой гипогликемией вызывает стрессовое активирование ГГКС, выражающееся в повышении активности всех её звеньев по сравнению с физиологической беременностью.

Литература/References

1. Kim S.-H. Maturity-Onset Diabetes of the Young: What Do Clinicians Need to Know? *Diabet. Metab. J.* 2015;39(6):468-477. <https://doi.org/10.4093/dmj.2015.39.6.468>
2. Güemes M., Rahman S. A., Hussain K. What is a normal blood glucose? *Arch. Dis. Childhood.* 2016;101(6):569-574. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2015-308336>
3. Lowe W. L., Karban J. Genetics, genomics and metabolomics: new insights into maternal metabolism during pregnancy. *Diabet. Med.* 2014;31(3):254-262. <https://doi.org/10.1111/dme.12352>
4. Nayak A. U., Vijay A. M. A., Indusekhar R., Kalidindi S., Katreddy V. M., Varadhan L. Association of hypoglycaemia in screening oral glucose tolerance test in pregnancy with low birth weight fetus. *World J. Diabet.* 2019;10(5):304-310. <https://doi.org/10.4239/wjd.v10.i5.304>
5. Polsky S., Garcetti R., Pyle L., Joshee P., Demmitt J. K., Snell-Bergeon J. K. Continuous glucose monitor use with and without remote monitoring in pregnant women with type 1 diabetes: A pilot study. *PLoS One.* 2020;15(4):e0230476. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230476>
6. Kallem V. R., Pandita A., Pillai A. Infant of diabetic mother: what one needs to know? *J. Maternal-Fetal & Neonatal Med.* 2020;33(3):482-492. <https://doi.org/10.1080/14767058.2018.1494710>
7. Ornoy A., Ratzon N., Greenbaum C., Wolf A., Dulitzky M. School-age children born to diabetic mothers and to mothers with gestational diabetes exhibit a high rate of inattention and fine and gross motor impairment. *J. Ped. Endocrinol. Metab.* 2001;14(Suppl.1):681-689. <https://doi.org/10.1515/jpem.2001.14.s1.681>

Эпизодическая гипогликемия матери во время беременности приводит к двухфазной реакции ГГКС её потомства. Первая фаза, охватывающая поздний пренатальный и ранний постнатальный периоды, характеризуется повышением активности ГГКС по сравнению с контролем. Во вторую фазу (с 45-го до 365-го дня) наблюдали снижение всех показателей функции ГГКС ниже контрольных величин. Обе фазы характеризуются снижением выносливости к действию стрессоров и истощением ГГКС, наиболее выраженным в период новорожденности, полового созревания и в 12-месячном возрасте.

Информированное согласие: Экспериментальное исследование проведено в полном соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики (изложенными в национальном стандарте «Принципы надлежащей лабораторной практики» ГОСТ Р 53434–2009), с соблюдением Международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей (Страсбург, 1986), в соответствии с Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Россия, 2011), правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003) и положительным заключением этического комитета.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

8. Garey C., Lynn J., Floreen Sabino A., Hughes A., McAuliffe-Fogarty A. Preeclampsia and other pregnancy outcomes in nulliparous women with type 1 diabetes: a retrospective survey. *Gynecol. Endocr.* 2020;36:1-4. <https://doi.org/10.1080/09513590.2020.1749998>
9. Perea V., Bertran B., Bellart J., Orois A., Giménez M. [et al.]. Impaired awareness of hypoglycaemia: A new risk factor for adverse pregnancy outcomes in type 1 diabetes. *Diabet. Metab. Res. Rev.* 2019;35(7):e3176. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3176>
10. Bayraktar B., Balıkoğlu M., Kanmaz A. G. Pregnancy outcomes of women with hypoglycemia in the oral glucose tolerance test. *J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod.* 2020;49(4):101703. <https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2020.101703>
11. Shorer D. T., Wainstock T., Sheiner E., Landau D., Pariente G. Long-term endocrine outcome of small for gestational age infants born to mothers with and without gestational diabetes mellitus. *Gynecol. Endocrin.* 2019;35(11):1003-1009. <https://doi.org/10.1080/09513590.2019.1616174>
12. Advani A. Positioning time in range in diabetes management. *Diabetologia.* 2020;63(2):242-252. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-05027-0>

Сведения об авторе

Губарева Любовь Ивановна, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры анатомии и физиологии, руководитель лаборатории «Экологическая психофизиология»; тел.: 89624992200; e-mail: l-gubareva@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6387-2031>