

ГОРМОНАЛЬНЫЙ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СТАТУС У САМЦОВ КРЫС С МОДЕЛЬЮ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА, ВЫЗВАННОЙ ПРЕРЫВАНИЕМ ГРУДНОГО ВСКАРМЛИВАНИЯ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

А.О. Шпаков*, В.М. Бондарева, К.В. Деркач

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223, Российская Федерация, Санкт-Петербург, пр. Тореца, 44

Ограничение грудного вскармливания в раннем онтогенезе может стать причиной метаболического синдрома (МС) во взрослом возрасте. Так, непродолжительное лишение крысят грудного вскармливания в раннем постнатальном периоде приводит к МС в возрасте 4–6 мес. Однако эта модель МС требует оптимизации и детального изучения метаболических и гормональных показателей у взрослых животных. Цель работы состояла в изучении этих показателей у взрослых самцов крыс, лишенных грудного молока в возрасте 19–21 дней, что достигалось обработкой лактирующих самок бромокриптином. Взрослые самцы крыс имели повышенную массу тела и жировой ткани, нарушенную толерантность к глюкозе, инсулиновую резистентность, гиперлептемию. У них были снижены уровни тестостерона, свободного тироксина и общего трийодтиронина при повышении уровня тиреотропного гормона. Тем самым, краткосрочное ограничение грудного вскармливания приводит у взрослых крыс к развитию МС и нарушению эндокринной регуляции.

Ключевые слова: метаболический синдром, грудное вскармливание, инсулиновая резистентность, андрогенный дефицит, тиреоидная система

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: грант на осуществление государственной поддержки НЦМУ «Павловский центр» (№ 075-15-2020-916).

Для цитирования: Шпаков А.О., Бондарева В.М., Деркач К.В. Гормональный и метаболический статус у самцов крыс с моделью метаболического синдрома, вызванной прерыванием грудного вскармливания в раннем постнатальном периоде. *Биомедицина*. 2022;18(3):67–71. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-67-71>

Поступила 01.04.2022

Принята после доработки 13.04.2022

Опубликована 10.09.2022

HORMONAL AND METABOLIC STATUS OF MALE RATS WITH METABOLIC SYNDROME MODEL INDUCED BY INTERRUPTION OF BREASTFEEDING IN THE EARLY POSTNATAL PERIOD

Alexander O. Shpakov*, Vera M. Bondareva, Kira V. Derkach

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences
194223, Russian Federation, St.-Petersburg, Thoreza Ave., 44

Restriction of breastfeeding in the early ontogenesis can cause metabolic syndrome (MS) in adulthood. A short-term deprivation of rat pups from breastfeeding in the early postnatal period leads to MS at the age of 4–6 months. However, this neonatal MS model requires optimization and a detailed study into the metabolic and hormonal parameters of adult animals. The aim of the work was to study these parameters

in adult male rats deprived of breast milk at the age of 19–21 days, which was achieved by treating lactating females with bromocriptine. Adult male rats showed an increased body weight and adipose tissue, impaired glucose tolerance, insulin resistance, and hyperleptinemia. These animals had reduced levels of testosterone, free thyroxine, and total triiodothyronine, with an increase in the thyroid-stimulating hormone. Thus, a short-term deprivation of breastfeeding in adult rats leads to the development of MS and endocrine dysregulations.

Keywords: metabolic syndrome, breastfeeding, insulin resistance, androgen deficiency, thyroid system

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: grant for the implementation of state support to the NCWS “Pavlov Center” (No. 075-15-2020-916).

For citation: Shpakov A.O., Bondareva V.M., Derkach K.V. Hormonal and Metabolic Status of Male Rats with Metabolic Syndrome Model Induced by Interruption of Breastfeeding in the Early Postnatal Period. *Journal Biomed.* 2022;18(3):67–71. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-67-71>

Submitted 01.04.2022

Revised 13.04.2022

Published 10.09.2022

Введение

Широкое распространение метаболического синдрома (МС) обусловлено множеством факторов, среди которых несбалансированная диета, малоподвижный образ жизни, вредные привычки. Однако немалую роль в его эпидемиологии может играть ограничение или отсутствие грудного вскармливания в раннем онтогенезе [3, 4]. Возникающие при этом функциональные и метаболические нарушения в дальнейшем могут привести к ожирению, МС и сахарному диабету. Для изучения вклада этих нарушений в этиологию и патогенез МС, а также для разработки подходов, способных предотвратить или смягчить развитие запрограммированного в раннем онтогенезе МС, необходимы релевантные модели этого заболевания на животных. Одной из таких моделей является индукция МС у потомства вследствие подавления лактации у кормящих самок крыс [2]. Несмотря на значительный прогресс, достигнутый при разработке этой модели, она требует дальнейшей оптимизации и более детального изучения нарушений метаболических и гормональных показателей у взрослых животных, вызванных ограничением грудного вскармливания [3, 4].

Цель работы состояла в изучении толерантности к глюкозе, уровней инсулина, лептина, лютеинизирующего (ЛГ) и тиреотропного гормонов (ТТГ), тестостерона, тиреоидных гормонов и показателей липидного обмена у взрослых самцов крыс, лишённых грудного вскармливания в раннем постнатальном периоде (19–21-е дни) путём обработки кормящих самок D2-агонистом бромокриптином, ингибирующим лактацию.

Материалы и методы

Для исследований использовали крыс Wistar, которых содержали в стандартных условиях вивария и на стандартном рационе. Все процедуры по уходу и использованию животных осуществляли в соответствии с требованиями Этического комитета ИЭФБ РАН, European Communities Council Directive 1986 (86/609/EEC) и «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». Запрограммированный в раннем онтогенезе МС вызывали прекращением грудного вскармливания крысят в течение 19–21 дней после рождения, для чего лактирующим самкам в эти дни ежедневно перорально давали по 1 мг бромокриптин-мезилата. На 22-й день крысят отнимали от самок и переводили на сухой корм. Крысята, рождённые в те

же сроки, но от самок с нормальной лактацией, служили контролем. Предварительный мониторинг массы тела, уровней глюкозы и инсулина и толерантности к глюкозе у самцов крыс контрольной и МС групп (в каждой $n=12$) проводили через 6 мес. Через 10 мес. проводили изучение широкого спектра метаболических и гормональных показателей. Толерантность к глюкозе оценивали в глюкозотолерантном тесте (ГТТ), для чего крысам вводили глюкозу (2 г/кг в/б), отбирая кровь до и через 15, 30, 60 и 120 мин после глюкозной нагрузки и определяя в ней уровни глюкозы. Уровни инсулина и лептина определяли до и через 120 мин. Образцы крови забирали из хвостовой вены под местным наркозом (2–4 мг лидокаина/кг). Через 5 дней после ГТТ забирали кровь для оценки уровней ТТГ, тиреоидных гормонов и липидов, и еще через 3 дня оценивали уровни ЛГ и тестостерона, причём тестостерон измеряли в течение 5 ч — в 10⁰⁰, 11⁰⁰, 13⁰⁰ и 15⁰⁰, рассчитывая значение $AUC_{10^{00}-15^{00}}$ (площадь под кривой «концентрация тестостерона, нМ – время, ч»), как описано ранее [1]. Для определения уровней триглицеридов и общего холестерина использовали тест-полоски «Triglycerides multiCare-in» и «Cholesterol multiCare-in» («Biochemical Systems Int.», Италия). Уровни инсулина, лептина, ЛГ и ТТГ измеряли с помощью наборов «Rat Insulin ELISA» («Mercodia», Швеция), «ELISA for Leptin, Rat», «ELISA for LH, Rat» («Cloud-Clone Corp.», США) и «ELISA for TSH, Rat» («Cusabio Biotech Co., Ltd.», Китай). Уровни тестостерона, свободного (fT4) и общего тироксина (tT4), свободного (fT3) и общего трийодтиронина (tT3) определяли с помощью наборов фирмы «Иммунотех» (Россия).

Статистический анализ осуществляли с помощью программы «Microsoft Office Excel 2007» (Microsoft Corp., США), результаты представляли как $M \pm SEM$. Для сравнения двух выборок с нормальным распределением, которое оценивали с помощью

критерия Шапиро–Уилка, использовали t-критерий Стьюдента, достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Мониторинг массы тела показал, что в возрасте 6 мес. самцы крыс группы МС имели небольшое, но значимое увеличение массы тела и повышенный индекс инсулиновой резистентности (ИР), оцениваемый как произведение концентраций инсулина и глюкозы натощак (данные не представлены). Через 10 мес. в группе МС отмечали нарастание метаболических расстройств, на что указывает повышение в сравнении с контролем массы тела и абдоминального жира, концентрации общего холестерина, триглицеридов, уровней глюкозы, инсулина и лептина через 120 мин после глюкозной нагрузки (в случае лептина также его базального уровня), индекса ИР и значения AUC для глюкозной кривой в ГТТ (табл.), что свидетельствует о развитии у самцов крыс характерных для МС ожирения, нарушенной толерантности к глюкозе, ИР и дислипидемии. Наши результаты согласуются с данными других авторов, которые, используя различные модели, показали, что подавление лактации у кормящих самок и временное лишение или ограничение грудного вскармливания у детёнышей в раннем постнатальном периоде приводит к МС-подобным состояниям во взрослом возрасте [2–4].

Изучение гормонального статуса у крыс МС-группы показало, что уровни тестостерона, оцениваемые по значениям AUC (интегрированной площади под концентрационной кривой этого гормона в течение 5 ч), снижались в сравнении с контролем. Концентрация ЛГ в группе МС, хотя и имела тенденцию к снижению, но существенно не отличалась от контроля (табл.). Это указывает на развитие умеренного андрогенного дефицита у взрослых самцов крыс

Таблица. Метаболические и гормональные показатели у 10-месячных самцов крыс с МС, вызванным лишением их грудного вскармливания в 19–21-е дни после рождения, $M \pm SEM$, $n=12$

Table. Metabolic and hormonal parameters in 10-month-old male rats with MS caused by deprivation of their breastfeeding at 19–21 days after birth, $M \pm SEM$, $n=12$

Показатель	Контроль	МС
Масса тела, г	398±9	465±13*
Масса абдоминального жира, г	4,78±0,18	6,50±0,28*
Триглицериды, мМ	1,93±0,16	2,73±0,22*
Общий холестерин, мМ	4,24±0,15	5,73±0,24*
Глюкоза натощак, мМ	3,77±0,13	4,38±0,29
Глюкоза через 120 мин (ГГТ), мМ	4,38±0,17	5,46±0,35*
Инсулин натощак, нг/мл	0,50±0,04	0,63±0,07
Инсулин через 120 мин (ГГТ), нг/мл	0,69±0,08	1,43±0,20*
Лептин натощак, нг/мл	1,02±0,13	1,94±0,27*
Лептин через 120 мин (ГГТ), нг/мл	1,25±0,15	2,66±0,38*
Индекс ИР, усл. ед.	1,85±0,14	2,69±0,34*
Глюкоза, AUC _{0–120} , усл. ед.	965±53	1353±93*
Тестостерон, AUC _{10.00–15.00} , усл. ед.	74,9±5,0	55,8±5,1*
fT4, пМ	27,7±0,8	24,2±0,8*
tT4, нМ	91,7±2,3	83,5±3,2
fT3, пМ	3,77±0,11	3,32±0,19
tT3, нМ	2,83±0,08	2,33±0,09*
ЛГ, нг/мл	1,82±0,16	1,55±0,14
ТТГ, мкЕД/мл	0,51±0,10	0,91±0,15*

Примечание: * — различия между «МС» и «Контроль» значимы при $p<0,05$.

Note: * — differences between “MS” and “Control” are significant at $p<0.05$.

с запрограммированным в раннем онтогенезе МС. В МС-группе снижались уровни fT4 и tT3 и повышалась концентрация ТТГ (табл.), что свидетельствует о нарушении выработки тиреоидных гормонов щитовидной железой. Это может происходить либо вследствие развития резистентности к ТТГ, либо в результате снижения функциональной активности ферментов, ответственных за синтез тиреоидных гормонов. В пользу ТТГ-резистентности свидетельствуют данные о повышении в два раза соотношения ТТГ/fT4 в группе МС в сравнении с контролем.

Выводы

Лишение самцов крыс в ранний постнатальный период (19–21-е дни) грудного вскармливания по достижении ими возраста 10 мес. не только приводит к метаболическим расстройствам, характерным для МС, но и влияет на гормональный статус эндокринной системы, снижая уровни тестостерона и тиреоидных гормонов (fT4 и tT3) и повышая уровень ТТГ. Предложенная модель может быть использована для изучения этиологии и патогенеза МС, а также при разработке подходов для его фармакологической коррекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Derkach K.V., Bakhtyukov A.A., Romanova I.V., Zorina I.I., Bayunova L.V., Bondareva V.M., Morina I.Yu., Kumar Roy V., Shpakov A.O. The effect of metformin treatment on the basal and gonadotropin-stimulated steroidogenesis in male rats with type 2 diabetes mellitus. *Andrologia*. 2020;52(11):e13816. DOI: 10.1111/and.13816.
2. Lima Nda S., de Moura E.G., Passos M.C., Nogueira Neto F.J., Reis A.M., de Oliveira E., Lisboa P.C. Early weaning causes undernutrition for a short period and programmes some metabolic syndrome components and leptin resistance in adult rat offspring. *Br. J. Nutr.* 2011;105(9):1405–1413. DOI: 10.1017/S0007114510005064.
3. Peixoto T.C., Pietrobon C.B., Bertasso I.M., Caramez F.A.H., Calvino C., Santos T.R., Oliveira E., Moura E.G., Lisboa P.C. Early weaning alters the thermogenic capacity of brown adipose tissue in adult male and female rats. *Eur. J. Nutr.* 2020;59(5):2207–2218. DOI: 10.1007/s00394-019-02071-9.
4. Pietrobon C.B., Bertasso I.M., Silva B.S., Peixoto-Silva N., Oliveira E., Moura E.G., Lisboa P.C. Body adiposity and endocrine profile of female Wistar rats of distinct ages that were early weaned. *Horm. Metab. Res.* 2020;52(1):58–66. DOI: 10.1055/a-0966-8784.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шпаков Александр Олегович*, д.б.н., ФГБУН
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;
e-mail: alex_shpakov@list.ru

Alexander O. Shpakov*, Dr. Sci. (Biol.), Sechenov
Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of Russian Academy of Sciences;
e-mail: alex_shpakov@list.ru

Бондарева Вера Михайловна, к.б.н., ФГБУН
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;
e-mail: bondver@mail.ru

Vera M. Bondareva, Cand. Sci. (Biol.), Sechenov
Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of Russian Academy of Sciences;
e-mail: bondver@mail.ru

Деркач Кира Викторовна, к.б.н., ФГБУН
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН;
e-mail: derkach_k@list.ru

Kira V. Derkach, Cand. Sci. (Biol.), Sechenov
Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of Russian Academy of Sciences;
e-mail: derkach_k@list.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author