

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В РЕПРОДУКТИВНЫХ ТКАНЯХ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ДИАБЕТОМ 1-ГО ТИПА

© А. О. Шпаков,¹ В. М. Бондарева, О. В. Чистякова

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург;

¹ *электронный адрес: alex_shpakov@list.ru*

Сахарный диабет (СД) 1-го типа ведет к многочисленным нарушениям в репродуктивной системе мужчин и женщин. Ранее нами было показано, что одной из главных причин развития осложнений при СД является изменение чувствительности аденилатциклазной сигнальной системы (АЦСС) к гормонам. Цель работы состояла в выявлении нарушений в регулируемой гормонами АЦСС в репродуктивных тканях крыс с экспериментальным СД 1-го типа (ЭСД1), вызванным введением стрептозотоцина. Показано, что в тестикулах самцов крыс с ЭСД1 продолжительностью 5 сут отчетливо снижаются стимулирующие аденилатциклазу (АЦ) и ГТФ-связывание G-белков эффекты хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) и PACAP-38. В матке самок крыс с ЭСД1 в значительной степени снижаются эффекты релаксина, PACAP-38 и биогенных аминов, в яичниках — только ХГЧ. Во всех изученных тканях крыс с ЭСД1 наблюдалось ослабление ингибирующего влияния соматостатина на активность АЦСС, а в матке также ослаблялись ингибирующие эффекты серотонина и адреналина. Таким образом, в репродуктивных тканях крыс с ЭСД1 снижались регуляторные эффекты гормонов на активность АЦСС, в наибольшей степени — эффекты ХГЧ и гормонов, ингибиторов АЦ. Снижение чувствительности АЦСС к гормонам при ЭСД1, как мы полагаем, лежит в основе развития патологических изменений в репродуктивной системе диабетических крыс в условиях гипергликемии и инсулиновой недостаточности, характерных для СД 1-го типа.

Ключевые слова: аденилатциклаза, G-белок, диабет, матка, соматостатин, тестикулы, хорионический гонадотропин, яичники, PACAP.

Принятые сокращения: АЦ — аденилатциклаза, АЦСС — аденилатциклазная сигнальная система, СД — сахарный диабет, ХГЧ — хорионический гонадотропин человека, ЭСД1 — экспериментальный сахарный диабет 1-го типа, G_s- и G_i-белки — G-белки стимулирующего и ингибирующего типов соответственно, GppNHP — β, γ-имидогуанозин-5'-трифосфат, PACAP — Pituitary Adenylyl Cyclase-Activating Polypeptide.

В настоящее время в мире насчитывается около 230 млн больных сахарным диабетом (СД), из которых около 10 % составляют больные СД 1-го типа. Несмотря на значительный прогресс, достигнутый в изучении СД, этиология и патофизиология этого заболевания по-прежнему мало изучены. При СД 1-го типа, для которого характерны инсулиновая недостаточность и выраженная гипергликемия, в наибольшей степени поражаются сердечно-сосудистая, нервная и выделительная системы. Однако в настоящее время все больше внимания уделяется нарушениям, возникающим в репродуктивной системе. У мужчин с СД 1-го типа развиваются андрогенная недостаточность и гипогонадизм, у женщин — гиперандрогения, диспитуитаризм и синдром поликистозных яичников, что в дальнейшем часто приводит к бесплодию. Результаты, полученные нами (Шпаков и др., 2005а, 2007а; Shpakov et al., 2006) и другими авторами (Gawler et al., 1987; Weber, MacLeod, 1997; Hashim et al., 2002, 2004), свидетельствуют о том, что одной из ключевых причин осложнений при СД 1-го типа являются нарушения в гормональных сигнальных системах, в том числе в аденилатциклазной сигна-

льной системе (АЦСС). Так, в мышечных тканях и мозге крыс с СД 1-го типа нами было выявлено снижение чувствительности АЦСС к пептидным гормонам и биогенным аминам. При экспериментальном неонатальном СД 2-го типа в мозге, миокарде и скелетных мышцах крыс также наблюдалось ослабление передачи гормональных сигналов через АЦСС (Шпаков и др., 2006, 2007а, 2007б).

Следует, однако, отметить, что общая картина нарушений, возникающих при СД 1-го типа в функционировании чувствительной к гормонам АЦСС, в настоящее время отсутствует, а лежащие в их основе молекулярные механизмы мало изучены. Это в полной мере относится к АЦСС в тканях репродуктивной системы в условиях СД 1-го типа. Внимание большинства исследователей сконцентрировано на определении уровня стероидных гормонов и гонадотропинов в организме страдающих СД 1-го типа людей, изучении секреции и метаболизма гормонов, а также на некоторых конечных их эффектах на клетки и ткани (Sudha et al., 2000; Tanaka et al., 2001; Ballester et al., 2004; Codner et al., 2005; Bhatia et al., 2006). В то же время процессы передачи гормональных сигналов через АЦСС

и другие сигнальные системы в тканях репродуктивной системы остаются неизученными.

Цель работы состояла в идентификации нарушений в гормоначувствительной АЦСС в тестикулярной ткани самцов крыс, а также в яичниках и матке самок крыс с экспериментальным СД 1-го типа (ЭСД1), который был вызван введением животным стрептозотоцина. Изучали влияние гормонов полипептидной природы — хорионического гонадотропина человека (ХГЧ), РАСАР-38 (Pituitary Adenylyl Cyclase-Activating Polypeptide, удлиненная форма гормона, содержащая 38 аминокислотных остатков), релаксина и соматостатина, а также биогенных аминов — серотонина, адреналина и β -агониста изопротеренола, которые в репродуктивных тканях крыс влияют на активность фермента аденилатциклазы (АЦ), связываясь с рецепторами, которые функционально сопряжены с G-белками стимулирующего типа (G_s -белками) (ХГЧ, РАСАР-38, релаксин, изопротеренол), G-белками ингибирующего типа (G_i -белками) (соматостатин) или с обоими типами G-белков (серотонин, адреналин) (Hughes et al., 1997; Krantic, Benahmed, 2000; Li, Arimura, 2003; Costagliola et al., 2005; Shpakov et al., 2005; Vaccari et al., 2006).

Материал и методика

Для исследования были взяты две группы крыс линии Wistar с ЭСД1 — самцы ($n = 8$, масса тела 270 ± 40 г) и самки ($n = 11$, масса тела 265 ± 45 г). Их сравнивали с двумя группами контрольных животных — самцов ($n = 12$, масса тела 295 ± 30 г) и самок ($n = 12$, масса тела 280 ± 40 г). ЭСД1 вызывали введением стрептозотоцина (Sigma, США) в дозе 65 мг на 1 кг массы животного (Hemmings, Spafford, 2000). Животных забивали через 5 сут после введения стрептозотоцина. Уровень глюкозы в крови крыс с ЭСД1 был сильно повышен и составлял 21.1 ± 3.6 (самцы) и 23.8 ± 4.2 (самки) мМ, у контрольных животных он был в пределах нормы: 5.1 ± 1.2 (самцы) и 4.9 ± 1.1 (самки) мМ. У всех диабетических животных наблюдалась отчетливо выраженная глюкозурия.

В работе использовали гормоны — ХГЧ, соматостатин, серотонин, адреналин, изопротеренол (Sigma, США), РАСАР-38 (Calbiochem, Англия). Релаксин был любезно предоставлен проф. О. Д. Sherwood (США). Другие реактивы фирм Sigma (США) и Reanal (Венгрия). Для определения активности АЦ использовали $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{АТФ}$ (30 Ки/ммоль), для определения ГТФ-связывания — β , γ -имидо[8- ^3H]-гуанозин-5'-трифосфат ([8- ^3H]GppNHp) (5 Ки/мМ) (Amersham, Англия). Для блокирования передачи гормонального сигнала через G_i -белки применяли пептид 346—355 $G\alpha_{i2}$, синтез которого был описан ранее (Шпаков и др., 2004).

Частично очищенные фракции плазматических мембран тестикул, яичников и матки крыс получали следующим образом. Измельченные ткани гомогенизировали на холоде в 40 мМ Tris-HCl-буфере, рН 7.5, содержащем 5 мМ MgCl_2 и 0.32 М сахарозу (буфер А). Гомогенат центрифугировали (1500 г, 10 мин), полученный супернатант центрифугировали при 20 000 г в течение 30 мин. Осадок ресуспендировали в буфере А (без сахарозы) и повторно центрифугировали в том же режиме. Полученный осадок, содержащий плазматические мембраны, ресуспендировали в буфере А (без сахарозы) и использовали для экспериментов.

Определение активности АЦ и ГТФ-связывания G-белков проводили, как описано ранее (Шпаков и др., 2005; Shpakov et al., 2006). Активность АЦ оценивали по количеству цАМФ, который получался в результате ферментативной реакции. Специфическое ГТФ-связывание определяли как разность между связыванием меченого [8- ^3H]Gpp[NH]p в пробе в отсутствие и в присутствии 10 мМ ГТФ.

Статистический анализ данных проводили с использованием программы «ANOVA». Каждый эксперимент был выполнен трехкратно. Данные представлены в виде $M \pm m$ нескольких независимых экспериментов. Различия оценивали как достоверные при $p < 0.05$.

Результаты

Базальная активность АЦ в тестикулах, яичниках и матке контрольных крыс составила 99 ± 4 , 71 ± 5 и 135 ± 10 пмоль цАМФ за мин на 1 мг мембранного белка. В условиях ЭСД1 она во всех тканях снижалась и составила 73 ± 7 , 58 ± 8 и 107 ± 9 пмоль цАМФ за мин на 1 мг мембранного белка соответственно. Базальный уровень ГТФ-связывания G-белков в тестикулах, яичниках и матке контрольных крыс составил 1.37 ± 0.11 , 1.25 ± 0.10 и 2.04 ± 0.15 пмоль [8- ^3H]GppNHp на 1 мг мембранного белка. У диабетических животных он был ниже — 1.02 ± 0.14 , 0.96 ± 0.08 и 1.49 ± 0.16 пмоль [8- ^3H]GppNHp на 1 мг мембранного белка.

Исследование регуляторных эффектов гормонов, которые активируют рецепторы, стимулирующим способом сопряженные с АЦ, в репродуктивных тканях крыс с ЭСД1 привело к следующим результатам. В тестикулах самцов контрольных крыс все изученные гормоны, активаторы АЦ, стимулировали активность фермента и ГТФ-связывание G-белков (рис. 1, 2). У крыс с ЭСД1 стимулирующие АЦ эффекты ХГЧ и РАСАР-38 в значительной степени снижались и составили 39 и 48 % от таковых у контрольных животных, в то время как стимулирующие эффекты других гормонов менялись не столь существенно (рис. 1). Сходным образом при диабете снижалась стимуляция гормонами ГТФ-связывания. Стимулирующий эффект ХГЧ и РАСАР-38 снижался более чем в 2 раза, в то время как эффекты других гормонов — только на 11—28 % от их величины в контроле (рис. 2).

В яичниках самок контрольных крыс наиболее эффективными активаторами АЦСС были ХГЧ и РАСАР-38, в то время как в матке все изученные гормоны, за исключением РАСАР-38, отчетливо стимулировали АЦ и ГТФ-связывание (рис. 1, 2). В яичниках крыс с ЭСД1 стимулирующие эффекты ХГЧ на АЦ и ГТФ-связывание снижались в 2.5 раза, в то время как соответствующие эффекты РАСАР-38 менялись слабо и составили 84 и 77 % от таковых в контроле. В матке диабетических крыс в наибольшей степени ослабевали стимулирующие эффекты релаксина, РАСАР-38 и биогенных аминов. Так, стимулирующие эффекты релаксина на активность АЦ и ГТФ-связывание составили 48 и 54 % от таковых в контроле, а соответствующие эффекты серотонина — 61 и 43 % (рис. 1, 2). В то же время чувствительность АЦСС к ХГЧ в матке существенно не изменилась, что отличает ее от тестикул и яичников, где в наибольшей степени ослаблялись эффекты ХГЧ, а эффекты биогенных аминов и релаксина, напротив, снижались незначительно.

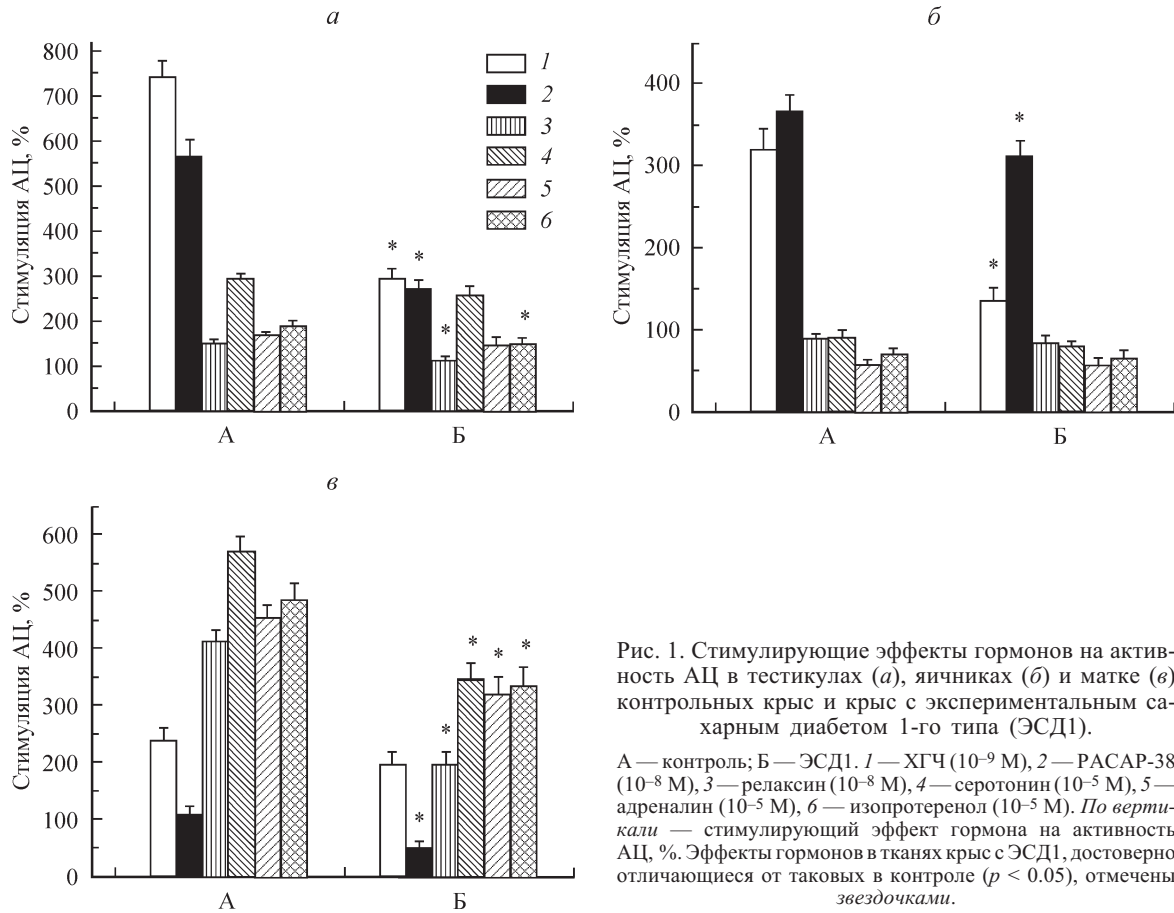


Рис. 1. Стимулирующие эффекты гормонов на активность АЦ в тестикулах (а), яичниках (б) и матке (в) контрольных крыс и крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа (ЭСД1).

А — контроль; Б — ЭСД1. 1 — ХГЧ (10^{-9} М), 2 — РАСАР-38 (10^{-8} М), 3 — релаксин (10^{-8} М), 4 — серотонин (10^{-5} М), 5 — адреналин (10^{-5} М), 6 — изопротеренол (10^{-5} М). По вертикали — стимулирующий эффект гормона на активность АЦ, %. Эффекты гормонов в тканях крыс с ЭСД1, достоверно отличающиеся от таковых в контроле ($p < 0.05$), отмечены звездочками.

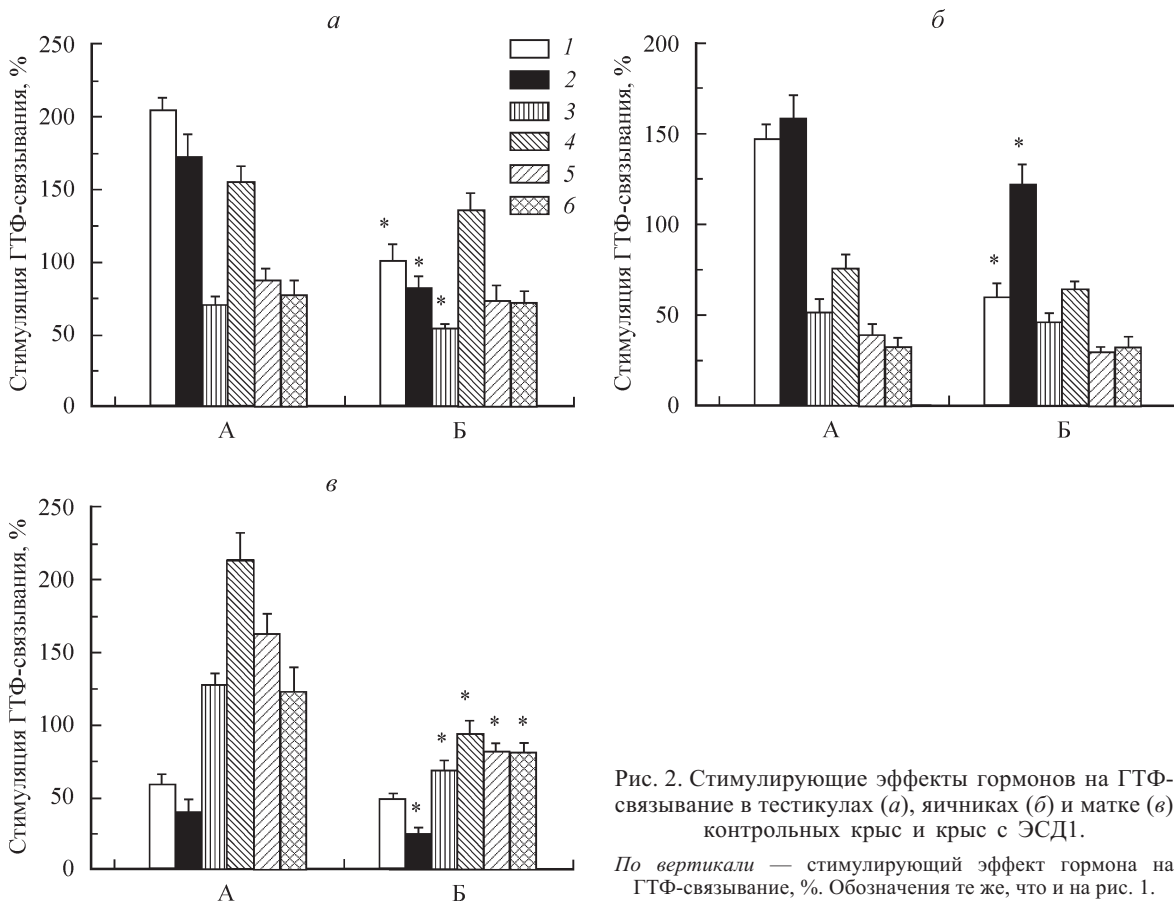


Рис. 2. Стимулирующие эффекты гормонов на ГТФ-связывание в тестикулах (а), яичниках (б) и матке (в) контрольных крыс и крыс с ЭСД1.

По вертикали — стимулирующий эффект гормона на ГТФ-связывание, %. Обозначения те же, что и на рис. 1.

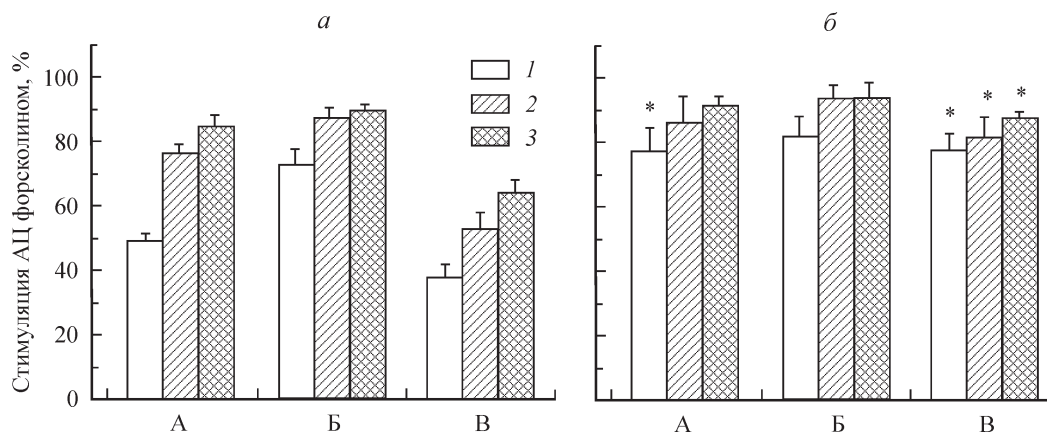


Рис. 3. Влияние гормонов на стимулированную форсколином активность АЦ в репродуктивных тканях контрольных животных (а) и крыс с ЭСД1 (б).

А — тестикулы; Б — яичники; В — матка. 1 — соматостатин (10^{-7} М), 2 — серотонин (10^{-5} М), 3 — адреналин (10^{-5} М).

По вертикали — стимулирующий эффект 10^{-5} М форсколина на активность АЦ (в отсутствие гормона принят за 100 %). Эффекты гормонов в тканях крыс с ЭСД1, достоверно отличающихся от таковых в контроле ($p < 0.05$), отмечены звездочками.

Для изучения функционального состояния ингибирующих АЦ сигнальных путей в репродуктивных тканях диабетических крыс были выбраны соматостатин, серотонин и адреналин, которые активируют рецепторы, сопряженные с G_i -белками. Ингибирующий эффект гормонов оценивали по их влиянию на активность АЦ, предварительно стимулированную дитерпеном форсколином (10^{-5} М). У контрольных крыс во всех тканях отмечали ингибирование соматостатином активности АЦ, которое было наиболее выражено в тестикулах и матке. В условиях ЭСД1 ингибирующие АЦ эффекты соматостатина были подавлены (рис. 3). В тестикулах, яичниках и матке контрольных крыс соматостатин стимулировал G_i -белки, что выражалось в повышении им базального уровня ГТФ-связывания на 65, 23 и 87 %. Однако при ЭСД1 эффекты гормона снижались до 14, 11 и 17 % соответственно. Все эти данные свидетельствуют о нарушении регулируемых соматостатином сигнальных путей, включающих G_i -белки, в репродуктивных тканях крыс с ЭСД1.

Серотонин и адреналин, которые через различные типы рецепторов способны активировать оба типа G -белков (G_s и G_i), отчетливо ингибировали стимулированную форсколином активность АЦ в матке контрольных крыс, но слабо влияли на нее в тестикулах и яичниках (рис. 3). Как и в случае соматостатина, этот их эффект, реализуемый через G_i -белки, резко снижался при ЭСД1.

Для выявления нарушений в сопряженных с G_i -белками сигнальных каскадах был применен пептид 346—355 $G\alpha_{i2}$, который селективно блокирует передачу сигнала через G_i -белки. Стимулирующие АЦ эффекты серотонина (10^{-5} М), которые в тестикулах и матке контрольных крыс составили 292 и 569 %, в присутствии этого пептида (10^{-4} М) повышались до 338 и 634 %. Сходная ситуация наблюдалась в случае адреналина. АЦ эффекты гормона в тестикулах и матке (168 и 453 %) также заметно повышались в присутствии пептида 346—355 $G\alpha_{i2}$ (до 190 и 511 %). Обнаруженное нами усиление стимулирующих АЦ эффектов серотонина и адреналина является результатом блокирования пептидом ингибирующих путей регуляции этими гормонами активности АЦ. В присутствии пептида 346—355 $G\alpha_{i2}$ в тестикулах и матке контрольных животных снижалась стимуляция ГТФ-связывания серотонином (без пептида 258 и 345 %, с пептидом — 203 и

286 %) и адреналином (без пептида 149 и 320 %, с пептидом 122 и 243 %). В то же время в тестикулах и матке диабетических животных пептид 346—355 $G\alpha_{i2}$ практически не влиял на стимуляцию биогенными аминами АЦ и ГТФ-связывания (данные не представлены), что указывает на ослабление ингибирующих АЦ сигнальных каскадов в репродуктивных тканях крыс с ЭСД1. Нарушения в этих каскадах не являются тканеспецифичными и затрагивают широкий спектр гормонов, ингибиторов АЦ.

Обсуждение

Обнаруженное нами снижение чувствительности к гонадотропинам (ХГЧ) и PACAP-38 АЦСС в репродуктивных тканях крыс с ЭСД1, как мы полагаем, является одной из ключевых причин нарушений контролируемых этими гормонами функций репродуктивной системы у людей, страдающих СД 1-го типа. Наиболее частыми из них являются нарушения сперматогенеза и фолликулогенеза, которые сопровождаются изменением содержания стероидных гормонов и их предшественников (Ballester et al., 2004; Costagliola et al., 2005; Vaccari et al., 2006). Имеются многочисленные доказательства в пользу того, что основными факторами, ведущими к ослаблению чувствительности АЦСС к гонадотропинам, являются инсулиновая недостаточность и гипергликемия, которые характеризуют СД 1-го типа. Введение инсулина диабетическим животным повышает чувствительность тканей к гонадотропинам и восстанавливает у них репродуктивные функции (Bestetti et al., 1987; De Hertogh et al., 1992; Sudha et al., 2000). К сходному результату приводит применение антидиабетических препаратов, понижающих уровень глюкозы в плазме крови (Munoz et al., 2001). Введение самкам крыс с ЭСД1 антидиабетического препарата тунгстата натрия не только нормализует уровень глюкозы, но и приводит к восстановлению чувствительности тканей репродуктивной системы диабетических крыс к лутеинизирующему и фолликулостимулирующему гормонам и вызывает повышение у них либидо и фертильности до уровня этих показателей у здоровых животных (Ballester et al., 2007).

Основные нарушения в регулируемой гонадотропинами и PACAP-38 АЦСС локализованы на уровне G_s -бел-

ков, о чем свидетельствует сходная картина снижения в условиях диабета стимулирующих эффектов гормонов на активность АЦ и ГТФ-связывание G_s -белков. Это согласуется с полученными нами ранее данными о том, что ослабление стимулирующего влияния гормонов на АЦСС в мышечной и мозговой тканях крыс с ЭСД1 связано в основном со снижением функциональной активности G_s -белков и нарушением их сопряжения с гормональными рецепторами (Шпаков и др., 2005а, 2007а).

В еще большей степени в репродуктивных тканях крыс с ЭСД1 снижена чувствительность АЦСС к гормонам, осуществляющим свои регуляторные эффекты через посредство G_i -белков, причем основные нарушения передачи гормонального сигнала и в этом случае локализованы на уровне G_i -белков. Во всех исследованных нами тканях подавлены регуляторные эффекты пептидного гормона соматостатина, активирующего G_i -белки, а в матке диабетических крыс нарушена передача ингибирующих активность АЦ сигналов, генерируемых биогенными аминами — серотонином и адреналином. Несмотря на то что репродуктивная ткань не является основной мишенью действия соматостатина и биогенных аминов, эти гормоны способны влиять на функционирование репродуктивной системы через посредство цАМФ-зависимых сигнальных каскадов. Соматостатин осуществляет контроль стероидогенеза (Leatherland et al., 2005), в то время как серотонин ответствен за контроль энергетического баланса в репродуктивных тканях, который претерпевает существенные изменения в условиях СД (Lam, Heisler, 2007). Вследствие этого выявленные нами нарушения могут вносить заметный вклад в развитие патологии репродуктивной системы в условиях СД 1-го типа.

Как отмечалось выше, основные нарушения в передаче к АЦ как стимулирующих, так и ингибирующих гормональных сигналов локализованы на уровне гетеротримерных G -белков. Это может быть связано как со снижением их экспрессии в тканях диабетических животных, так и с нарушением функционального взаимодействия G -белков с другими сигнальными белками (рецепторами, АЦ, RGS-белками). Имеются данные о том, что в сердечной мышце и гладких мышцах сосудов крыс с ЭСД1 заметно снижается экспрессия $G_{i/o}$ -белков (Wichelhaus et al., 1994; Gando et al., 1997; Hashim et al., 2002, 2004). Снижение экспрессии и ослабление функций G_s - и $G_{i/o}$ -белков обнаружено в ряде тканей при СД 2-го типа (Livingstone et al., 1991; Palmer et al., 1992). Более выраженное ослабление функций G_i -белков в сравнении с G_s -белками связано с тем, что экспрессия G_i -белков подвергается большим изменениям в условиях СД.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что в условиях ЭСД1 в наибольшей степени ослабляются цАМФ-зависимые сигнальные каскады, играющие ключевую роль в контроле репродуктивных функций. В тканях матки ослабляются регуляторные эффекты большой группы гормонов, которые определяют ее нормальное функционирование. В тестикулах и яичниках выявлено значительное снижение регуляторных эффектов гонадотропинов (ХГЧ) и соматостатина, ответственных за развитие генеративных органов и определяющих протекание процессов сперматогенеза и оогенеза. Имеется лишь одно исключение. Оно касается стимулирующего эффекта РАСАР-38 на АЦСС, который отчетливо снижен в тестикулах самцов диабетических крыс, но сравнительно слабо меняется в яичниках самок. В то же время известно, что РАСАР-38 является важнейшим регулятором репро-

дуктивных функций не только у мужчин, но и у женщин, поскольку он вовлечен в контроль созревания ооцитов, ингибирует апоптоз фолликулов, участвует в регуляции синтеза и секреции стероидных гормонов (Lee et al., 1999; Li, Arimura, 2003; Vaccari et al., 2006). Эти данные указывают на то, что снижение чувствительности АЦСС по крайней мере к некоторым гормонам, регуляторам репродуктивных функций, может быть тканеспецифичным.

Таким образом, нами впервые показано, что в условиях ЭСД1 в репродуктивных тканях крыс снижается чувствительность АЦСС к действию гормонов различной природы, регулирующих функции репродуктивной системы, причем в наибольшей степени нарушается передача сигналов, генерируемых гонадотропинами и гормонами, ингибиторами АЦ. Изменение ответа АЦСС на действие гормонов, как мы полагаем, лежит в основе развития патологических изменений в репродуктивной системе крыс в условиях гипергликемии и инсулиновой недостаточности, характерных для СД 1-го типа. Изучение гормональной регуляции при СД 1-го типа является одним из важнейших направлений в диагностике и лечении дисфункций и заболеваний репродуктивной системы человека, которые возникают в условиях характерных для этой формы диабета инсулиновой недостаточности и гипергликемии.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине» (2009 г.) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект 09-04-00746а).

Список литературы

- Шпаков А. О., Гурьянов И. А., Кузнецова Л. А., Плеснева С. А., Корольков В. И., Перцева М. Н., Власов Г. П. 2004. Использование С-концевых пептидов α -субъединиц G -белков для исследования их функционального сопряжения с рецепторами биогенных аминов в тканях крыс и моллюсков. Биол. мембраны. 21 (6) : 441—450.
- Шпаков А. О., Кузнецова Л. А., Плеснева С. А., Бондарева В. М., Гурьянов И. А., Власов Г. П., Перцева М. Н. 2006. Снижение функциональной активности G -белков, компонентов гормоночувствительной аденилатциклазной сигнальной системы, при экспериментальном диабете 2-го типа. Бюл. эксперим. биол. 142 (12) : 641—645.
- Шпаков А. О., Кузнецова Л. А., Плеснева С. А., Гурьянов И. А., Власов Г. П., Перцева М. Н. 2007а. Идентификация нарушений в гормоночувствительной АЦ-системе в тканях крыс с диабетом 1-го и 2-го типов с использованием функциональных зондов и синтетических наноразмерных пептидов. Техн. живых систем. 4 (5—6) : 96—108.
- Шпаков А. О., Кузнецова Л. А., Плеснева С. А., Перцева М. Н. 2005а. Молекулярные механизмы изменения чувствительности аденилатциклазной сигнальной системы к биогенным аминам при стрептозотоциновом диабете. Бюл. эксперим. биол. 140 (9) : 286—290.
- Шпаков А. О., Кузнецова Л. А., Плеснева С. А., Перцева М. Н. 2007б. Нарушение передачи ингибирующего аденилатциклазу гормонального сигнала в миокарде и мозге крыс с экспериментальным диабетом 2-го типа. Цитология. 49 (6) : 442—450.
- Шпаков А. О., Перцева М. Н., Гурьянов И. А., Власов Г. П. 2005б. Влияние пептидов, производных третьей цитоплазматической петли релаксинового рецептора 1 типа, на стимуляцию релаксином ГТФ-связывающей активности G -белков. Биол. мембраны. 22 (6) : 435—442.
- Ballester J., Munoz M. C., Dominguez J., Palomo M. J., Rive-ra M., Rigau T., Guinovart J. J., Rodriguez-Gil J. E. 2007. Tungsta-

te administration improves the sexual and reproductive function in female rats with streptozotocin-induced diabetes. *Hum. Reprod.* 22 : 2128—2135.

Ballester J., Munoz M. C., Dominguez J., Rigau T., Guinovart J. J., Rodriguez-Gil J. E. 2004. Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms. *J. Androl.* 25 : 706—719.

Bestetti G. E., Junker U., Locatelli V., Rossi G. L. 1987. Continuous subtherapeutic insulin counteracts hypothalamo-pituitary-gonadal alterations in diabetic rats. *Diabetes.* 36 : 1315—1319.

Bhatia V., Chaudhuri A., Tomar R., Dhindsa S., Ghanim H., Dandona P. 2006. Low testosterone and high C-reactive protein concentrations predict low hematocrit in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 29 : 2289—2294.

Codner E., Mook-Kanamori D., Bazaes R. A., Unanue N., Sovino H., Ugarte F., Avila A., Iniguez G., Cassorla F. 2005. Ovarian function during puberty in girls with type 1 diabetes mellitus: response to leuprolide. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90 : 3939—3945.

Costagliola S., Urizar E., Mendive F., Vassart G. 2005. Specificity and promiscuity of gonadotropin receptors. *Reproduction.* 130 : 275—281.

De Hertogh R., Vanderheyden I., Pampfer S., Robin D., Delcourt J. 1992. Maternal insulin treatment improves pre-implantation embryo development in diabetic rats. *Diabetologia.* 35 : 406—408.

Gando S., Hattori Y., Akaishi Y., Nishihira J., Kanno M. 1997. Impaired contractile response to β adrenoreceptor stimulation in diabetic rat hearts: alterations in β adrenoreceptors-G protein-adenylate cyclase system and phospholamban phosphorylation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 282 : 475—484.

Gawler D., Milligan G., Spiegel A. M., Unson C. G., Houslay M. D. 1987. Abolition of expression of inhibitory guanine nucleotide regulatory protein G_i activity in diabetes. *Nature.* 327 : 229—232.

Hashim S., Li Y., Nagakura A., Takeo S., Anand-Srivastava M. B. 2004. Modulation of G-protein expression and adenylyl cyclase signaling by high glucose in vascular smooth muscle. *Cardiovasc. Res.* 63 : 709—718.

Hashim S., Li Y. Y., Wang R., Anand-Srivastava M. B. 2002. Streptozotocin-induced diabetes impairs G-protein linked signal transduction in vascular smooth muscle. *Mol. Cell. Biochem.* 240 : 57—65.

Hemmings S. J., Spafford D. 2000. Neonatal STZ model of type II diabetes mellitus in the Fischer 344 rat: characteristics and assessment of the status of the hepatic adrenergic receptors. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 32 : 905—919.

Hughes S. J., Hollingsworth M., Elliott K. R. 1997. The role of a cAMP-dependent pathway in the uterine relaxant action of relaxin in rats. *J. Reprod. Fertil.* 109 : 289—296.

Krantic S., Benahmed M. 2000. Somatostatin inhibits follicle-stimulating hormone-induced adenylyl cyclase activity and proliferation in immature porcine Sertoli cell via sst2 receptor. *Biol. Reprod.* 62 : 1835—1843.

Lam D. D., Heisler L. K. 2007. Serotonin and energy balance: molecular mechanisms and implications for type 2 diabetes. *Expert. Rev. Mol. Med.* 9 : 1—24.

Leatherland J. F., Lin L., Renaud R. 2005. Effect of glutamate and somatostatin—14 on basal and cAMP-stimulated steroidogenesis by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ovarian follicles, *in vitro*. *Comp. Biochem. Physiol.* 140 : 647—656.

Lee J., Park H. J., Choi H. S., Kwon H. B., Arimura A., Lee B. J., Choi W. S., Chun S. Y. 1999. Gonadotropin stimulation of pituitary adenylyl cyclase-activating polypeptide (PACAP) messenger ribonucleic acid in the rat ovary and the role of PACAP as a follicle survival factor. *Endocrinology.* 140 : 818—826.

Li M., Arimura A. 2003. Neuropeptides of the pituitary adenylyl cyclase-activating polypeptide/vasoactive intestinal polypeptide/growth hormone-releasing hormone/secretin family in testis. *Endocrine.* 20 : 201—214.

Livingstone C., McLellan A. R., McGregor M., Wilson A., Connell J. M., Small M., Milligan G., Paterson K. R., Houslay M. D. 1991. Altered G-protein expression and adenylyl cyclase activity in platelets of non-insulin-dependent diabetic (NIDDM) male subjects. *Biochim. biophys. acta.* 1096 : 127—133.

Munoz M. C., Barbera A., Dominguez J., Fernandez-Alvarez J., Gomis R. R., Guinovart J. J. 2001. Effects of tungstate, a new potential oral antidiabetic agent, on Zucker diabetic fatty rats. *Diabetes.* 50 : 131—138.

Palmer T. M., Taberner P. V., Houslay M. D. 1992. Alterations in G protein expression, G_i function and stimulatory receptor-mediated regulation of adipocyte adenylyl cyclase in a model of insulin-resistant diabetes with obesity. *Cell Signal.* 4 : 365—377.

Shpakov A. O., Kuznetsova L. A., Plesneva S. A., Kolychev A. P., Bondareva V. M., Chistyakova O. V., Pertseva M. N. 2006. Functional defects in adenylyl cyclase signaling mechanisms of insulin and relaxin action in skeletal muscles of rat with streptozotocin type 1 diabetes. *Cent. Eur. J. Biol.* 1 : 530—544.

Shpakov A., Pertseva M., Kuznetsova L., Plesneva S. 2005. A novel, adenylyl cyclase, signaling mechanism of relaxin H2 action. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1041 : 305—307.

Sudha S., Valli G., Julie M. P., Arunakaran J., Govindarajulu P., Balasubramanian K. 2000. Influence of streptozotocin-induced diabetes and insulin treatment on the pituitary-testicular axis during sexual maturation in rats. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 108 : 14—20.

Tanaka M., Nakaya S., Kumai T., Watanabe M., Matsumoto N., Kobayashi S. 2001. Impaired testicular function in rats with diet-induced hypercholesterolemia and/or streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Endocr. Res.* 27 : 109—117.

Vaccari S., Latini S., Barberi M., Teti A., Stefanini M., Canipari R. 2006. Characterization and expression of different pituitary adenylyl cyclase-activating polypeptide/vasoactive intestinal polypeptide receptors in rat ovarian follicles. *J. Endocrinol.* 191 : 287—299.

Weber L. P., MacLeod K. M. 1997. Influence of streptozotocin diabetes on the alpha-1 adrenoreceptor and associated G proteins in rat arteries. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 283 : 1469—1478.

Wichelhaus A., Russ M., Petersen S., Eckel J. 1994. G protein expression and adenylyl cyclase regulation in ventricular cardiomyocytes from STZ-diabetic rats. *Amer. J. Physiol.* 267 : 548—555.

Поступила 7 VII 2009

FUNCTIONAL STATE OF ADENYLYL CYCLASE SIGNALING SYSTEM IN REPRODUCTIVE TISSUES OF RATS WITH EXPERIMENTAL TYPE 1 DIABETES

A. O. Shpakov,¹ V. M. Bondareva, O. V. Chistyakova

I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS;
¹ mail: alex_shpakov@list.ru

Diabetes mellitus (DM) of type 1 induces numerous disturbances in reproductive systems of males and females. We have shown earlier that the main cause of the complications in the case of DM is alteration of adenylyl cyclase signaling system (ACSS) sensitivity to hormones. The aim of the present work was identification of

disturbances in hormone-regulated ACSS in reproductive tissues of rats with experimental type 1 DM (EDM1) induced by streptozotocin treatment. Testis of the rats with 5-days EDM1 showed significant decrease in the stimulatory effects of human chorionic gonadotropin (hCG) and PACAP-38 on adenylyl cyclase (AC) activity and G protein GTP-binding. Uterus of the rats with EDM1 exhibited decreased effects of relaxin, PACAP-38 and biogenic amines. In the ovaries, we showed the decrease in hCG effects only. Weakening of the inhibitory influence of somatostatin on ACSS activity was found in all studied tissues of rats with EDM1. Uterus displayed also decreased inhibitory effects of serotonin and adrenaline. Thus, regulatory effects of the hormones in ACSS sensitivity in reproductive tissues of the rats with EDM1 were decreased. The effects of hCG and AC inhibiting hormones were decreased to a greater extent. We suppose that the decrease in ACSS sensitivity to hormones in the case of EDM1 is responsible for pathological changes in reproductive systems of diabetic rats under condition of hyperglycemia and insulin deficiency which are typical for type 1 DM.

Key words: adenylyl cyclase, G-protein, diabetes, uterus, somatostatin, testis, chorionic gonadotropin, ovary, PACAP.
