

10-1-2018

FORMATION OF THE METABOLIC SYNDROME IN RATS WITH PRENATAL HYPERANDROGENISM

F.T. Maksudova

Tashkent Medical Academy, Tashkent, 100104, Uzbekistan, rio-tma@mail.ru

Follow this and additional works at: <https://uzjournals.edu.uz/tma>

Recommended Citation

Maksudova, F.T. (2018) "FORMATION OF THE METABOLIC SYNDROME IN RATS WITH PRENATAL HYPERANDROGENISM," *Central Asian Journal of Medicine*: Vol. 2018 : Iss. 3 , Article 8.

Available at: <https://uzjournals.edu.uz/tma/vol2018/iss3/8>

This Article is brought to you for free and open access by 2030 Uzbekistan Research Online. It has been accepted for inclusion in Central Asian Journal of Medicine by an authorized editor of 2030 Uzbekistan Research Online. For more information, please contact brownman91@mail.ru.

УДК: 618+616.43+616-008.9+616.39+616.5+616.97

Title of the article in the Uzbek language:

**КАЛАМУШЛАРДА ПРЕНАТАЛЬ
ГИПЕРАНДРОГЕНИЗМ БИЛАН
МЕТАБОЛИК СИНДРОМНИНГ
ШАКЛЛАНИШИ**

Title of the article in Russian language:

**ФОРМИРОВАНИЕ
МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У
КРЫС С ПРЕНАТАЛЬНОЙ
ГИПЕРАНДРОГЕНИЕЙ****FORMATION OF THE METABOLIC SYNDROME
IN RATS WITH PRENATAL HYPERANDROGENISM****Maksudova F.T.¹**¹*Tashkent Medical Academy***Maqola to'g'risida ma'lumot**

Qabul qilindi: 2018 y, iyul
Chop etildi: 2018 y, sentyabr
Kalim s'zlar: ҳомиладор каламушлар, болалари, липид метаболизми, юқори калория, семизлик.

АННОТАЦИЯ

Мақсад: пренаталь гиперандрогенизм билан каламушларда ёғ тўқималаридаги липидлар метаболизмини ўрганиши тизимли ўзгаришлари билан боғлиқ. **Материал ва усуллар:** лабораториядаги стандарт рационда 90 та (зотсиз гуруҳ) оқ ҳомиладор аёл сичқонлар устида тадқиқотлар олиб борилди. Ҳомиладорликнинг 15-кунини, каламушлар уч гуруҳга бўлинган: 1-чи 30 ҳайвон (соғлом гуруҳ), 2-чи 30 ҳомиладор каламуш, ҳомиладорликнинг 16 дан 19 кунигача 0,5 мл ни олган кунжут ёғи 100 г вазндаги ёғда 100 г (таққослаш гуруҳи), 3-чи 30 та ҳомиладор каламуш бўлиб, улар 16-19 кунлик ҳомиладорлик даврида 100 мл кунжут ёғида эриган (асосий гуруҳ) 5 мг/кг Т (Т-1500; Сигма), гиперандрогенизация). **Хулоса:** пренатал андрогенизация тана вазнининг ошишига, тери ости ёғ параметрларига, наслда семириши шаклланишига олиб келади. Метаболик касалликлар дислипидеми IV ва V турлари ва семизлик билан намоён бўлади. Бу юқори калорияли парҳез билан авлодларда намоён бўлади. **Натижа:** пренатал андрогенизацияга учраган каламушларда метаболик ўзгаришларнинг асосий механизмларидан бири, семиришнинг кўпайишига олиб келадиган овқатла-ниши ва / ёки энергия сарфини камайтириши билан боғлиқ бўлиши мумкин.

Информация о статье

Принят: июль 2018 г.
Опубликовано: сентябрь 2018 г.
Ключевые слова: беременные крысы, детеныши, метаболизм липидов, высококалорийная диета, ожирение.

АННОТАЦИЯ

Цель: изучение метаболизма липидов во взаимосвязи со структурными изменениями в жировой ткани у крыс с пренатальной гиперандрогенией. **Материал и методы:** исследование проведено на 90 беспородных белых беременных крысах-самках, находящихся на обычном лабораторном рационе. На 15-й день беременности крысы были разделены на 3 группы: 1-я – 30 живородных (интактная группа), 2-я – 30 беременных крыс, получавшие с 16-го по 19-й день беременности кунжутное масло 0,5 мл/100 г массы (группа сравнения), 3-я – 30 беременных крыс, которым в период 16-19 дней беременности подкожно вводили 5 мг/кг свободного Т (Т-1500; Сигма), рас-творенного в 100 мл кунжутного масла (основная группа, гиперандрогенизация).

Результаты: пренатальная андрогенизация приводит к увеличению массы тела, параметров подкожно-жировой клетчатки, формированию ожирения у потомства. **Метаболические нарушения** проявляются дислипидемией IV и V типов и ожирением. Более выражено это проявляется у приплода, с высококалорийной диетой. **Выводы:** один из главных механизмов метаболических изменений у крыс, подвергшихся пренатально андрогенизации, может быть связан с увеличенным рационом питания и/или уменьшенными энергетическими расходами, приводя к увеличению ожирения.

Article info

Adopted: January 2018

Published: July 2018

Key words: pregnant rats, young, lipid metabolism, high-calorie diet, obesity.

ABSTRACT

Objective: To study the metabolism of lipids in relation to structural changes in adipose tissue in rats with prenatal hyperandrogenism. **Material and Methods:** The studies carried out on 90 outbred white pregnant female rats on a normal laboratory diet. On the 15th day of pregnancy, the rats were divided into 3 groups: the 1st - 30 animals (intact group), the 2nd - 30 pregnant rats, receiving sesame oil 0.5 ml from the 16th to the 19th day of pregnancy 100 g of weight (comparison group), 3rd - 30 pregnant rats from the 16th to the 19th day of pregnancy, which were given subcutaneously with 5 mg / kg of free T (T-1500; Sigma) dissolved in 100 ml of sesame oil in the period 16– 19 days of gestation (main group, hyperandrogenization). **Results:** prenatal androgenization leads to an increase in body weight, parameters of subcutaneous fat, the formation of obesity in the offspring. Metabolic disorders are manifested by dyslipidemia IV and V types and obesity. This is more pronounced in the offspring, with a high-calorie diet. **Conclusions:** One of the main mechanisms of metabolic changes in rats subjected to prenatal androgenization may be associated with an increased diet and/or reduced energy expenditure, leading to an increase in obesity.

Поликистозные яичники диагностируются у 34% женщин, длительно принимающих эстроген-гестагенные препараты с целью контрацепции [1]. По мнению Т.В. Овсянниковой (2012), частота синдрома поликистозных яичников (СПКЯ) у женщин репродуктивного возраста составляет 3-11%, увеличиваясь до 18-20% среди пациенток с бесплодием, а при различных нарушениях менструального цикла и гирсутизме диагностируется более чем в 60% случаев. К характерным особенностям СПКЯ относятся аменорея, олигоменорея, бесплодие, гиперинсулинемия в связи с инсулинорезистентностью (ИР), жировой гепатоз, гиперсекреция лютеинизирующего гормона (ЛГ) и гиперандрогенизм [2,5,11]. СПКЯ является полиэтиологичным заболеванием, наиболее часто встречающимся у женщин с метаболическим синдромом (МС), сочетающимся с ИР и поражением сердечно-сосудистой системы [2,3,7,12]. По данным экспертов Общественного здравоохранения и питания (NHANES), у девочек с СПКЯ в

4,5 раза выше риск формирования МС [4,10]. Вместе с тем вопросы патофизиологической взаимосвязи СПКЯ и МС до конца не изучены.

Цель исследования

Изучение метаболизма липидов во взаимосвязи со структурными изменениями в жировой ткани у крыс с пренатальной гиперандрогенией.

Материал и методы

Исследования проведены на 90 беспородных белых беременных крысах, находящихся на обычном лабораторном рационе. Все процедуры на животных проводились в соответствии с этическими правилами. На 15-й день беременности крысы были разделены на 3 группы по 30 животных: 1-я группа – интактная, 2-я группа – сравнения, 3-я группа – основная. С 16-го по 19-й день беременности ежедневно самкам 2-й группы подкожно вводили кунжутное масло в дозе 0,5 мл/100г массы, самкам 3-й группы с целью воспроизведения экспериментальной гиперандрогении вводили подкожно 5 мг/кг свободного Т (Т-1500; Сигма), растворенного в 100 мл кунжутного масла [7]. Каждая беременная самка отсаживалась отдельно. Роды наступали на 20-22-й дни беременности. Крысят отбирали из потомства таким образом, чтобы уравнивать размеры групп (10 детенышей (T_2) на мать (T_1)).

На 30-е сутки после рождения детёнышей-самок отделяли от детёнышей-самцов. При этом самки T_2 во 2-й и 3-й группах были разделены на 2 подгруппы по 48 в каждой: А подгруппа T_2 ($n=32$) получала высококалорийную диету (HFD) (5,24 ккал/г: жиров 60%, углеводов 20%, белков 20%) и воду по потребности; Б подгруппа T_2 (по 16 крысят-самок) – обычную (RD) (3,30 ккал/г: жир 15%, углеводы 62%, белки 23%) диету [7,9]. Массу T_2 всех групп животных определяли еженедельно со дня отнятия от матери-самки до 90-дневного возраста. В ходе эксперимента животных забивали путем декапитации под легким эфирным наркозом на 60-е и 90-е сутки от рождения: в 1-й группе – 10 (T_2) самок, во 2-й А и Б подгруппах – по 6 (T_2) самок, в 3-й А – 7 (T_2) самок, в 3-й Б подгруппе – 6 (T_2) самок. Проводили морфологический и морфометрический анализ структурных

компонентов жировой ткани пренатально гиперандрогенизированных животных (T_2). Наряду с этим для изучения показателей липидного обмена в отдельную пробирку собирали кровь, сыворотку отделяли центрифугированием при 1000 об/мин в течение 15 мин и сохраняли при -20°C . В сыворотке крови определяли содержание общего холестерина (ОХС), триглицеридов, холестерина липопротеидов очень низкой (ХС ЛПОНП), низкой (ХС ЛПНП) и высокой (ХС ЛПВП) плотности, на автоматизированном биохимическом анализаторе Mindray MR-96A, помощью специальных наборов программ и реактивов фирмы. На основании полученных данных рассчитывали холестериновый коэффициент атерогенности.

Морфологические и морфометрические исследования проводились на кафедре патологической анатомии, биохимические исследования – в лаборатории молекулярной диагностики и клинико-биохимических исследований Научно-практического центра стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Полученные данные были подвергнуты статистической обработке на персональном компьютере Pentium 4 в программе Microsoft Excel 10.

Результаты и обсуждение

Изучение постнатального развития внутриутробно гиперандрогенизированных самок крыс показало, что в течение 1-й недели среди рожденного потомства (T_2) во всех трех группах наблюдалась смертность потомства: 1-й группе погибло 1 животное; во 2-й – 3, в 3-й – 7. То есть выживаемость в 1-й группе составила 96,7%, во 2-й – 90%, в 3-й – в пределах 77%.

Дальнейшие наблюдения за гиперандрогенизированным потомством (T_2) выявили отставание их физического развития (меньшая масса и длина, индекс Кетле) в течение первых двух недель по сравнению с потомством (T_2) в 1-й группе. Эти факты, возможно, связаны с воздействием гиперандрогенизации как на организм самки во время вынашивания

потомства, так и на пренатальное и постнатальное их развитие (табл. 1).

Таблица 1

Показатели физического развития внутриутробно
гиперандрогенизированных крыс (Т₂) на 7-е сутки от рождения, М±m

Группа животных	Масса, г	Индекс Кетле	Длина, см	Длина хвоста, см
1-я	11,2±0,18	2,7±0,066	6,5±0,066	3,6±0,011
2-я	10,8±0,01*	2,6±0,008	6,5±0,008	3,6±0,07
3-я	6,9±0,010*	2,5±0,009*	5,2±0,006*	3,1±0,024*

Примечание. * – p<0,001 по сравнению с 1-й группой.

Дальнейшие наблюдения за животными в течение 2-го месяца от рождения показало, что крысы 2-й группы стали интенсивнее набирать массу, при этом их активность была ниже, чем у животных 1-й группы. Так, к 60-м суткам масса и индекс Кетле у животных 3-й группы уже превышали таковые в 1-й группе соответственно в 1,5 и 1,46 раза (табл. 2).

Таблица 2

Показатели физического развития внутриутробно
гиперандрогенизированных крыс (Т₂) на 60-е сутки от рождения, М±m

Группа животных	Масса, г	Индекс Кетле	Длина тела, см	Длина хвоста, см
1-я	116,5±0,070	4,7±0,010	15,8±0,008	13,8±0,013
Подгруппа 2А	147,8±0,022*	5,9±0,008*	15,8±0,008	13,8±0,011
Подгруппа 2Б	116,1±0,05*	4,7±0,0083	15,7±0,021*	13,8±0,013
Подгруппа 3А	186,4±0,26*	7,2±0,034*	16,1±0,036*	13,8±0,012
Подгруппа 3Б	164,2±0,15*	6,5±0,011*	15,8±0,016	13,8±0,012

Примечание. То же, что и к табл. 1

Из данных, приведенных в таблице 2, видно, что наибольшие изменения были характерны для крысят, находившихся на высококалорийной диете (А подгр.), у которых за счет увеличения жировых депо определено ожирение, что подтверждается большей массой жировой ткани (табл. 3).

Таблица 3

Масса жировой ткани (г) у крысят (T_2) на 60-е сутки жизни, $M \pm m$

Группа животных	Общая масса жировой ткани	Масса мезентериальной жировой ткани	Масса забрюшинной жировой ткани	Масса подкожной жировой ткани
1-я	4,9±0,021	2,0±0,009	1,7±0,007	1,2±0,005
Подгруппа 2А	6,2±0,0021*	2,5±0,0008*	2,2±0,0007*	1,6±0,0012*
Подгруппа 2Б	4,9±0,0022	2,2±0,23	1,7±0,0014	1,2±0,0014
Подгруппа 3А	7,9±0,012*	3,1±0,005*	2,8±0,034*	2,0±0,003*
Подгруппа 3Б	6,9±0,015*	2,8±0,007*	2,4±0,005*	1,7±0,004*

Примечание. То же, что и к табл. 1.

Морфологическое и морфометрическое изучение жировой ткани у пренатально гиперандрогенизированных животных выявило свои особенности, характеризующиеся патоморфологическими изменениями первоначально развивающиеся в толще соединительнотканых прослоек и вокруг сосудов в виде появления тучных клеток и пролиферации лимфогистиоцитарных клеток. Наряду с этим наблюдалось расширение сосудов, истончение их стенки и развитие диапедезного кровоизлияния в периваскулярные пространства. В составе жировой ткани, резко увеличивалось количество многокапельной бурой жировой ткани, напоминая эндокринную железу наличием ячеек и ацинусов (рис. 1, 2).

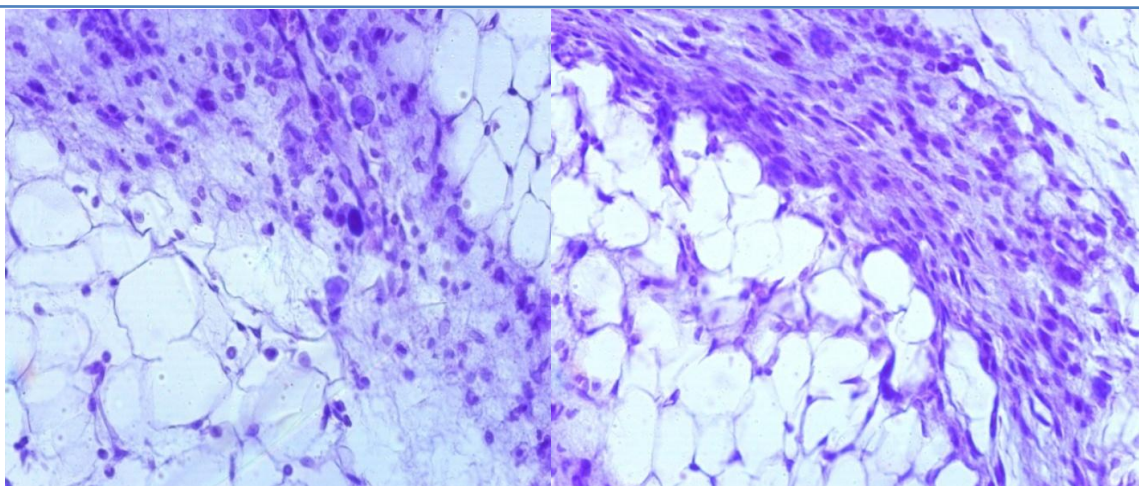


Рис. 1. Появление тучных и лимфогистиоцитарных клеток в толще соединительной ткани (а), пролиферация и проникновение гистиоцитарных клеток в толщу жировой ткани (б). Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: ок.10, об.40.

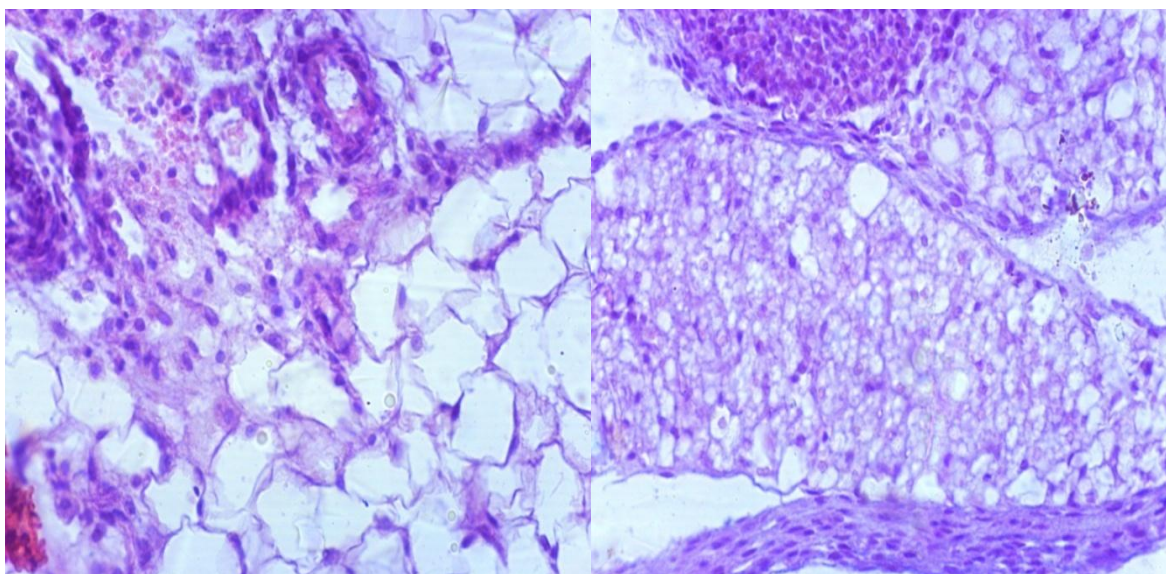


Рис. 2. Расширение сосудов, диапедезное кровоизлияние, появление недифференцированных адипоцитов (а) и увеличение количества многокапельной жировой ткани (б). Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: ок.10, об.40.

При анализе показателей липидного обмена у экспериментальных животных выявлены существенные изменения. Во 2-й и 3-й группах показатели имели некоторые отличия в зависимости от рациона питания. Так, в подгруппе 2А, животные которой, находились на HFD рационе, изучаемые

показатели имели несколько более высокие значения, чем у животных интактной группы и подгруппы 2Б (RD). Так, уровень общего холестерина достоверно повышался до $5,9 \pm 0,10$ ($P_k < 0,001$) против $4,0 \pm 0,13$ в контроле и $4,0 \pm 0,15$ во 2Б подгруппе. В 3-й группе эти показатели были еще выше, чем у интактных животных (1-я гр.), так и у крыс группы сравнения (2-я гр.). У животных 3А и 3Б подгрупп уровень общего холестерина высокодостоверно повышался соответственно до $6,0 \pm 0,06$ ($p < 0,001$) и $4,6 \pm 0,16$ ммоль/л ($p < 0,01$), достоверно превышая данный показатель в 1-й группе в среднем в 1,5 и 1,15 раза, во 2А подгруппе – в 1,0 раза, а в 2Б – в 1,5 раза.

Средний уровень ТГ у животных 2А подгруппы ($1,7 \pm 0,06$ ммоль/л; $P_k < 0,001$) в 1,5 раза превышал контрольные значения и в 1,4 раза этот показатель у крыс подгруппы 2Б. У животных 3А и 3Б подгрупп среднее содержание ТГ в сыворотке крови было выше, чем у интактных крыс соответственно в 4,28 и 1,6 раза ($P_k < 0,05$), в по сравнению с этим показателем у животных 2А и 2Б подгрупп – в 1,1 и 1,5 раза.

Аналогичная зависимость отмечалась и в отношении среднего уровня ХС ЛПНП и ХС ЛПОНП у пренатально гиперандрогенизированных животных 3-й группы, а также у животных 2А подгруппы. Эти показатели превышали таковые в интактной группе в 3А и 3Б подгруппах в среднем в 1,09 и 1,06 раза и в 2,1 и 1,26 ($P_k < 0,05$) раза, а во 2А подгруппе – в 1,06 и 1,5 ($P_k < 0,05$) раза. Вероятнее всего, это связано с тем, что ЛПНП являются основной транспортной формой холестерина, тогда как ЛПОНП служит для транспорта триглицеридов.

Концентрация ХС-ЛПВП в сыворотке крови у пренатально гиперандрогенизированных животных у животных 3А подгруппы была ниже, чем в 1-й группе в 1,15, 3Б подгруппы – в 1,07 раза. Средние концентрации ХС ЛПВП в сыворотке крови у животных 2А подгруппы по сравнению с контролем снижались в 1,15 раза ($P_k < 0,01$).

У пренатально гиперандрогенизированных животных холестеринный коэффициент атерогенности ХС/ЛПВП в 3А подгруппе высоко достоверно

повышался в среднем до $3,6 \pm 0,17$ ($P_k < 0,001$), а в 3Б подгруппе регистрировалось статистически недостоверное увеличение этого показателя до $1,9 \pm 0,18$ ($P_k > 0,05$) (рис. 3а, б).

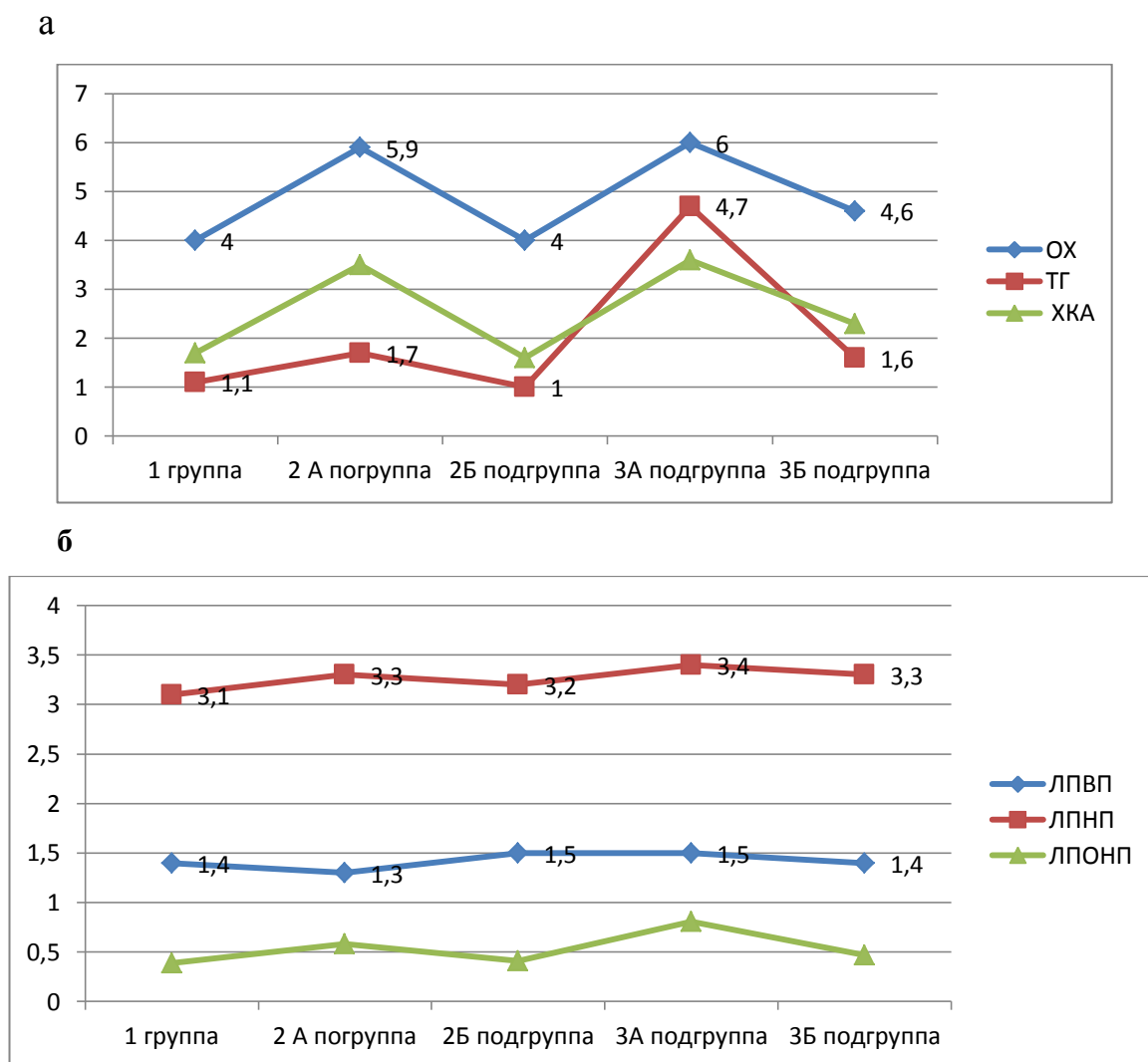


Рис. 3. Показатели липидного спектра у экспериментальных животных.

Таким образом, у животных 2А и 3А подгрупп, находившихся на липидной диете, наблюдалось развитие гипертриглицеридемии, гиперхолестеринемии, повышение уровня холестерина в липопротеидах очень низкой и низкой плотности на фоне уменьшения содержания холестерина в ЛПВП. Это приводило к повышению индекса атерогенности к 60-му дню эксперимента. Приведенные факты указывают на то, что у пренатально андрогенизированных крыс развивается дислипидемии

смешанного типа (IV и V типы), характерные для метаболического синдрома, что является одним из главных критериев развития СПКЯ у крыс.

Роль гиперандрогенизации в развитии дислипидемии у животных определяется непосредственным ее влиянием на липидный обмен. С одной стороны, гиперандрогенизация способствует повышению синтеза ЛПОНП и угнетению диссимиляции ЛПНП, что в свою очередь приводит к повышению уровня ЛПОНП и ЛПНП в сыворотке крови гиперандрогенизированных животных, а с другой стороны, гиперандрогенизация может вызывать угнетение синтеза ЛПВП.

Нами выявлена еще одна особенность, заключающаяся в том, что на выраженное нарушение метаболизма липидов у животных неблагоприятное влияние оказывало также ожирение. Этот факт подтверждает увеличение степени выраженности дислипидемии у животных 2А и 3А подгрупп, у которых наблюдалось ожирение. Так, средний уровень ОХС и ТГ был значительно выше у животных с ожирением, а средний уровень ЛПВП – достоверно более низким в сравнении с животными без ожирения (1-я гр. и 2Б подгр.) и, как следствие, регистрировалось достоверное повышение холестерина коэффициента атерогенности в 2А (в 2,1 и 2,2 раза) и 3А (в 2,12 и 2,3 раза) подгруппах.

Таким образом, для пренатально гиперандрогенизированных крыс характерны нарушения липидного статуса крови, среди которых доминируют увеличение концентрации общего холестерина, триглицеридов и холестерина коэффициента атерогенности, наиболее выраженные у животных с ожирением. При этом ожирение выступает как дополнительный неблагоприятный фактор, усугубляющий липидные нарушения.

Выводы

1. Пренатальная андрогенизация приводит к увеличению массы животных, параметров подкожно-жировой клетчатки, формированию ожирения у потомства, более выражено это проявляется при высококалорийном рационе.

2. Морфологические исследования жировой ткани выявили резкое увеличение количества многокапельной бурой жировой ткани, напоминающей эндокринную железу. Наблюдалось расширение сосудов, диапедезное кровоизлияние и появление недифференцированных адипоцитов, лимфогистиоцитарных и тучных клеток в толще соединительной ткани.

3. Пренатальная андрогенизация приводит к нарушению метаболических процессов в организме потомства, проявляющегося дислипотеинемией IV и V типов, характерных для метаболического синдрома, особенно у животных с HFD.

References:

1. Serov V.N., Prilepskaya V.N., Ovsyannikova T.V. Giperandrogeniya v ginekologii // Ginekologicheskaya endokrinol. – 5-ye izd. – M.: MEDpress-inform, 2015. – 512 s.
2. Khaydarova F.A. Patogeneticheskiye mekhanizmy formirovaniya sindroma polikistoznykh yaichnikov i obosnovaniye differentsirovannogo podkhoda k yego lecheniyu: Dis. ... d-ra med. nauk. – Tashkent, 2009. – 234 s.
3. Khaydarova F.A., Maksudova F.T. Ozhireniye i reproduktivnoye zdorov'ye zhenshchin: Metod. rekomendatsii. – Tashkent, 2012. – 44 s.
4. Shustov S.B., Baranov V.L., Khalimov YU.SH. Klinicheskaya endokrinologiya. – M.: Med. inform. agentstvo, 2012. – 632 s.
5. Abbott D.H., Bacha F. Ontogeny of polycystic ovary syndrome and insulin resistance in utero and early childhood // Fertil. Steril. – 2013. – Vol 100, №1.
6. de Melo A.S., Vilan Dias S., de Carvalho Cavalli R. et al. Pathogenesis of polycystic ovary syndrome: multifactorial assessment from the foetal stage to menopause // Reproduction. – 2015.

7. Demissie M., Lazic M., Foecking E.M. et al. Transient prenatal androgen exposure produces metabolic syndrome in adult female rats // *Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2008. – Vol. 295, №2. – P. E262-E268.
8. Duffy J.M., Ahmad G., Mohiyidden L. Growth hormone for in vitro fertilization // *Cochrane Datab. Syst. Rev.* – 2010. – Vol. 1. – P. 215-220.
9. Heber M.F., Ferreira S.R., Velez L.M., Motta A.B. Prenatal hyperandrogenism and lipid profile during different age stages: an experimental study // *Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 2. – P. 551-557.
10. Levente S., Antal P., Masszi G. et al. Arteriolar insulin resistance in a rat model of polycystic ovary syndrome // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 97. – P. 462-468.
11. Linne Y. Effects of obesity on women's reproduction and complications during pregnancy // *Obesity rev.* – 2004. – Vol. 5. – P. 137-143.
12. Padmanabhan V., Veiga-Lopez A. Animal models of the polycystic ovary syndrome phenotype // *Steroids.* – 2013. – Vol. 78. – P. 734-740.
13. Steculorum S.M., Vogt M.C., Bruning J.C. Perinatal Programming of Metabolic Diseases // *Endocrinol. Metab. Clin. North Amer.* – 2013. – Vol. 42. – P. 149-164.
14. Sunkara S.K., Pundir J., Khalaf Y. Effect of androgen supplementation or modulation on ovarion stimulation outcome in poor responders:a meta-analysis // *Reprod. Biomed. Online.* – 2011. – Vol. 22. – P. 545-555.
15. Xiao-Yan W.U., Zhi-Ling L.I., Cheng-Yong W.U. et al. Endocrine Traits of Polycystic Ovary Syndrome in Prenatally Androgenized Female Sprague-Dawley Rats // *Endocrine J.* – 2010. – Vol. 57, №3. – P. 201-209.