

10. Brown R. W., Watkins J. C. Effect of GABA and 3-aminopropane sulphonic acid on labelling of brain amino acid from ( $C^{14}$ )-glucose in the conscious mouse.— *Biochem. Pharmacol.*, 1973, 22, N 13, p. 1682—1684.
11. Buckingham J. C. The influence of corticosteroids on the secretion of corticotrophin and its pythothalamic releasing hormone.— *J. Physiol., Gr. Bris.*, 1979, 286, N 2, p. 331—342.
12. Debeljuk L., Gojman S., Seilicovich A. et al. Effect of aminooxyacetic acid and bicuculline on prolactin release in castrated male rats.— *Life Sci.*, 1980, 27, N 22, p. 2025—2029.
13. Hashimoto K., Yunoki S., Kageyama G. et al. Vasopressin and CRF-ACTH in adrenalectomized and dexamethasone-treated rats.— *Neuroendocrinology*, 1981, 32, N 2, p. 87—91.
14. Jones M., Hillhouse E., Burden J. Effect of various putative neurotransmitters on the secretion of corticotrophin-releasing hormone from the rat hypothalamus *in vitro*.— A model of the neurotransmitters involved.— *J. Endocrinol.*, 1976, 69, N 1, p. 1—10.
15. Jones M., Birmingham M., Gillham B. et al. The effect of cyproheptadine on the release of corticotrophin-releasing factor.— *Clin. Endocrinol.*, 1979, 10, N 2, p. 203—205.
16. Kriger D. T. Cyproheptadine-induced remission of Cushing's disease.— *New Engl. J. Med.*, 1975, 293, N 18, p. 893—896.
17. Makara G., Stark E. Effect of gamma-aminobutyric acid (GABA) and GABA antagonist on ACTH release.— *Neuroendocrinology*, 1974, 16, N 3/4, p. 178—190.

Киев. ин-т эндокринологии и обмена веществ

Поступила 12.11.83

УДК 616—056.52:616.379—008.64—092.9

Я. А. Лазарис, Р. С. Гольдберг, М. П. Козлов

## САХАРНЫЙ ДИАБЕТ ПРИ ГИПОТАЛАМИЧЕСКОМ ОЖИРЕНИИ

Повреждение и деафферентация вентромедиальных ядер гипоталамуса (ВМЯГ) у крыс сопровождаются развитием гиперинсулинемии, гиперфагии и ожирения [2, 6, 16]. Увеличивается площадь панкреатических островков и объем ядер бета-клеток, повышается их функциональная активность [7, 8, 22]. Повреждение гипоталамуса у крыс с интактной поджелудочной железой крайне редко завершается сахарным диабетом. Описано по одному случаю диабета из большого количества оперированных крыс, возникшего через 1 год [13] и на 106 день [18] после разрушения ВМЯГ. Наблюдали развитие диабета у одной из 50 [20] и у трех из семи [17] обезьян с гипоталамическим ожирением. В то же время подчеркивают, что лабораторные обезьяны вообще склонны к ожирению, и у них нередко наблюдаются глюкозурия и гипергликемия без повреждения гипоталамуса [17]. Известен случай сахарного диабета и других обменных нарушений у женщины 20 лет, которые возникли при опухоли, сопровождавшейся разрушением области ВМЯГ [21]. Полагают, что сами по себе психические и физические травмы при здоровых бета-клетках лишь очень редко могут вызвать их ослабление [5]. Сахарный диабет развивается чаще в пожилом и старческом возрасте. В старости, даже в условиях высокого содержания инсулина, может возникнуть инсулиновая недостаточность организма [11].

Целью работы явилось выяснение возможной частоты возникновения сахарного диабета у крыс с гипоталамическим ожирением и установление ее зависимости от возраста животных.

**Методика.** Работа выполнена на взрослых (5—6 мес) и старых (26—28 мес) белых крысах-самках. Симметричное двустороннее электролитическое повреждение ВМЯГ у 105 животных производили с помощью стереотаксического аппарата постоянным током 2 мА в течение 15 с. Координаты введения электродов рассчитывали по атласу [15]. В качестве контрольных были использованы 30 интактных крыс. Воду и пищу вивария, содержащую по калорийности 75—80 % углеводов, животные получали в неограниченном количестве. Сахар в крови определяли ортотолуидиновым методом, в моче — по

Бенедикту, ацетоновые тела в моче — пробой Ланге, уровень иммунореактивного инсулина (ИРИ) в сыворотке — радиоиммунологическим методом двойных антител, толерантность к углеводам — интраперитонеальной нагрузкой глюкозой (0,2 г/100 г). Различные показатели жирового обмена (общие липиды, общий холестерин, бета-липопротеиды, триглицериды, СЖК) определяли общепринятыми методами [9]. Наличие ожирения устанавливали путем определения индекса Ли, в случаях ожирения его величина превышала 0,300 [12]. Кусочки поджелудочной железы фиксировали в жидкости Буэна. Срезы толщиной 4—5 мкм окрашивали альдегидфуксином по Гомори [10], на параллельных срезах осуществляли гистохимическое определение инсулина с помощью специфической псевдоизоцианиновой реакции [14]. Оба метода позволяют составить представление о наличии инсулина в бета-инсулоцитах. Показателями функционального состояния панкреатических островков служили: объем ядер бета-клеток, вычисленный после измерения двух диаметров окулярмикрометром [19], процентное отношение площади островковой ткани к площади всей ткани железы, количество бета-клеток в островке. Полученные цифровые данные обработаны методами вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** После операции на гипоталамусе количество и калорийность суточного рациона опытных животных в среднем были в 1,4—1,8, а в ряде случаев и в 2,3—2,8 раза большими, чем у здоровых. Спустя сутки после повреждения ВМЯГ масса тела крыс увеличилась на  $(12,0 \pm 1,3)$  г. Длительное перекармливание привело к развитию ожирения, которое проходило две фазы. В динамическую фазу длительностью 30—60 дней происходило интенсивное нарастание массы тела. У многих животных через месяц прибавка достигала 300 г и более. В статическую фазу потребление пищи приближалось к нормальному, и масса тела продолжала нарастать незначительно. Индекс Ли при наиболее выраженном ожирении достигал 0,350—0,395.

**Таблица 1.** Содержание липидов в сыворотке крови у крыс с гипоталамическим ожирением

| Серия опытов              | число крыс | общие липиды    | бета-липопротеиды | общий холестерин | фосфолипиды     | триглицериды    | свободные жирные кислоты |
|---------------------------|------------|-----------------|-------------------|------------------|-----------------|-----------------|--------------------------|
|                           |            | г/л             |                   | ммоль/л          |                 |                 |                          |
| Интактные                 | 10         | $2,01 \pm 0,08$ | $0,40 \pm 0,03$   | $1,70 \pm 0,11$  | $1,66 \pm 0,18$ | $0,55 \pm 0,04$ | $0,60 \pm 0,05$          |
| Гипоталамическое ожирение | 12         | $4,31 \pm 0,27$ | $0,79 \pm 0,07$   | $3,32 \pm 0,28$  | $2,23 \pm 0,25$ | $2,48 \pm 0,24$ | $0,73 \pm 0,06$          |
|                           | <i>p</i>   | $<0,001$        | $<0,01$           | $<0,05$          | $<0,02$         | $<0,02$         | $<0,2$                   |

Гипоталамическое ожирение сопровождалось прогрессирующими нарушениями жирового обмена. В сыворотке крови тучных животных после 18 ч голода было значительно повышено содержание большинства фракций липидов. Общие липиды и общий холестерин возросли в 2 раза, более чем в 1,5 раза — бета-липопротеиды, в 4 раза — уровень триглицеридов (табл. 1). В конце опыта у всех ожиревших крыс наблюдали жировую дистрофию клеток печени.

Само оперативное вмешательство на гипоталамусе существенно не отражалось на высоте гликемии. Уровень сахара крови продолжительное время не изменялся. Только у части животных спустя 4—5 мес после операции перекармливание завершилось повышением среднемесячного содержания глюкозы в крови (табл. 2). Повреждение ВМЯГ приводило к значительному повышению уровня ИРИ (табл. 2). В условиях перекармливания с 50—75 дня происходило медленное снижение толерантности к глюкозе. К 150 дню опыта у большинства крыс,  $(61,9 \pm 10,0) \%$ , наблюдали скрытые нарушения углеводного обмена, которые у взрослых, но более молодых животных очень редко завершались развитием

явного диабета. Снижение толерантности к глюкозе на фоне резко возросшего содержания в крови инсулина могло свидетельствовать о развитии инсулинорезистентности.

Стойкий сахарный диабет возник у 15 ожиревших крыс (14,3 %). Из них 14 были старыми и только № 76 — более молодой, взрослой (табл. 3). Развитие диабета наступало на 36—55 день после повреждения ВМЯГ, только у двух животных заболевание возникло на 8 (№ 135) и на 19 (№ 7) день. Следует отметить, что это были наиболее старые крысы. Результаты многократного определения сахара в крови у больных диабетом животных и их общее состояние свидетельствовали о том, что заболевание протекало различно. У крысы № 135 его течение было наиболее тяжелым. Начиная с 15 дня заболевания гликемия превысила 27,8 ммоль/л. С этого же времени масса тела, которая достигла к 14 дню болезни (22 день после повреждения ВМЯГ) 520 г, в последующие 7 дней резко снизилась, потеря составила 140 г. На 20 день заболевания в моче появился ацетон. На 21 день в состоянии тяжелой диабетической комы она была умерщвлена. Крыса № 7, диабет у которой развился на 19 день после операции на гипоталамусе, болела почти 2 мес. Несмотря на то, что гликемия у нее была достаточно высокой (табл. 3), масса тела начала снижаться только последние 2 нед заболевания. В связи с развившейся пневмонией крыса была умерщвлена на 58 день заболевания (77 день наблюдения). Наиболее продолжительно течение болезни удалось проследить у двух животных — у № 40—90 и у № 72—80 дней. За это время масса их тела снизилась соответственно на 275 и 210 г. Почти на всем протяжении заболевания состояние этих животных было удовлетворительным, хотя гликемия в отдельные дни у них превышала 22,2 ммоль/л (табл. 3). Обе крысы были умерщвлены в связи с развившейся пневмонией. У зрелой, но более молодой крысы № 76 диабет возник значительно позже — на 86 день после операции и протекал легко. У остальных 10 животных заболевание было средней тяжести (табл. 3). В связи с присоединившейся инфекцией крыс умерщвляли в разные сроки. Крысы № 91 и 153 погибли в результате множественных абсцессов в легких.

Таблица 2. Содержание сахара и ИРИ в крови у крыс с гипоталамическим ожирением

| Месяц опыта | Интактные (n=11)    | Гипоталамическое ожирение  |                       |
|-------------|---------------------|----------------------------|-----------------------|
|             | сахар крови ммоль/л | сахар крови ммоль/л (n=21) | ИРИ, мкМЕ/мл (n=14)   |
| 1           | 4,7±0,11            | 4,9±0,18                   | 77,0±12,0*            |
| 2           | 4,5±0,16            | p >0,1<br>4,9±0,08         | <0,001<br>127,9±22,2* |
| 3           | 4,8±0,14            | p >0,02<br>4,8±0,13        | <0,001<br>98,8±14,5*  |
| 4           | 4,7±0,17            | p >0,5<br>4,9±0,15         | <0,001<br>101,0±16,8* |
| 5           | 4,3±0,15            | p >0,2<br>5,3±0,23         | <0,001<br>129,0±23,6* |
|             |                     | p <0,01                    | <0,001                |

\* Сравнительно со средней величиной для 27 здоровых крыс, (28,7±1,3) мкМЕ/мл

У животных с гипоталамическим ожирением и тяжелыми нарушениями жирового обмена наступала разной степени выраженности морфологическая перестройка поджелудочной железы. Имела место мощная гипертрофия и гиперплазия островков. В то время как наибольший диаметр островков здоровых крыс не превышал 50—150 мкм, у тучных часто встречались островки диаметром 500—700 мкм. На высокую степень напряжения инсулиногенной функции поджелудочной железы ука-

Т а б л и ц а 3. Динамика изменения сахара в крови и массы тела у 15 крыс с сахарным диабетом

| № опыта | Масса тела, г |                |             | День выявления диабета | Продолжительность болезни | Общая продолжительность жизни | Сахар крови, ммоль/л |                                                                                                                                                                           |     |
|---------|---------------|----------------|-------------|------------------------|---------------------------|-------------------------------|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
|         | исходный      | начало диабета | конец опыта |                        |                           |                               | исходный             | в скобках день определения                                                                                                                                                |     |
|         |               |                |             |                        |                           |                               |                      |                                                                                                                                                                           | дни |
| 7       | 335           | 530<br>(590)   | 400         | 19                     | 58                        | 77                            | 5,0                  | 4,8 (4) 5,2 (15) 10,8 (19) 13,2 (25) 21,2 (37) 21,8 (42) 23,8 (47) 25,1 (54) 26,6 (58) 27,0 (61) 22,2 (70) 14,3 (77)                                                      |     |
| 40      | 280           | 560            | 285         | 48                     | 90                        | 138                           | 4,8                  | 4,6 (5) 4,7 (13) 5,5 (22) 5,8 (36) 13,9 (48) 18,8 (51) 23,1 (53) 28,0 (59) 26,4 (67) 21,2 (75) 20,0 (81) 19,5 (95) 21,5 (105) 21,3 (113) 25,7 (119) 15,0 (113) 14,4 (138) |     |
| 47      | 310           | 620            | 640         | 49                     | 29                        | 78                            | 5,1                  | 5,2 (6) 4,9 (12) 4,8 (18) 5,3 (25) 5,2 (32) 9,1 (49) 11,9 (55) 10,8 (60) 11,6 (69) 13,6 (74) 10,5 (78)                                                                    |     |
| 50      | 280           | 620            | 500         | 55                     | 49                        | 104                           | 4,7                  | 4,9 (4) 4,9 (13) 5,4 (27) 5,2 (33) 5,0 (44) 12,7 (55) 15,6 (66) 20,9 (69) 16,6 (76) 15,5 (86) 12,4 (96) 9,2 (102) 11,4 (104)                                              |     |
| 68      | 275           | 520<br>(610)   | 585         | 54                     | 68                        | 122                           | 4,7                  | 4,8 (4) 4,7 (14) 4,9 (27) 4,6 (42) 8,2 (54) 8,9 (61) 7,8 (73) 8,7 (78) 11,9 (82) 8,4 (93) 9,4 (105) 11,5 (115) 9,6 (122)                                                  |     |
| 69      | 290           | 485<br>(620)   | 550         | 42                     | 71                        | 113                           | 4,5                  | 4,3 (5) 4,7 (12) 5,2 (20) 4,9 (33) 8,4 (42) 9,1 (59) 9,5 (66) 9,3 (74) 10,1 (83) 8,7 (94) 9,0 (102) 16,1 (108) 9,2 (111) 8,5 (113)                                        |     |
| 72      | 290           | 630            | 460         | 38                     | 80                        | 118                           | 4,6                  | 4,0 (3) 4,4 (14) 4,7 (25) 10,4 (38) 12,3 (47) 10,7 (56) 11,6 (63) 18,2 (71) 20,5 (80) 27,4 (91) 18,1 (105) 14,1 (108) 15,5 (110) 17,1 (113) 27,6 (118)                    |     |
| 74      | 275           | 480<br>(590)   | 520         | 38                     | 51                        | 89                            | 4,9                  | 4,8 (5) 4,4 (15) 5,0 (24) 4,9 (32) 7,8 (38) 8,5 (42) 9,0 (45) 9,7 (56) 9,8 (64) 10,8 (74) 12,9 (80) 19,4 (83) 12,9 (89)                                                   |     |
| 76      | 180           | 470            | 500         | 86                     | 33                        | 119                           | 4,7                  | 4,6 (3) 4,1 (10) 4,9 (22) 5,0 (39) 4,8 (43) 5,1 (43) 4,7 (55) 4,9 (63) 5,4 (79) 8,7 (86) 7,8 (90) 8,3 (98) 9,7 (102) 9,0 (112) 9,2 (119)                                  |     |
| 91      | 290           | 620            | 570         | 36                     | 10                        | 46                            | 4,8                  | 4,7 (4) 5,1 (12) 4,9 (25) 5,4 (30) 10,0 (35) 12,3 (37) 21,5 (39) 22,2 (43) 26,6 (45) погибла (46)                                                                         |     |
| 135     | 320           | 370<br>(520)   | 380         | 8                      | 21                        | 29                            | 5,1                  | 4,9 (3) 23,0 (8) 12,8 (10) 17,0 (14) 11,0 (17) 12,5 (21) 30,6 (23) 28,5 (28) 32,3 (29)                                                                                    |     |
| 153     | 265           | 495            | 500         | 37                     | 33                        | 70                            | 4,9                  | 4,8 (5) 4,9 (14) 5,1 (23) 8,9 (37) 10,7 (45) 10,2 (52) 11,5 (63) 15,2 (68) 19,6 (70) погибла                                                                              |     |
| 210     | 310           | 670            | 660         | 37                     | 25                        | 62                            | 4,8                  | 4,8 (4) 5,2 (16) 5,0 (25) 15,9 (37) 8,7 (41) 9,4 (44) 11,4 (47) 9,4 (50) 12,9 (56) 16,9 (59) 17,6 (62)                                                                    |     |
| 216     | 285           | 540            | 410         | 45                     | 34                        | 79                            | 4,8                  | 4,6 (4) 4,4 (12) 4,9 (22) 4,9 (36) 8,3 (45) 13,6 (48) 13,9 (60) 19,2 (64) 20,3 (66) 23,0 (70) 20,1 (73) 23,6 (76) 26,4 (78) 21,5 (79)                                     |     |
| 237     | 280           | 530            | 430         | 46                     | 27                        | 73                            | 4,6                  | 4,9 (3) 4,7 (13) 5,0 (27) 4,9 (33) 5,4 (44) 10,7 (46) 14,5 (50) 16,2 (55) 14,1 (62) 9,4 (69) 10,2 (73)                                                                    |     |

Цифры в скобках—максимальная величина массы тела

зывали и данные морфометрического анализа. При гипоталамическом ожирении значительно возросла площадь островковой ткани —  $(3,11 \pm 0,5) \%$ , в контроле  $(0,70 \pm 0,1) \%$ . Увеличился также и объем ядер бета-клеток до  $(50,39 \pm 0,75) \text{ мкм}^3$ , в контроле  $(37,83 \pm 1,28) \text{ мкм}^3$ .

В большинстве случаев манифестного диабета (у 10 крыс), развившегося на фоне гипоталамического ожирения, наступала выраженная дезорганизация инсулярного аппарата. Встречались гипертрофированные бета-инсулоциты с вакуолизированной цитоплазмой, в перинуклеарной зоне таких клеток наблюдали пылевидную альдегидфуксиновую грануляцию, слабо люминесцирующую при метахроматической реакции с псевдоизоцианином. Среднее количество сохранивших морфологическую целостность бета-клеток в больших островках составляло  $1,1 \pm 0,3$ . У крысы № 40 с наиболее продолжительным диабетом, оно было еще меньшим —  $0,6 \pm 0,08$ . В островках нередко встречались клетки с пикнотическим ядром. Отмечались дистрофические и выраженные некротические изменения клеток, фиброз и жировая инфильтрация островков. Площадь островковой ткани больных диабетом крыс была в 2,3 раза меньше —  $(1,33 \pm 0,1) \%$ , чем у остальных животных с гипоталамическим ожирением.

В результате проведенных исследований нам удалось воспроизвести при гипоталамическом ожирении сахарный диабет у достаточно большого количества животных. Следует подчеркнуть, что при обследовании на протяжении многих лет огромного числа интактных крыс мы ни разу не встретили случаев спонтанного диабета или ожирения. Описанное явление, которое не наблюдали до сих пор другие исследователи, можно объяснить тем, что разрушение ВМЯГ чрезвычайно быстро приводит к развитию гиперинсулинемии, гиперфагии и массивному ожирению. Отложение большого количества жира в условиях преимущественно углеводного питания требует секреции повышенного количества инсулина, которая возможна лишь при значительном напряжении инсулиногенной функции. Однако бета-клетки необычайно выносливы и способны переносить чрезвычайные перегрузки. Полагают, что даже систематическое перекармливание само по себе не может вызвать диабет у тучных [4]. Мы считаем, что развитие сахарного диабета, обнаруженное нами у большого числа животных ( $14,3 \%$ ), в отличие от единичных случаев, которые описаны в мировой литературе [13, 18, 20], связано с тем, что в опытах были использованы старые животные. У старых крыс нормализация уровня сахара в крови, даже при умеренной углеводной нагрузке, достигается ценой значительного напряжения функции бета-инсулоцитов [3] в связи с уменьшением потенциальных возможностей поджелудочной железы [1]. При длительной интенсивной активации инсулярного аппарата, инфильтрации островков жиром и развитии инсулинорезистентности, которые имели место в результате повреждения ВМЯГ, создались условия для более быстрого истощения бета-клеток и возникновения сахарного диабета.

Ya. A. Lazaris, R. S. Goldberg, M. P. Kozlov

#### DIABETES MELLITUS IN THE CASE OF HYPOTHALAMIC OBESITY

The frequency of diabetes mellitus occurrence ( $14.3 \%$ ) was determined in 105 obese rats after affection of the ventromedial hypothalamus nuclei by constant current of 2 mA for 15 s. It was established that diabetes mellitus occurred almost exclusively in old animals with reduced reserve potentialities of the insulinogenic apparatus. Hypothalamic obesity was accompanied by developing disorders of fat-carbohydrate metabolism, long-term activation of the insulenic tissue with its subsequent fat infiltration and morphological rearrangement of the incretory pancreas area.

Medical Institute, Caraganda