

УДК 577.17

©Коллектив авторов

**СНИЖЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ И
ГЕТЕРОТРИМЕРНЫХ G-БЕЛКОВ К ДЕЙСТВИЮ ХОРИОНИЧЕСКОГО
ГОНАДОТРОПИНА И ПЕПТИДНЫХ ГОРМОНОВ В ТКАНЯХ
РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ
ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА**

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

Учреждение Российской академии наук Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова, 194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44;
факс: +7 (812) 552 30 12; эл. почта: alex_shpakov@list.ru

У людей, страдающих различными формами диабета, в том числе инсулин-независимым диабетом 2-го типа, наблюдается широкий спектр нарушений функций репродуктивной системы. Предполагается, что первопричиной таких нарушений является изменение чувствительности тканей репродуктивной системы к регуляторному действию гормонов. Цель работы состояла в идентификации таких изменений в функционировании чувствительной к хорионическому гонадотропину человека (ХГЧ) и пептидным гормонам аденилатциклазной сигнальной системы (АЦС) в яичниках, тестисах и тканях матки крыс с неонатальным стрептозотоциновым (СТЗ) диабетом, имеющим черты сходства с диабетом 2-го типа человека. Исследовали влияние ХГЧ, РАСАР-38 и релаксина, реализующих свои эффекты через G-белки стимулирующего типа (G_s), и соматостатина, действующего через G-белки ингибирующего типа (G_i), на активность аденилатциклазы (АЦ) и GTP-связывание G-белков. У крыс со СТЗ диабетом 2-го типа регуляторные эффекты ХГЧ и РАСАР-38 были снижены в яичниках и тестикулах, соматостатина – во всех исследованных тканях (в наибольшей степени в матке). Это выражалось в ослаблении эффектов гормонов на активность АЦ, стимулирующих в случае ХГЧ и РАСАР-38 и ингибирующих в случае соматостатина, и в снижении стимуляции ими GTP-связывания. В то же время не было выявлено существенного снижения чувствительности АЦС в тканях диабетических животных к релаксину. Совокупность полученных данных указывает на то, что одной из ключевых причин нарушений репродуктивных функций при экспериментальном диабете 2-го типа является снижение чувствительности АЦС к действию гормонов – ХГЧ, РАСАР-38 и соматостатина, играющих важную роль в функционировании репродуктивной системы.

Ключевые слова: аденилатциклаза, диабет, репродуктивная система, соматостатин, хорионический гонадотропин, G-белок.

Принятые сокращения: АЦ – аденилатциклаза; АЦС – аденилатциклазная сигнальная система; ЛГ – лютеинизирующий гормон; СТЗ – стрептозотоцин; ХГЧ – хорионический гонадотропин человека; G_s и G_i – гетеротримерный G-белок стимулирующего или ингибирующего типа, соответственно; РАСАР – Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide.

* - адресат для переписки

ВВЕДЕНИЕ. Сахарный диабет 2-го типа, характерной особенностью которого является резистентность к инсулину, приводит к развитию широкого спектра заболеваний репродуктивной системы, в том числе к синдрому поликистозных яичников у женщин [1, 2] и гипогонадизму у мужчин [3]. Предполагается, что основными причинами этих заболеваний являются нарушения регуляции гонадотропинами и их рилизинг-факторами функций репродуктивной системы, возникающих в условиях инсулиновой резистентности. При диабете 2-го типа у женщин наблюдается снижение уровня эстрогенов на фоне повышения уровня андрогенов, что ведет к развитию андрогенитального синдрома, в то время как у мужчин, наоборот, снижается уровень тестостерона и стероид-связывающих белков, что ведет к андрогенной недостаточности. Следствием таких гормональных сдвигов является подавление процессов овуляции у женщин и сперматогенеза у мужчин, что, в конечном итоге, вызывает бесплодие. Лечение женщин, страдающих диабетом 2-го типа, метформином и тиазолидиндионами приводит не только к коррекции гормональных и метаболических нарушений, ассоциированных с диабетом, но также и к частичному восстановлению у них репродуктивных функций [2].

В пользу того, что нарушения в гормональных сигнальных системах являются одной из первопричин развития заболеваний, возникающих в условиях диабета, свидетельствуют как наши данные, так и результаты, полученные другими авторами [4–13]. Так нами показано, что при стрептозотоциновом (СТЗ) диабете 1-го и 2-го типа наблюдается снижение чувствительности аденилатциклазной сигнальной системы (АЦС) к регуляторному действию гормонов в скелетных мышцах, миокарде и мозге диабетических крыс. При этом в наибольшей степени ослабляется передача гормональных сигналов, осуществляемых через G-белки ингибирующего типа (G_i -белки), в то время как передача сигналов, реализуемых через G-белки стимулирующего типа (G_s -белки), меняется в меньшей степени. Возможными причинами выявленных нарушений могут быть как снижение экспрессии компонентов АЦС, так и нарушение функционального взаимодействия между ними в процессе передачи гормонального сигнала [4–7].

Следует, однако, отметить, что общая картина нарушений, возникающих при диабете 2-го типа в чувствительной к гормонам АЦС, в настоящее время отсутствует, а лежащие в их основе молекулярные механизмы изучены недостаточно. Это в полной мере относится к гормоночувствительной АЦС в тканях репродуктивной системы в условиях диабета 2-го типа. Большинство работ ограничены определением уровня гормонов в организме страдающих диабетом 2-го типа людей, изучением процессов их секреции и метаболизма, а также некоторых конечных эффектов гормонов на клетки и ткани, в то время как процессы передачи сигнала через АЦС и другие гормональные сигнальные системы остаются вне поля зрения исследователей. Одной из возможных причин этого являются трудности с подбором адекватной экспериментальной модели диабета 2-го типа, которую можно использовать для исследования функциональной активности гормональных сигнальных систем. Эти трудности нам удалось преодолеть, выбрав недавно разработанную неонатальную модель СТЗ диабета, который имеет черты сходства с инсулин-независимым диабетом 2-го типа человека [14].

Цель исследования состояла в выявлении нарушений в передаче гормонального сигнала через регулируемую гонадотропинами и пептидными гормонами АЦС в тканях репродуктивной системы крыс с неонатальной моделью СТЗ диабета. Изучали влияние хорионического гонадотропина человека (ХГЧ), являющегося структурным и функциональным гомологом лютеинизирующего гормона (ЛГ), и пептидных гормонов релаксина, PACAP (Pituitary Adenylyl Cyclase-Activating Polypeptide) и соматостатина на функциональную активность АЦС в яичниках,

тестикулах и матке диабетических крыс в сравнении с контрольными животными. Следует отметить, что ХГЧ, релаксин и РАСАР действуют на активность аденилатциклазы (АЦ) в тканях репродуктивной системы в основном через G_s -белки, в то время как соматостатин – через G_i -белки [15–20].

МЕТОДИКА. Исследования проводили на крысах линии Wistar возраста 180 дней. Изучали две группы животных с неонатальным СТЗ диабетом – самцов ($n = 10$, масса тела 425 ± 50 г) и самок ($n = 9$, масса тела 405 ± 55 г) в сравнении с двумя группами контрольных животных – самцов ($n = 14$, масса тела 335 ± 40 г) и самок ($n = 9$, масса тела 320 ± 35 г). Неонатальный СТЗ диабет вызывали введением стрептозотоцина (“Sigma”, США) новорожденным 1-2-сут крысятам в дозе 80 мг/кг веса животного [14]. Развитие диабета подтверждали в тесте на толерантность к глюкозе при исследовании сахарной кривой и наличием глюкозурии. У крыс с диабетом концентрация глюкозы в крови через два часа после введения натошак 20%-ного раствора глюкозы составила $14,9 \pm 2,3$ (самцы) и $13,8 \pm 3,0$ мМ (самки). У всех диабетических крыс была выраженная глюкозурия.

В работе использовали гормоны – ХГЧ, соматостатин (“Sigma”), РАСАР-38 (“Calbiochem”, Англия). Релаксин-2 свиньи был любезно предоставлен профессором O.D. Sherwood (США). Другие реактивы получены от фирм “Sigma” и “Reanal” (Венгрия). Для определения активности АЦ использовали $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ (30 Ки/ммоль), для определения GTP-связывания G-белков – β, γ -имидо[8- ^3H]-гуанозин-5'-трифосфат ([8- ^3H]GppNHp) (5 Ки/мМ) (“Amersham”, Англия).

Частично очищенные фракции плазматических мембран яичников, тестикул и матки крыс получали следующим образом. Измельченные ткани гомогенизировали на холоде в 40 мМ Tris-HCl-буфере, pH 7,5, содержащем 5 мМ MgCl_2 и 0,32 М сахарозу (буфер А). Гомогенат центрифугировали при 1500 g в течение 10 мин, после чего супернатант центрифугировали при 20000 g в течение 30 мин. Полученный осадок ресуспендировали в буфере А (без сахарозы) и повторно центрифугировали в том же режиме. Осадок, содержащий плазматические мембраны, ресуспендировали в буфере А (без сахарозы) и использовали для экспериментов.

Активность АЦ определяли, как описано ранее [11]. Инкубацию фракций плазматических мембран в реакционной смеси проводили при 37°C в течение 10 мин. Активность АЦ оценивали по количеству образовавшегося в результате ферментативной реакции сАМР. Определение GTP-связывания G-белков проводили, как описано ранее [21], используя нитроцеллюлозные фильтры, тип НА, 0,45 мкм (“Millipore”, США). Специфическое GTP-связывание определяли как разность между связыванием меченого [8- ^3H]Gpp[NH]p в пробе в отсутствие и в присутствии 10 мМ GTP.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием компьютерной программы “ANOVA”. Каждый эксперимент был выполнен 3-кратно. Данные представлены в виде средней \pm ошибки средней (SEM) нескольких независимых экспериментов. Различия между контрольными пробами и пробами, подвергавшимися воздействию гормонов, оценивали как достоверные при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Базальная активность АЦ в яичниках, тестикулах и тканях матки контрольных крыс составила 68 ± 7 , 105 ± 9 и 138 ± 12 пмоль сАМР/мин на 1 мг мембранного белка. У крыс с неонатальным СТЗ диабетом 2-го типа она была снижена в яичниках (56 ± 5 пмоль сАМР/мин на 1 мг белка) и тестикулах (81 ± 11 пмоль сАМР/мин на 1 мг белка), но в тканях матки практически не отличалась от значений базальной активности фермента в контрольной группе животных (132 ± 15 пмоль сАМР/мин на 1 мг белка). Стимулирующий АЦ эффект негидролизуемого аналога GTP, GppNHp (10^{-5} М), который является активатором гетеротримерных G-белков, в яичниках, тестикулах и тканях матки контрольных крыс составил 137, 114 и 218%, в то время как

РЕГУЛЯТОРЫ РЕЦЕПТОРОВ ПОЛИПЕПТИДНЫХ ГОРМОНОВ

у диабетических животных он был заметно ниже – 110, 83 и 167%, соответственно. Базальный уровень GTP-связывания G-белков в яичниках, тестикулах и, в меньшей степени, в тканях матки диабетических крыс был также снижен по сравнению с контрольными животными (таблица). Совокупность этих данных свидетельствует о нарушении функций гетеротримерных G-белков при СТЗ диабете 2-го типа. Причинами этого могут быть как нарушение функциональной активности G-белков, так и снижение их экспрессии при диабете 2-го типа. Стимулирующие АЦ эффекты форсколина (10^{-5} М), непосредственно взаимодействующего с каталитическим сайтом АЦ, у контрольных и диабетических крыс практически не различаются (данные не представлены), что указывает на отсутствие снижения при экспериментальном диабете 2-го типа функциональной активности фермента АЦ, каталитического компонента АЦС.

Таблица. Влияние гормонов на GTP-связывание в яичниках, тестикулах и тканях матки крыс с неонатальной стрептозотоциновой моделью диабета 2-го типа в сравнении с контрольными животными.

Гормональное воздействие	GTP-связывание, пмоль $[8-^3\text{H}]\text{GppNHp}$ на 1 мг мембранного белка					
	Яичники		Тестикулы		Ткани матки	
	Контроль	Диабет	Контроль	Диабет	Контроль	Диабет
Без гормона	1,22±0,11 (100)*	1,01±0,08 (100)	1,45±0,13 (100)	1,11±0,10 (100)	2,17±0,18 (100)	2,06±0,17 (100)
ХГЧ, 10^{-9} М	3,07±0,36 (252)	2,03±0,34 (201)	4,04±0,40 (279)	2,29±0,31 (206)	3,37±0,29 (155)	3,01±0,17 (146)
РАСАР-38, 10^{-8} М	3,16±0,19 (259)	2,27±0,30 (225)	3,87±0,28 (267)	2,12±0,20 (191)	3,10±0,17 (143)	2,88±0,23 (140)
Релизин, 10^{-8} М	1,84±0,22 (151)	1,50±0,14 (149)	2,15±0,23 (148)	1,67±0,19 (150)	4,62±0,34 (213)	4,22±0,38 (205)
Соматостатин, 10^{-7} М	1,49±0,08 (122)	1,12±0,13 (111)	2,17±0,14 (150)	1,32±0,08 (119)	3,75±0,26 (173)	2,43±0,31 (118)

Примечание: * - GTP-связывание G-белков в процентах (GTP-связывание в отсутствие гормона принято за 100 %).

В яичниках, тестикулах и матке контрольных крыс ХГЧ стимулировал активность АЦ и GTP-связывание G-белков, в наибольшей степени – в тестикулах (рис. 1, таблица), что согласуется с данными других авторов о стимулирующем влиянии ХГЧ и родственного ему ЛГ на АЦС в тканях репродуктивной системы человека и животных, которое осуществляется через посредство активации ими G_s -белков [18]. У диабетических животных стимулирующие АЦ и GTP-связывание эффекты ХГЧ были отчётливо снижены в яичниках и тестикулах, но мало отличались от таковых в тканях матки контрольных животных. При этом в яичниках не только снижался максимальный стимулирующий АЦ эффект ХГЧ (на 30%), но и существенно повышалось значение EC_{50} для него (с 0,019 до 0,064 нМ). Причиной этого, как мы полагаем, является нарушение функционального сопряжения между рецептором ЛГ, с которым связывается ХГЧ, и G_s -белком, что сопровождается снижением сродства рецептора к гормону. Подтверждением этому служат полученные нами ранее данные о том, что в основе ослабления передачи генерируемого биогенными аминами и пептидными гормонами сигнала через АЦС в мышечных тканях и мозге крыс со СТЗ диабетом 1-го и 2-го типа лежит нарушение функционального взаимодействия между гормональными рецепторами и гетеротримерными G-белками [8–13].

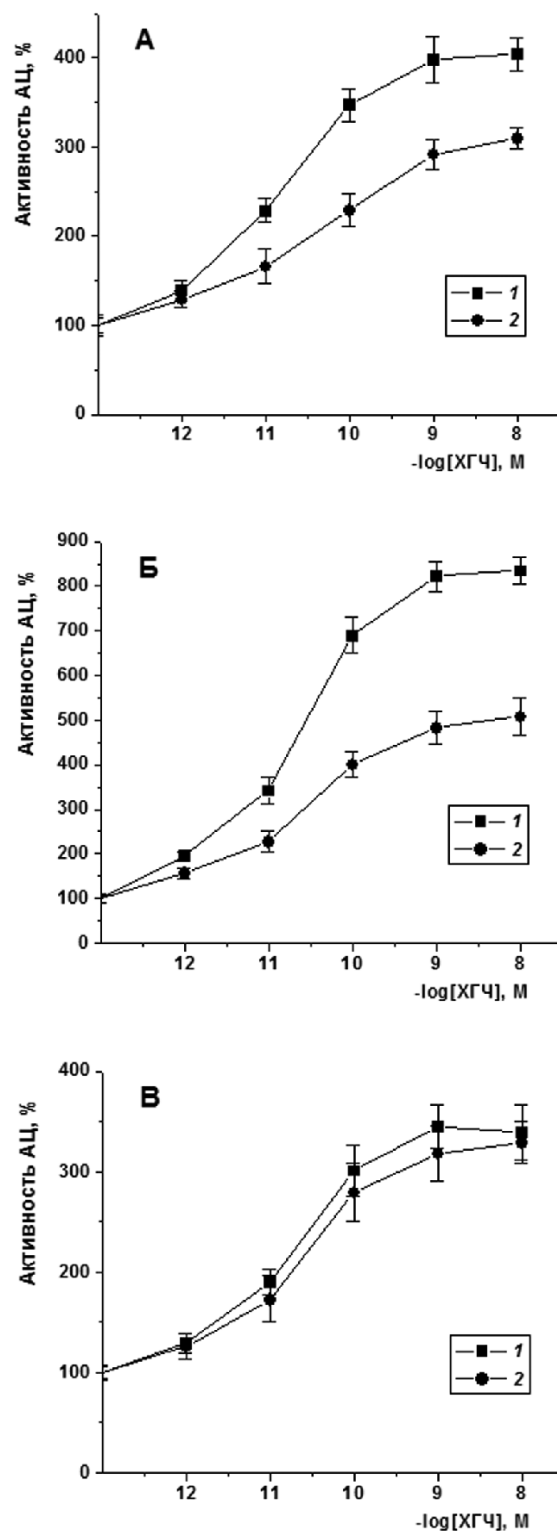


Рисунок 1.

Стимулирующие АЦ эффекты хорионического гонадотропина человека в яичниках (А), тестикулах (Б) и тканях матки (В) контрольных крыс и крыс с неонатальным СТЗ диабетом. 1 – контрольные крысы; 2 – диабетические крысы. По оси ординат – стимулирующий АЦ эффект гормона, %; по оси абсцисс – отрицательный логарифм концентрации гормона, М.

Таким образом, нами показано, что при СТЗ диабете 2-го типа наблюдается ослабление влияния гонадотропинов на АЦС в яичниках и тестикулах, являющихся основными мишенями их регуляторного действия. Вероятно, со снижением чувствительности АЦС к гонадотропинам связан и широкий спектр нарушений контролируемых этими гормонами функций репродуктивной системы как у людей, страдающих диабетом 1-го и 2-го типа, так и у крыс с различными экспериментальными моделями диабета [22, 23]. Наиболее частыми среди них являются нарушения процессов сперматогенеза и фолликулогенеза, которые сопровождаются изменением содержания стероидных гормонов и их предшественников, синтез которых контролируется гонадотропинами через посредство сАМР-зависимых сигнальных каскадов [24].

На следующем этапе было изучено действие на АЦС пептидных гормонов – РАСАР-38 (протяженная форма, содержащая 38 аминокислотных остатков) и релаксина, которые регулируют важнейшие функции репродуктивной системы. Оба этих гормона, хотя и способны активировать различные сигнальные пути, большинство своих регуляторных эффектов реализуют через АЦС [15, 17, 19, 20]. Нами показано, что РАСАР-38 оказывает стимулирующее влияние на активность АЦ и GTP-связывание G-белков во всех исследованных тканях контрольных крыс, причем его эффекты, как и в случае ХГЧ, наиболее выражены в яичниках и тестикулах (рис. 2, таблица). У диабетических животных стимулирующие АЦ и GTP-связывание эффекты РАСАР-38 снижались в тестикулах и, в меньшей степени, в яичниках, но практически не менялись в тканях матки. Релаксин отчетливо стимулировал активность АЦ и GTP-связывание в тканях матки и менее эффективно влиял на компоненты АЦС в яичниках и тестикулах контрольных крыс (рис. 2, таблица). При диабете эффекты гормона менялись слабо. Таким образом, нами обнаружено отчетливо выраженное снижение чувствительности яичников и тестикул крыс со СТЗ диабетом 2-го типа к регуляторному действию РАСАР-38. В то же время чувствительность тканей матки к РАСАР-38 и всех исследованных нами тканей к релаксину при диабете мало отличалась от таковой у контрольных животных. Ранее нами было обнаружено некоторое ослабление передачи релаксинового сигнала к АЦ в сердечной мышце и мозге крыс с экспериментальным диабетом [10–13]. Однако сведения о регуляции РАСАР и релаксином АЦС в тканях репродуктивной системы при диабете до настоящего времени отсутствовали.

Большинство эффектов РАСАР реализуются через АЦС, включающую рецептор серпантинного типа (PAC_1 , $VPAC_1$ или $VPAC_2$), G_s -белок и фермент АЦ [20]. Вследствие этого, обнаруженное нами снижение чувствительности АЦС к гормону в тканях репродуктивной системы крыс с диабетом 2-го типа может быть одной из основных причин, вызывающих нарушения регулируемых РАСАР функций организма, к которым относятся контроль созревания ооцитов, ингибирование апоптоза фолликулов, регуляция синтеза и секреции стероидных гормонов [17, 20, 25, 26].

На заключительном этапе были изучены регуляторные эффекты пептидного гормона соматостатина, который в различных тканях, включая и репродуктивной системы, ингибирует активность АЦ через посредство рецепторов серпантинного типа, сопряженных с G_i -белками [16]. Для выявления ингибирующего АЦ эффекта соматостатина изучали его влияние на предварительно стимулированную форсколином активность фермента. Наиболее выраженный ингибирующий АЦ эффект гормона был выявлен в тканях матки, наименее выраженный – в яичниках (рис. 3). Наряду с этим, соматостатин стимулировал GTP-связывание, в наибольшей степени в тканях матки (таблица). Стимуляция гормоном GTP-связывания G-белков обусловлена тем, что соматостатин с высокой эффективностью активирует G_i -белки. В тканях диабетических животных как ингибирующий АЦ эффект соматостатина, так и стимуляция им GTP-связывания были в значительной степени ослаблены (рис. 3, таблица).

Эти результаты согласуются с данными, полученными как нами, так и другими авторами, о значительном повреждении сопряженных с G_i -белками сигнальных каскадов в условиях диабета [4–7, 13]. В частности, нами было обнаружено ослабление ингибирующего влияния соматостатина и D_2 -агониста бромкриптина на активность АЦС в мышечных тканях и мозге крыс с экспериментальным диабетом 1-го и 2-го типа и краткосрочной острой гипергликемией [10, 13, 27]. Выявление нарушений в передаче соматостатинового сигнала через АЦС в тканях репродуктивной системы крыс со СТЗ диабетом 2-го типа указывает на то, что возникающие при диабете нарушения в сопряженных с G_i -белками сигнальных каскадах затрагивают широкий спектр тканей и гормонов. Поскольку соматостатин вовлечен в процесс регуляции стероидогенеза и, в частности, контролирует синтез прегненолона [28], то нарушение функционирования регулируемой им АЦС также может вносить заметный вклад в развитие патологии репродуктивной системы в условиях диабета.

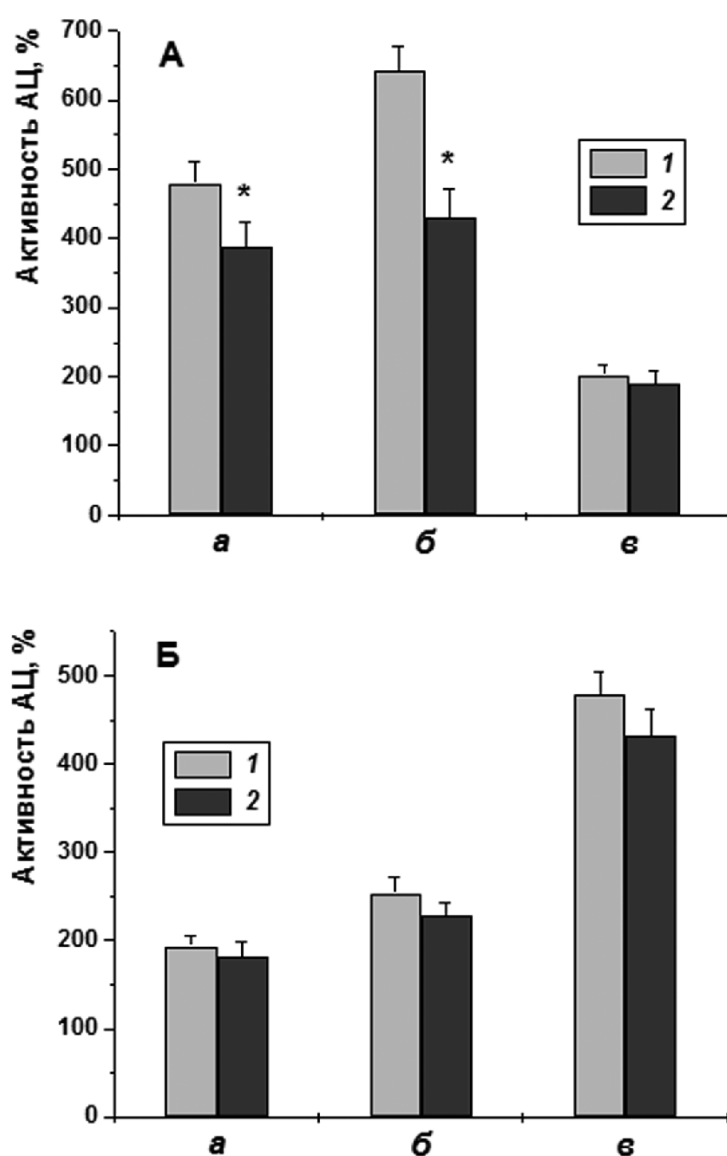


Рисунок 2.

Стимулирующие АЦ эффекты PACAP-38 (А) и релаксина (Б) в тканях репродуктивной системы контрольных и диабетических крыс. а – яичники, б – тестикулы, в – ткани матки. 1 – контрольные крысы; 2 – диабетические крысы. По вертикали – стимулирующий АЦ эффект PACAP-38 (10^{-8} М) или релаксина (10^{-8} М). * – $p < 0,05$.

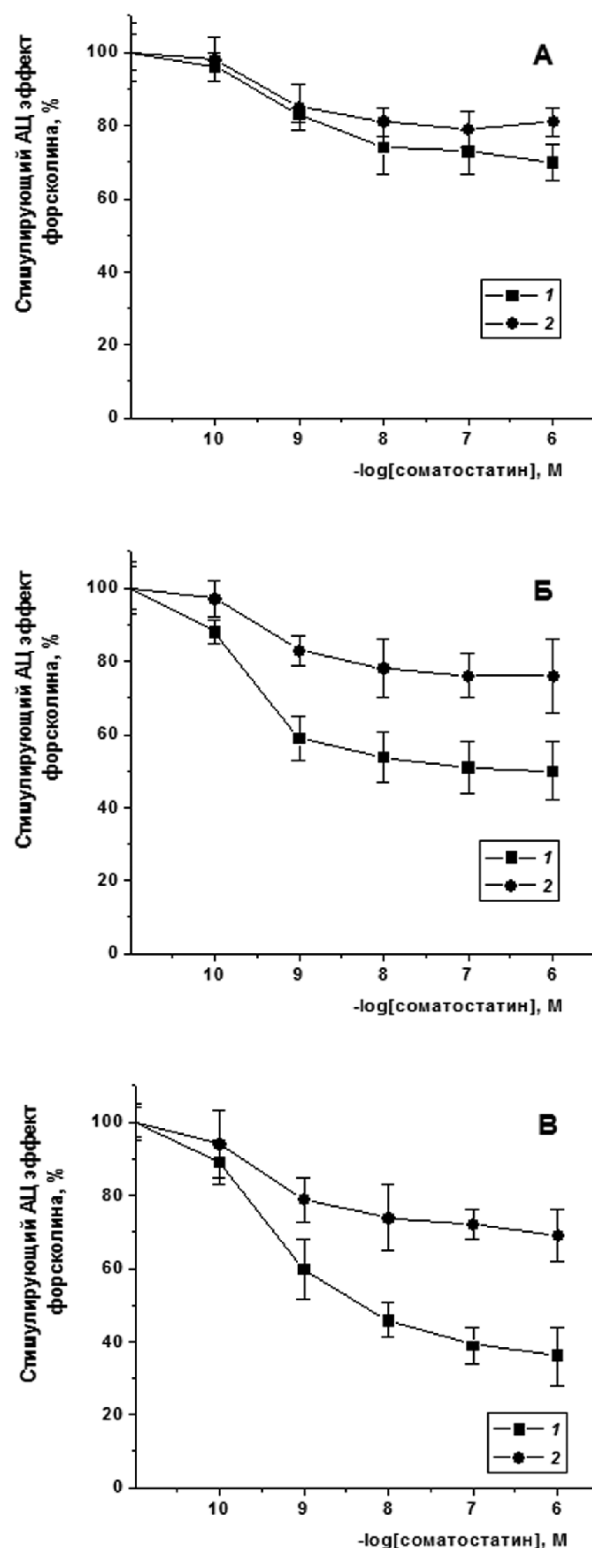


Рисунок 3.

Ингибирование соматостатином активности АЦ в яичниках (А), тестикулах (Б) и тканях матки (В) контрольных крыс и крыс с неонатальным СТЗ диабетом.

1 – контрольные крысы; 2 – диабетические крысы. По оси ординат – стимулирующий АЦ эффект 10^{-5} М форсколина, принятый за 100%; по оси абсцисс – отрицательный логарифм концентрации соматостатина, М.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Таким образом, нами впервые выявлены нарушения чувствительности АЦС к действию ХГЧ и пептидных гормонов, важнейших регуляторов функций репродуктивной системы, в яичниках, тестикулах и матке крыс с экспериментальным диабетом 2-го типа. Обнаружено, что стимулирующие АЦС эффекты ХГЧ и РАСАР-38 в значительной степени снижены в яичниках и тестикулах диабетических животных. Во всех исследованных тканях ослаблены ингибирующие активность АЦС эффекты соматостатина, что указывает на нарушение функционирования сопряженной с G_j-белками АЦС в условиях диабета. Выявленные нарушения в регулируемых ХЧГ, РАСАР-38 и соматостатином АЦ сигнальных каскадах, как мы полагаем, лежат в основе патогенетических изменений в тканях репродуктивной системы в условиях диабета 2-го типа. Наряду с этим показано, что изменения чувствительности АЦС к ХГЧ и пептидным гормонам являются ткане- и гормоноспецифичными. Так стимулирующие АЦ эффекты ХГЧ и РАСАР-38 в тканях матки при диабете изменены в незначительной степени, а соответствующие эффекты релаксина мало отличаются от контроля во всех исследованных тканях. Следует отметить, что изучение гормональной регуляции в условиях диабета является одним из важнейших направлений в диагностике и лечении дисфункций и заболеваний репродуктивной системы человека, которые возникают в условиях инсулиновой резистентности (при диабете 2-го типа) и инсулиновой недостаточности и гипергликемии (при диабете 1-го типа).

Работа поддержана Программой Президиума РАН “Фундаментальные науки – медицине” (2008–2009 гг.) и РФФИ (проекты № 06-04-48809 и № 06-04-48732).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Pelusi B., Gambineri A., Pasquali R.* (2004) *Minerva Ginecol.*, **56**, 41-51.
2. *Schroder A.K., Tauchert S., Ortmann O., Diedrich K., Weiss J.M.* (2004) *Ann. Med.*, **36**, 426-439.
3. *Fushimi H., Horie H., Inoue T., Kameyama K., Kanano K., Ishihara S.* (1989) *Diabet. Res. Clin. Pract.*, **6**, 297-301.
4. *Palmer T.M., Taberner P.V., Houslay M.D.* (1992) *Cell Signal.*, **4**, 365-377.
5. *Weber L.P., MacLeod K.M.* (1997) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **283**, 1469-1478.
6. *Hashim S., Li Y.Y., Wang R., Anand-Srivastava M.B.* (2002) *Mol. Cell. Biochem.*, **240**, 57-65.
7. *Hashim S., Li Y., Nagakura A., Takeo S., Anand-Srivastava M.B.* (2004) *Cardiovasc. Res.*, **63**, 709-718.
8. *Шпаков А.О., Кузнецова Л.А., Плеснева С.А., Гурьянов И.А., Перцева М.Н.* (2005) *Цитология*, **47**, 540-548.
9. *Шпаков А.О., Кузнецова Л.А., Плеснева С.А., Перцева М.Н.* (2005) *Бюл. exper. биол. мед.*, **140**, 286-290.
10. *Шпаков А.О., Кузнецова Л.А., Плеснева С.А., Бондарева В.М., Гурьянов И.А., Власов Г.П., Перцева М.Н.* (2006) *Бюл. exper. биол. мед.*, **142**, 641-645.
11. *Shpakov A.O., Kuznetsova L.A., Plesneva S.A., Kolychev A.P., Bondareva V.M., Chistyakova O.V., Pertseva M.N.* (2006) *Cent. Eur. J. Biol.*, **1**, 530-544.
12. *Шпаков А.О., Кузнецова Л.А., Плеснева С.А., Гурьянов И.А., Власов Г.П., Перцева М.Н.* (2007) *Технологии живых систем*, **4**, 96-108.
13. *Шпаков А.О., Кузнецова Л.А., Плеснева С.А., Перцева М.Н.* (2007) *Цитология*, **49**, 442-450.
14. *Hemmings S.J., Spafford D.* (2000) *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **32**, 905-919.
15. *Hughes S.J., Hollingsworth M., Elliott K.R.* (1997) *J. Reprod. Fertil.*, **109**, 289-296.
16. *Krantic S., Benahmed M.* (2000) *Biol. Reprod.*, **62**, 1835-1843.

17. *Li M., Arimura A.* (2003) *Endocrine*, **20**, 201-214.
18. *Costagliola S., Urizar E., Mendive F., Vassart G.* (2005) *Reproduction*, **130**, 275-281.
19. *Shpakov A., Pertseva M., Kuznetsova L., Plesneva S.* (2005) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1041**, 305-307.
20. *Vaccari S., Latini S., Barberi M., Teti A., Stefanini M., Canipari R.* (2006) *J. Endocrinol.*, **191**, 287-299.
21. *Шпаков А.О., Перцева М.Н., Гурьянов И.А., Власов Г.П.* (2005) *Биол. мембраны*, **22**, 435-442.
22. *Ballester J., Munoz M.C., Dominguez J., Rigau T., Guinovart J.J., Rodriguez-Gil J.E.* (2004) *J. Androl.*, **25**, 706-719.
23. *Komaki K., Ohno Y., Aoki N.* (2005) *End. J.*, **52**, 345-351.
24. *Ward D.N., Bousfield G.R., Moore K.H.* (1991) in: *Reproduction in Domestic Animals* (Cupps P.T. ed.) Academic Press, San Diego, pp. 25-67.
25. *Apa R., Lanzone A., Mastrandrea M., Miceli F., Macchione E., Fulghesu A.M., Caruso A., Canipari R.* (1997) *Biol. Reprod.*, **57**, 1074-1079.
26. *Lee J., Park H.J., Choi H.S., Kwon H.B., Arimura A., Lee B.J., Choi W.S., Chun S.Y.* (1999) *Endocrinology*, **140**, 818-826.
27. *Шпаков А.О., Кузнецова Л.А., Плеснева С.А., Бондарева В.М., Перцева М.Н.* (2007) *Бюл. экспер. биол. мед.*, **144**, 526-530.
28. *Leatherland J.F., Lin L., Renaud R.* (2005) *Comp. Biochem. Physiol.*, **140**, 647-656.

Поступила: 27. 01. 2009.

A DECREASE OF SENSITIVITY OF ADENYLYL CYCLASE AND HETEROTRIMERIC G-PROTEINS TO CHORIONIC GONADOTROPIN AND PEPTIDE HORMONES ACTION IN THE TISSUES OF REPRODUCTIVE SYSTEM OF THE RATS IN THE CONDITION OF EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES

A.O. Shpakov, K.V. Derkach, V.M. Bondareva

I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Thorez av., 44, St. Petersburg, 194223 Russia; fax: +7 (812) 552 30 12; e-mail: alex_shpakov@list.ru

Patients with different forms of the diabetes, particularly with insulin-independent type 2 diabetes have a wide spectrum of the disturbances of the functions of reproductive system. It is supposed that the main reason of these disturbances is altered sensitivity of reproductive system tissues to regulatory action of hormones. The aim of the work was the identification of the changes in functioning of human chorionic gonadotropin (hCG) - and peptide hormones-sensitive adenylyl cyclase system (ACS) in the ovary, testes and uterus of rats with neonatal streptozotocin (STZ) diabetes that is similar to the type 2 diabetes in humans. The effects of hCG, PACAP-38 and relaxin, realizing their effects via G-protein of the stimulatory type (G_s), and somatostatin, acting via G-protein of the inhibitory type (G_i), on adenylyl cyclase (AC) activity and the GTP binding of the G-proteins were studied. Regulatory effects of hCG and PACAP-38 decreased in the ovary and testes of rats with STZ type 2 diabetes, while the effects of somatostatin decreased in all investigated tissues (in a considerable extent in the uterus). This expressed in the weakening of hormonal effects on AC activity, stimulating in the case of hCG and PACAP-38 and inhibiting in the case of somatostatin, and in the decrease of stimulation of the GTP binding by the hormones. At the same time a significant decrease of ACS sensitivity to relaxin in the tissues of diabetic rats was not found. Data obtained suggest that the key reason of the disturbances of reproductive functions in experimental type 2 diabetes is the decrease of ACS sensitivity to the hormones, such as hCG, PACAP-38 and somatostatin, that play a important role in functioning of reproductive system.

Key words: adenylyl cyclase, diabetes, reproductive system, somatostatin, chorionic gonadotropin, G-protein.