

8. Пошивалов В. П., Ходько С. Т. // Журн. высш. нервн. деят. — 1979. — Т. 29, № 4. — С. 768—775.
9. Bures J., Buresova O., Huston J. Techniques and Basic Experiments for the Study of Brain and Behavior. — Amsterdam; New York, 1983.
10. Gray D., Gorralka B. B. // Psychoneuroendocrinology. — 1980. — Vol. 5. — P. 157—175.
11. The Hamster. Reproduction and Behavior / Ed. H. I. Siegel. — New York; London, 1985.
12. Hormonal Control of Reproduction. Book 3. — Cambridge, 1984.
13. Mode A. et al. // J. Endocrinol. — 1984. — Vol. 100. — P. 245—248.
14. Schmid R. F., Thews G. Human Physiology. — Berlin; Heidelberg, 1983.

Поступила 12.03.01.

◆ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© Н. В. САВИНОВА, Е. Г. БУТОЛИН, 2004

УДК 616.379-008.64-07:616.71-018.4-008.939.629-02:613.863]-092.9

Н. В. Савинова, Е. Г. Бутолин

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА КОЛЛАГЕНА В КОСТНОЙ ТКАНИ КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ

Кафедра биохимии (зав. — проф. Е. Г. Бутолин) Ижевской государственной медицинской академии

Целью работы явилось изучение динамики показателей обмена коллагена в костной ткани крыс при хроническом стрессе на фоне аллоксанового диабета. Проведено сравнительное исследование содержания свободного гидроксипролина, суммарного коллагена и его фракций в костной ткани крыс с аллоксановым диабетом и с сочетанием последнего с иммобилизационным стрессом. В сыворотке крови экспериментальных животных определяли концентрацию С-пептида и инсулина. В исследуемых тканях крыс с аллоксановым диабетом, подвергавшихся стрессовым воздействиям, количество нейтрально-носоластворимой фракции коллагена было ниже, а цитратрастворимой — выше по сравнению с "изолированным" диабетом. В обеих опытных группах животных на протяжении всего эксперимента концентрация нейтрально-носоластворимой фракции коллагена в изучаемых тканях коррелировала с уровнем инсулина в крови. Содержание суммарного коллагена в костной ткани крыс с аллоксановым диабетом и дополнительной стрессовой нагрузкой было пониженным по сравнению с "изолированным" диабетом.

Ключевые слова: аллоксановый диабет, инсулин, хронический стресс, 11-оксикортикостероиды, коллаген, фракции коллагена, костная ткань.

The study was undertaken to examine the time course of changes in the parameters of collagen metabolism in the bone of rats with alloxan diabetes under chronic stress. The levels of free hydroxyproline, total collagen and its fractions were comparatively studied in the bone of rats with alloxan diabetes alone and in combination with immobilization stress. The concentrations of C-peptide and insulin were measured in the serum of experimental animals. In the studied tissues of rats with alloxan diabetes exposed to stress, the content of a neutrally salt-soluble fraction of collagen was less and that of the citrate-soluble fraction was higher than that in rats with isolated diabetes. The concentration of a neutrally salt-soluble fraction of collagen in the studied tissues correlated with the blood level of insulin in both experimental groups of animals throughout the experiment. The content of total collagen in the bone of rats with alloxan diabetes and an additional stress load was less than that in rats with isolated diabetes.

Key words: alloxan diabetes, insulin, chronic stress, 11-oxycorticosteroids, collagen, collagen fractions, bone tissue.

Остеопатия является одним из проявлений и осложнений сахарного диабета [2, 4, 5]. Метаболические нарушения, развивающиеся на фоне абсолютного или относительного дефицита инсулина и повышенной секреции контринсулярных гормонов, отражаются на состоянии белковой матрицы кости, прежде всего коллагена [3, 11]. Известно, что от функционального состояния коллагена зависят динамическая устойчивость костной ткани, ее резистентность и адаптация к воздействию различных экстремальных факторов.

Под влиянием стрессовых воздействий наступает состояние декомпенсации сахарного диабета с выраженным повышением активности контринсулярных гормонов [1], что, очевидно, может усугубить изменения в метаболизме коллагена костной ткани.

Цель данной работы — изучение динамики показателей обмена коллагена в костной ткани крыс при хроническом стрессе на фоне аллоксанового диабета.

Материалы и методы

Эксперимент проведен на 106 белых беспородных крысах-самцах массой 180—220 г. Обследовали 3 группы животных. Контрольную группу составили 10 интактных крыс, которым ежедневно подкожно вводили 1 мл 0,9% раствора NaCl. У животных двух других групп вызывали инсулинзависимый диабет

путем однократного подкожного введения аллоксана тетрагидрата ("Fluka Chemica", Швеция) в дозе 170 мг/кг [6]: 1-ю группу составили 44 крысы с индуцированным диабетом, которые находились на обычном режиме вивария, животных 2-й группы (52 крысы) подвергали ежедневной 2-часовой иммобилизации в течение 30 дней. Воспроизведение стресса контролировали по совокупности следующих факторов: наличию мелкоточечных кровоизлияний на слизистой оболочке желудка, увеличению массы надпочечников и повышению содержания 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) в плазме крови подопытных крыс по сравнению с контрольными. Животных забивали путем декапитации под кратковременным эфирным наркозом на 5, 10, 15, 20, 30-й день эксперимента с целью выявления динамики изучаемых показателей.

В гомогенатах диафиза бедренной кости (преобладает компактный тип костной ткани) и тела II поясничного позвонка (преобладает губчатый тип костной ткани) определяли содержание суммарного коллагена (СК) по количеству гидроксипролина [10]; содержание фракций коллагена: нейтрально-носоластворимой (НРК), цитратрастворимой (ЦРК), нерастворимой (НК) [7]; содержание свободного гидроксипролина (СГ) [10]. В крови определяли концентрацию 11-ОКС [8], а также содержание инсулина и С-пептида радиоиммунологическим методом с использованием тест-наборов для определения инсулина — "Рио-ИНС-ПГ-¹²⁵I" (Беларусь), С-пептида — "IMMUNOTECH С-

Таблица 1

Концентрация С-пептида и инсулина в крови крыс при хроническом стрессе на фоне аллоксанового диабета ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	День эксперимента				
		5-й	10-й	15-й	20-й	30-й
С-пептид, нг/мл	2,49 ± 0,12	1,92 ± 0,08*	1,2 ± 0,04***	1,30 ± 0,05***	0,66 ± 0,04***	0,75 ± 0,03***
Инсулин, пмоль/л	117,31 ± 11,9	1,41 ± 0,16**^	0,7 ± 0,02***^^	1,60 ± 0,11**	1,41 ± 0,11**^^	0,84 ± 0,06***
		91,64 ± 6,4	56,34 ± 2,1**	54,53 ± 1,7**	41,92 ± 2,7**	46,70 ± 0,9**
		71,68 ± 2,3**^	32,27 ± 1,3***^^	43,74 ± 1,4***^^	27,76 ± 1,2***^^	22,24 ± 0,3***^^

Примечание. В числителе — концентрация инсулина и С-пептида в крови крыс с аллоксановым диабетом, в знаменателе — при сочетании аллоксанового диабета с иммобилизационным стрессом. * — достоверность различий с контролем; ^ — между аллоксановым диабетом и сочетанием диабета со стрессом. Одинарный символ — $p < 0,05$; двойной — $p < 0,01$; тройной — $p < 0,001$.

peptid IRMA" (Чехия). Количество НРК, ЦРК, НК, СК и СГ выражали в миллимолях гидроксипролина на 1 кг сухой массы ткани (в ммоль/кг), инсулина — в пикомолях на 1 л сыворотки крови (в пмоль/л), С-пептида — в нанограммах на 1 мл сыворотки крови (в нг/мл). Цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики, достоверность изменений (p) определяли по критерию Стьюдента (t).

Результаты и их обсуждение

Введение животным аллоксана вызвало развитие стойкой гипоинсулинемии (табл. 1), причем концентрация С-пептида и инсулина в крови снижалась в динамике эксперимента и к 30-му дню исследования составила 30 и 39% соответственно ($p < 0,001$) от контрольных значений. Уровень инсулина в крови у крыс с аллоксановым диабетом, подвергавшихся иммобили-

зационному стрессу, был ниже, чем у животных с "изолированным" диабетом, на протяжении всего эксперимента. В этих условиях концентрация С-пептида в крови в первые 10 дней была ниже, а в последующие дни опыта — выше, чем у крыс с индуцированным диабетом.

Инсулиновой недостаточности отводится основное место в развитии остеопатии при сахарном диабете [2, 3]. Известно, что инсулин оказывает стимулирующее действие на метаболизм костной ткани, в том числе и на обмен коллагена в ней.

Метаболизм коллагена определяется взаимодействием процессов биосинтеза и распада данного биополимера. На преобладание анаболических процессов указывает увеличение содержания СК и его фракций НРК и НК. Катаболические процессы характеризуются повышением концентрации ЦРК, СО и снижением — СК [9]. У животных с экспериментальным диабетом по сравнению с контрольной группой наблюдали изменения

Таблица 2

Показатели обмена коллагена (в ммоль/кг) в диафизе бедренной кости крыс с аллоксановым диабетом в условиях хронического стресса ($M \pm m$)

День опыта	НРК	ЦРК	НК	СК	СГ
Контроль	3,76 ± 0,22	1,39 ± 0,12	155,96 ± 5,12	164,72 ± 4,13	1,51 ± 0,11
5-й	4,22 ± 0,28	2,74 ± 0,16***	135,52 ± 7,70*	146,04 ± 6,51*	3,09 ± 0,18***
	3,95 ± 0,26	2,18 ± 0,13**	143,02 ± 5,12	152,53 ± 8,39	2,29 ± 0,11***
10-й	3,68 ± 0,37	1,72 ± 0,14	148,47 ± 7,09	154,81 ± 6,44	1,81 ± 0,15
	2,44 ± 0,27**	1,29 ± 0,14	127,36 ± 8,31*	136,12 ± 7,07**	1,38 ± 0,17
15-й	3,10 ± 0,27	1,94 ± 0,16*	132,98 ± 7,19*	139,17 ± 7,26*	2,96 ± 0,13***
	3,01 ± 0,24*	1,20 ± 0,11	138,25 ± 7,67	147,94 ± 7,60	1,45 ± 0,17
20-й	2,83 ± 0,26*	1,02 ± 0,08*	136,21 ± 6,91	144,82 ± 6,46*	1,04 ± 0,07**
	1,91 ± 0,18***	1,10 ± 0,08	130,76 ± 6,64*	137,27 ± 6,80**	1,23 ± 0,11
30-й	3,03 ± 0,23*	1,21 ± 0,07	129,40 ± 7,64*	137,60 ± 6,54**	1,46 ± 0,14
	2,35 ± 0,20**	1,94 ± 0,13*	118,50 ± 6,80**	125,35 ± 7,43**	2,01 ± 0,17*

Примечание. Здесь и в табл. 3 в числителе — показатели обмена коллагена в костной ткани крыс с аллоксановым диабетом, в знаменателе — при сочетании аллоксанового диабета с иммобилизационным стрессом. * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ по сравнению с контролем.

Таблица 3

Показатели обмена коллагена (в ммоль/кг) в теле II поясничного позвонка крыс с аллоксановым диабетом в условиях хронического стресса ($M \pm m$)

День опыта	НРК	ЦРК	НК	СК	СГ
Контроль	4,58 ± 0,31	2,52 ± 0,15	212,38 ± 6,51	225,34 ± 7,83	2,10 ± 0,23
5-й	5,15 ± 0,36	3,93 ± 0,29**	191,03 ± 7,04*	207,42 ± 7,86	3,85 ± 0,32**
	4,96 ± 0,39	4,12 ± 0,30***	180,74 ± 9,10*	196,37 ± 9,50*	4,04 ± 0,33***
10-й	4,84 ± 0,35	3,32 ± 0,27*	184,93 ± 7,31*	203,23 ± 6,51*	3,70 ± 0,31**
	3,13 ± 0,24**	2,02 ± 0,21	203,23 ± 8,76	215,43 ± 8,11	1,91 ± 0,25
15-й	4,30 ± 0,33	1,57 ± 0,23*	206,38 ± 7,94	216,39 ± 7,34	2,24 ± 0,24
	3,66 ± 0,31	2,36 ± 0,19	195,99 ± 6,71	209,33 ± 6,60	2,02 ± 0,23
20-й	3,24 ± 0,35*	1,24 ± 0,15**	181,12 ± 6,95**	190,17 ± 7,26**	1,33 ± 0,19*
	3,16 ± 0,25**	2,71 ± 0,28	178,83 ± 8,60**	189,12 ± 8,77**	2,14 ± 0,27
30-й	2,86 ± 0,27**	2,76 ± 0,18	168,73 ± 6,60**	177,30 ± 6,41***	2,38 ± 0,29
	3,48 ± 0,24*	3,24 ± 0,27*	152,52 ± 6,45***	163,96 ± 6,82***	3,10 ± 0,30*

показателей обмена коллагена в исследуемых тканях. Концентрация НРК в диафизе бедренной кости (табл. 2) снижалась в динамике опыта и максимально отличалась от контроля на 20-й и 30-й дни опыта на 25 и 19% соответственно ($p < 0,05$). Количество ЦРК и СГ в первые 15 дней эксперимента было значительно выше контрольных данных, а к 30-му дню опыта не отличалось от них. Содержание НК и СК было достоверно ниже контроля в течение всего опыта, исключая 10-й день исследования.

В группе животных с индуцированным диабетом, подвергавшихся стрессовым воздействиям, количество СГ и ЦРК в диафизе бедренной кости в первые 15 дней эксперимента было ниже, а в последней декаде выше, чем в группе крыс с "изолированным" диабетом. Концентрация НРК у крыс 2-й группы была значительно ниже соответствующего показателя крыс 1-й группы в течение всего эксперимента, хотя динамика этой растворимой фракции коллагена в обеих группах крыс носила одинаковую направленность. Содержание СК и НК в диафизе бедренной кости было выше у крыс с "изолированным" диабетом, исключая 5-й день исследования.

В теле II поясничного позвонка крыс с аллоксановым диабетом (табл. 3) уровень НРК был достоверно ниже контрольных данных на 20-й и 30-й дни исследования на 29% ($p < 0,05$) и 38% ($p < 0,01$) соответственно. Количество ЦРК, увеличенное в первые 10 дней опыта, затем снижалось, достоверно отличаясь от контроля на 15-й и 20-й дни эксперимента на 36% ($p < 0,05$) и 51% ($p < 0,01$) соответственно. Содержание НК и СК было ниже контрольных значений в течение всего эксперимента, максимально отличаясь от них на 30-й день исследования на 20% ($p < 0,01$) и 21% ($p < 0,001$) соответственно.

При дополнительной стрессовой нагрузке на крыс с аллоксановым диабетом на протяжении эксперимента (исключая 10-й день) наблюдалось увеличение количества СГ и ЦРК в теле II поясничного позвонка по сравнению с "изолированным" диабетом. Для крыс 2-й группы была характерна более низкая концентрация НРК в течение опыта, за исключением 30-го дня. Кроме того, у животных этой группы отмечалось значительное снижение содержания НК и СК в теле II поясничного позвонка, особенно выраженное к 30-му дню исследования.

Таким образом, изменения метаболизма коллагена в исследуемых тканях крыс с сочетанием диабета и стресса характеризовались преобладанием катаболических процессов, о чем свидетельствует снижение содержания НРК, НК и СК, а также повышение концентрации ЦРК и СГ. Необходимо отметить, что уменьшение количества СК было более значительным в позвонке, чем в диафизе бедренной кости крыс обеих экспериментальных групп. Возможной причиной таких изменений является дефицит инсулина, наиболее выраженный в группе крыс с индуцированным диабетом, подвергавшихся иммобилизации. В условиях недостатка этого гормона снижается скорость анаболических реакций, о чем свидетельствует уменьшение содержания НРК в исследуемых тканях, причем этот показатель на протя-

жении всего эксперимента коррелировал с концентрацией инсулина в сыворотке крови крыс с аллоксановым диабетом ($r = 0,79$; $p < 0,001$) и крыс с сочетанием диабета и стресса ($r = 0,81$; $p < 0,001$).

Кроме того, длительная иммобилизация крыс с аллоксановым диабетом привела к более значительному увеличению концентрации И-ОКС в плазме крови в первые 15 дней эксперимента по сравнению с "изолированным" диабетом. Так, на 5-й день исследования этот показатель был выше на 91% ($p < 0,001$), на 10-й день — на 76% ($p < 0,001$), на 15-й день — на 68% ($p < 0,001$) в крови крыс с аллоксановым диабетом, подвергавшихся стрессовым воздействиям. Возможно, что тормозящее влияние на синтез коллагена оказало и повышение в крови уровня глюкокортикоидов.

Выводы

1. Изменения в обмене коллагена костной ткани крыс с аллоксановым диабетом и с сочетанием последнего со стрессом носят однонаправленный характер.
2. Дополнительная стрессовая нагрузка приводит к более значительному снижению скорости синтетических процессов и к активации процессов распада в обмене коллагена костной ткани крыс с аллоксановым диабетом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анестиади З. Г., Федаш В. В. // Стресс, адаптация и дисфункции: Тезисы IV Всесоюзного симпозиума. — 1991. — С. 123.
2. Балаболкин М. И. Сахарный диабет. — М., 1994. — С. 236—241.
3. Вартамян К. Ф. // Остеопороз и остеопатии. — 1999. — № 4. — С. 31—33.
4. Калинин А. П. и др. Диабетическая стопа. — Бишкек, 2000. — С. 84—105.
5. Кистаури А. Г. // Сов. мед. — 1982. — № 2. — С. 32—36.
6. Пальчикова Н. А., Селятицкая В. Г., Шорин Ю. П. // Пробл. эндокринологии. — 1987. — № 4. — С. 65—68.
7. Прошина Л. Я., Приваленко М. Н. // Вопр. мед. химии. — 1982. — Т. 28, вып. № 1. — С. 115—119.
8. Резников А. Г. Методы определения гормонов: Справочное пособие. — Киев, 1980. — С. 399.
9. Слауцкий Л. И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. — Л., 1969. — С. 140—155.
10. Шараев П. Н., Богданов Н. Г., Ямолдинов Р. Н. // Бюл. эксп. биол. — 1975. — Т. 81, № 6. — С. 665—666.
11. Brenner R. E. et al. // Acta Endocrinol. — 1992. — Vol. 127. — P. 509—514.

Поступила 20.10.02

◆ ОБЗОР

© В. В. ФАДЕЕВ, Н. А. АБРАМОВА, 2004

УДК 616.441-006.5-02:546.151-008.64-092

В. В. Фадеев, Н. А. Абрамова

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЙОДДЕФИЦИТНОГО ЗОБА

Кафедра эндокринологии (зав. — акад. РАН И. И. Дедов) ММА им. И. М. Сеченова

1. Введение

Йоддефицитные заболевания (ЙДЗ) представляют собой наиболее распространенную неинфекционную патологию человека. В целом на Земле в регионах йодного дефицита в окружающей среде проживают 1,5 млрд людей, у 600 млн из них имеется увеличение щитовидной железы, а у 40 млн — выраженная умственная отсталость в результате йодной недостаточности [46]. Наиболее распространенным и имеющим наибольшее значение в практике эндокринолога ЙДЗ является зоб. Местность

считается эндемичной по зобу, а сам зоб — эндемическим, если увеличение объема щитовидной железы выявляется более чем у 5% детей препубертатного возраста. В подавляющем большинстве случаев причиной эндемического зоба является недостаточное поступление в организм человека йода [46].

Помимо дефицита йода, выделяют ряд других зобогенных факторов окружающей среды, которые имеют меньшее значение. К ним относятся тиоцианиды, флавоноиды, серосодержащие тионамиды и другие вещества, которые являются конку-