

адиуретин по 1—2 капли 2 раза в день интраназально. В 1991 г. появились общие судорожные припадки и была диагностирована эпилепсия, по поводу которой больной неоднократно лечился стационарно; постоянно принимает фенobarбитал в дозе 0,1 г на ночь. При поступлении обращали на себя внимание сухость кожи, отсутствие потоотделения, похудание (при росте 183 см масса тела больного 65 кг). Со стороны сердечно-сосудистой системы, системы дыхания и системы пищеварения физикально патологии не выявлено. Общий и биохимический анализы крови без изменений, моча светлая, прозрачная, протеинурии нет, аглюкозурия, относительная плотность 1006. Проба Зимницкого: гипостенурия (относительная плотность мочи в течение суток 1001—1006), полиурия, никтурия. ЭКГ: ритм синусовый, 85 в минуту, нарушение процессов реполяризации. ЭЭГ: очага эпилептической и патологической активности не выявлено, признаки ирритации с медиобазальных отделов височных областей, общемозговые признаки легкие, органического характера. Глазное дно: диски зрительного нерва бледно-розовые, границы ровные, четкие. Артерии узкие, вены в пределах нормы. Ввиду того, что часто симптомы эпилепсии развиваются у больных несахарным диабетом при опухолях мозга, пациенту была проведена компьютерная томография головного мозга, при которой патологических образований не выявлено, это позволило исключить новообразование головного мозга как возможную причину возникновения судорог. Заключение невролога: травматическая энцефалопатия, судорожный синдром (общие судорожные припадки с частотой 1—2 раза в месяц). В период пребывания в стационаре доза адиуретина больному увеличена до 2 капель 3 раза в день, проводилась метаболическая терапия (кокарбоксилаза, витамин В₆, аспаркам), были назначены антиагреганты, антигипоксанты (алоэ, натрия тиосульфат, гепарин, агапурин, пирасетам), фенobarбитал, гипотиазид. Проведен курс электрофореза 5% оксигутирата натрия и 1% никотиновой кислоты (чередую) на воротниковую область.

Заключительный клинический диагноз у больного П. может быть сформулирован следующим образом: "Несахарный диабет,

гипоталамическая форма, посттравматического генеза (черепно-мозговая травма в 1989 г.), средней тяжести, субкомпенсированный. Посттравматическая энцефалопатия, судорожный синдром (общие судорожные припадки)". Следует отметить, что общепринятой классификации несахарного диабета нет, и обычно в диагнозе находят отражение лишь форма или указание на провоцирующий фактор заболевания. Мы полагаем, что для более точной характеристики клинической картины структура диагноза при несахарном диабете должна включать в себя в обязательном порядке наряду с формой и фактором-триггером степень тяжести (легкая, средняя, тяжелая) по наличию осложнений и интенсивности проводимой терапии, степень компенсации (компенсированный, субкомпенсированный, декомпенсированный) по выраженности клинической симптоматики и изменению лабораторных показателей, степень дегидратации (I, II, III; для этого необходимо знать процент потери массы тела, гематокрит, pH и вязкость крови), осложнения.

У больных несахарным диабетом прогноз для жизни благоприятный, но в отношении выздоровления сомнительный, хотя после случайной травмы течение заболевания непредсказуемо; как отмечает Ф. М. Эгарт [2], спонтанные выздоровления наблюдаются и через несколько (до 10) лет после травмы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Диагностика и лечение внутренних болезней: Руководство для врачей. — М., 1991. — Т. 2.
2. Клиническая эндокринология: Руководство для врачей / Под ред. Н. Т. Старковой. — СПб, 1996.
3. Мудрова О. А. // Актуальные вопросы эндокринологии: Тез. докл. Всероссийской науч.-практ. конф. — Пермь, 1997. — С. 120.
4. Николайчук Л. В., Ищук А. И., Тихонова Е. П. Несахарный диабет. — Киев, 1985.
5. Потемкин В. В. Эндокринология. — 3-е изд. — М., 1999.

Поступила 24.11.99

◆ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2001

УДК 612.111.018.014.481.083

В. Н. Запорожан, А. И. Гоженко, С. И. Долматов

ВЛИЯНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ IN VITRO НА ГОРМОНДЕПОНИРУЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Одесский государственный медицинский университет

На образцах венозной крови мужчин в возрасте 20—35 лет изучали влияние ультрафиолетового облучения и величины pH безбелкового изотонического раствора на способность эритроцитов депонировать тиреоидные гормоны. Показано, что ультрафиолетовое облучение крови приводит к зависимо от продолжительности ультрафиолетового облучения возрастанию концентрации трийодтиронина в плазме крови. Концентрация тироксина при этом остается неизменной. В ходе инкубации эритроцитов человека в фосфатных буферных растворах (0,15 М) отмечали резкое увеличение концентраций трийодтиронина и тироксина в инкубационной среде. При этом концентрация трийодтиронина в солевом растворе менялась в зависимости от величин pH инкубационной среды. Наименьший прирост концентрации трийодтиронина зарегистрирован при значениях pH 6,0. Концентрация тироксина в буферных растворах более чем в 7 раз превышала концентрацию гормона в плазме крови и не зависела от показателя pH среды. Результаты серий экспериментов по ультрафиолетовому облучению крови и инкубации эритроцитов в буферных растворах позволяют высказать предположение о том, что механизмы депонирования в эритроцитах тиреоидных гормонов осуществляют более тонкую регуляцию трийодтиронина по сравнению с тироксином.

Effects of ultraviolet radiation and pH of isotonic protein-free solution on erythrocyte capacity to deposit thyroid hormones were studied in specimens of venous blood from men aged 20—35 years. Ultraviolet irradiation of the blood led to a dose-dependent increase in the plasma triiodothyronine concentration, the concentration of thyroxine remaining unchanged. Incubation of human erythrocytes in phosphate buffers (0.15 M) led to a sharp increase in the concentrations of triiodothyronine and thyroxine in incubation media, the concentration of triiodothyronine depending on the medium pH and the lowest increment in its concentration being observed at pH 6.0. The concentration of thyroxine in buffer solutions surpassed the hormone concentration in the plasma more than 7-fold and did not depend on pH of the medium. Results of ultraviolet exposure of the blood and erythrocyte incubation in buffer solutions suggest that mechanisms of thyroid hormone deposition in erythrocytes are concerned with regulation of mainly triiodothyronine but not thyroxine.

Таблица 1

Влияние pH инкубационной среды на гормондепонирующую способность эритроцитов человека ($M \pm m$)

Плазма крови ($n = 9$)		Буфер pH 6,0 ($n = 8$)		Буфер pH 7,4 ($n = 8$)		Буфер pH 9,0 ($n = 8$)	
T_3	T_4	T_3	T_4	T_3	T_4	T_3	T_4
$1,54 \pm 0,09$	$75,9 \pm 10,3$	$5,24 \pm 1,01$	$557,3 \pm 10,1$	$10,10 \pm 1,33$	$544,1 \pm 39,4$	$8,20 \pm 1,60$	$566,4 \pm 8,3$
p		$< 0,01$	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 0,01$
p_1		$< 0,05$					

Примечание. p — достоверность различий с аутоплазмой; p_1 — достоверность различий с буфером pH 7,4. Здесь и в табл. 2: n — число наблюдений; T_3 — трийодтиронин, T_4 — тироксин.

Проблема физиологической роли гормондепонирующей функции эритроцитов обсуждается в научной литературе на протяжении 3 десятилетий. Пионерскими работами в данном направлении являются исследования Л. И. Сандуляка, в которых была предпринята попытка рассмотреть общебиологическое значение инсулиндепонирующей функции эритроцитов [3], а также сформулирована гипотеза об участии эритроцитов в системе депо и транспорта инсулина [3, 4]. Позже экспериментально доказано участие эритроцитов млекопитающих в депонировании тиреоидных гормонов [6, 7]. По данным исследователей, содержание гормонов щитовидной железы в эритроцитах по меньшей мере на порядок превосходит их уровень в плазме крови. Однако отсутствие единого взгляда на роль эритроцитарного пула гормонов является причиной, сдерживающей теоретическое обоснование общебиологического значения данного явления. По нашему мнению, решение этой проблемы может существенно облегчить понимание патогенеза многих эндокринопатий и содействовать разработке принципиально новых методов коррекции нарушений гормонального статуса организма. Таким образом, учитывая отсутствие прямого афферентного влияния со стороны основных интегрирующих систем организма на эритроцит, мы осуществили экспериментальную проверку двух предположений: 1) о регулирующем влиянии факторов внутрисосудистой жидкости (наличие белка в среде, величина pH инкубационной среды) на способность эритроцитов человека депонировать тиреоидные гормоны; 2) о влиянии мембранотропного эффекта ультрафиолетового излучения на гормондепонирующую функцию эритроцитов человека.

Материалы и методы

Влияние величины pH инкубационного раствора на способность эритроцитов человека депонировать тиреоидные гормоны исследовали на 9 образцах крови с использованием 0,15 М фосфатного буферного раствора, не содержащего белка, при значениях pH 6,0, 7,4 и 9,0. Инкубацию осуществляли на водяном термостате при температуре 37°C. Соотношение объема инкубационной среды и объема эритроцитарной массы составляло 1:1. После завершения инкубации суспензию эритроцитов центрифугировали, а в инкубационной среде определяли концентрацию тиреоидных гормонов с помощью радиоиммунного анализа. Ультрафиолетовое облучение образцов крови проводили в одноразовых

стерильных чашках Петри. Толщина облучаемого слоя крови составляла 1 мм. Источником ультрафиолетового излучения была выбрана ртутная лампа ДРБ-8. Облученность поверхности крови составляла 15,5 Вт/м², продолжительность экспозиции — от 2 до 30 мин. После облучения кровь центрифугировали, а в полученных образцах плазмы определяли уровень тиреоидных гормонов с помощью радиоиммунного метода. Определение концентраций тиреоидных гормонов тиреоглобулина проводили с использованием стандартных диагностических наборов РИО-Т4-ПГ, РИО-Т3-ПГ, РИО-ТГ-¹²⁵I производства Института биоорганической химии (Беларусь). Радиометрический анализ проб проводили в измерительном комплексе "Гамма-12" (Россия).

Результаты и их обсуждение

В табл. 1 приведены данные о влиянии величины pH инкубационной среды на способность эритроцитов человека депонировать тиреоидные гормоны. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод о том, что замена плазмы крови на безбелковый солевой раствор является причиной значительных изменений свойств гормондепонирующей функции эритроцитов. При инкубации эритроцитарной массы в буферном растворе с величиной pH 6,0 концентрация тироксина и трийодтиронина в инкубационной среде превышает концентрацию гормонов в плазме крови в 7,3 и 3,4 раза соответственно. При величине pH 7,4 концентрация тироксина и трийодтиронина превышает аналогичные показатели в аутоплазме в 7,2 и 6,6 раза соответственно. При этом концентрация трийодтиронина в буферном растворе с величиной pH 6,0 достоверно меньше (в 1,9 раза) по сравнению с таковой в буферном растворе pH 7,4, а концентрация тироксина в упомянутых инкубационных средах достоверно не различается.

Данные табл. 2 показывают, что уже после 2-минутной экспозиции под влиянием ультрафиолетового облучения уровень трийодтиронина в плазме крови увеличивается на 104% по сравнению с необлученными образцами. При экспозиции 30 мин содержание трийодтиронина возрастает в 4,8 раза. При этом не зарегистрировано достоверных сдвигов концентрации тироксина и тиреоглобулина под действием ультрафиолетового излучения. Корреляционный анализ показал отрицательную связь между уровнем трийодтиронина и показателем тиреоидного индекса в необлученных образцах ($r = -0,667$; $p < 0,01$) и при ультрафиолетовом облучении с экспозицией 2 и 10 мин ($r = -0,740$ и $r = -0,714$; $p < 0,01$ соответственно).

Представленные в нашем сообщении данные привлекают к себе внимание по двум причинам. Во-первых, выбранный нами класс физиологически активных веществ — йодированные производные аминокислот — уникальны не только своими химическими свойствами. Как известно, истинным гормоном щитовидной железы является тироксин, а его биологически активная производная — трийодтиронин образуется в тканях за счет 5'-монодейодирования [1]. Поэтому любая информация, расширяющая наши представления о механизмах транспорта данных гормонов, имеет важное теоретическое и практическое значение. Во-вторых, сведения о факторах плазмы крови, способных оказывать влияние на гормондепонирующую функцию эритроцитов, указывают направление поиска экспериментальных доказательств целесообразности наличия эритроцитарного пула гормонов. Такая постановка вопроса позволяет, на наш взгляд, более полно проанализировать представленные результаты. Сопоставив данные табл. 1 и 2, можно сделать несколько, как нам представляется, существенных выводов, а именно:

— количество депонированных в эритроцитах человека тироксина и трийодтиронина во много раз превосходит концентрацию этих веществ в плазме крови;

Таблица 2
Влияние ультрафиолетового облучения крови доноров на уровни в плазме T_3 , T_4 и тиреоглобулина ($M \pm m$)

Экспозиция, мин	T_3 , нмоль/л	T_4 , нмоль/л	Тиреоглобулин, нг/мл
0 ($n = 22$)	$1,41 \pm 0,06$	$98,8 \pm 4,8$	$39,12 \pm 5,77$
2 ($n = 15$)	$1,68 \pm 0,08$ $p < 0,05$	$95,3 \pm 5,8$	$39,50 \pm 8,10$
10 ($n = 22$)	$2,15 \pm 0,12$ $p < 0,001$	$90,4 \pm 5,4$	$41,78 \pm 6,54$
20 ($n = 15$)	$3,90 \pm 0,17$ $p < 0,001$	$88,4 \pm 6,5$	$36,14 \pm 7,12$
30 ($n = 8$)	$3,09 \pm 0,21$ $p < 0,001$	$82,0 \pm 8,9$	$37,83 \pm 5,24$

Примечание. p — достоверность прироста концентрации T_3 под действием ультрафиолетового облучения по сравнению с необлученной кровью.

— белки плазмы крови выполняют весьма важную функцию в регуляции гормондепонирующей способности эритроцитов;

— как в случае инкубации эритроцитарной массы в буферных растворах с различной величиной pH, так и при воздействии ультрафиолетового облучения на образцы цельной крови обнаружена закономерная динамика уровня трийодтиронина в отличие от тироксина.

С нашей точки зрения, роль белков плазмы крови в реализации гормондепонирующей функции эритроцитов заслуживает углубленного исследования. Не исключено, что белки крови, в первую очередь альбумины, являясь полианионами, определенным образом ориентируют фосфолипидные молекулы плазматической мембраны эритроцитов [2], облегчая нековалентное связывание полярными группировками фосфолипидов галогенизированных углеводов, каковыми являются тиреоидные гормоны. В то же время эритроциты человека обладают способностью депонировать не только трийодтиронин, но и его физиологически менее активный предшественник — тироксин. Если предположить, что биологическое назначение эритроцитарного пула тироксина и трийодтиронина состоит в оптимизации транспорта гормонов к компетентным тканям, то правомерно поставить вопрос об адекватных стимулах, определяющих количественные параметры заполнения и использования эритроцитарного депо. Выбранный нами интервал величин pH инкубационного раствора, конечно, не соответствует физиологическому диапазону значений, характерных для данного показателя. Однако модель, предусматривающая анализ зависимости количественных показателей эритроцитарного пула тиреоидных гормонов от величины pH среды, является достаточно перспективной, поскольку тиреоидные гормоны — одни из наиболее мощных регуляторов энергетического обмена клетки, а скорость генерации протонов — весьма важный показатель интенсивности обменных процессов в организме.

Обсуждая перспективность использования ультрафиолетового облучения в качестве простого и надежного теста трийодтирониндепонирующей способности эритроцитов, уместно сделать несколько замечаний. Корреляционный анализ параметров тиреоидного статуса не выявил отрицательной корреляции между уровнями тироксина и трийодтиронина. Также не обнаружено статистически значимого изменения концентрации тиреоглобулина на фоне возрастающей концентрации трийодтиронина. Совокупность приведенных фактов свидетельствует о

том, что зависимое от продолжительности экспозиции ультрафиолетового облучения возрастание уровня трийодтиронина не является следствием фотоактивации конверсии тироксина, а обусловлено выходом депонированной формы гормона. В противном случае существовала бы тесная отрицательная корреляция между содержанием тироксина и трийодтиронина, а концентрация тиреоглобулина снижалась пропорционально степени фотоактивации конверсии тироксина и высвобождению йода [5].

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о том, что фонд тиреоидных гормонов, депонированных в эритроцитах человека, во много раз превышает концентрацию данных веществ в плазме крови, а ультрафиолетовое облучение *in vitro* образцов цельной крови можно использовать как простой и эффективный тест в лабораторной практике.

Выводы

1. Эритроциты человека обладают способностью депонировать значительные количества тироксина и трийодтиронина.
2. *In vitro* установлено, что на гормондепонирующую способность эритроцитов оказывают влияние физико-химические (величина pH и наличие белка в инкубационной среде) и физические (ультрафиолетовое облучение, $\lambda = 254$ нм) факторы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Верещагина Г. В., Трапкова А. А., Кацулина А. П. // Успехи соврем. биол. — 1991. — Т. 111, вып. 1. — С. 59—72.
2. Максименко О. О., Иванов Н. Н., Фельдштейн М. М. и др. // Биол. мембраны. — 1986. — Т. 3, № 7. — С. 697—703.
3. Сандуляк Л. И. // Докл. АН СССР. — 1974. — Т. 219, № 4. — С. 408—409.
4. Сандуляк Л. И., Ковалев В. П. // Пробл. эндокринологии. — 1978. — Т. 24, № 5. — С. 77—78.
5. Gradas A., Domek H. // Acta Biochim. Pol. — 1993. — Vol. 40, N 2. — P. 237—240.
6. Osty J., Laurence J., Jacques F., Blondeau J.-P. // Endocrinology. — 1988. — Vol. 123, N 5. — P. 2303—2311.
7. Osty J., Valensi P., Michel S. et al. // J. clin. Endocrinol. Metab. — 1990. — Vol. 71, N 6. — P. 1589—1595.

Поступила 18.07.2000

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2001

УДК 616.153.455-008.64-06:616.8]-008.9-074-092.9

П. К. Телушкин, А. Д. Ноздрачев, П. П. Потапов

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ДЕЗАМИНИРОВАНИЯ В МОЗГЕ КРЫС В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ИНСУЛИНОВОЙ ГИПОГЛИКЕМИИ

Ярославская государственная медицинская академия, Государственный университет, Санкт-Петербург

У крыс, находящихся в состоянии гипогликемической комы (40 ЕД инсулина на 1 кг массы тела), через 12 и через 48 ч после купирования однократной комы глюкозой и у животных, перенесших 5—7 гипогликемических ком с интервалом 2 дня и забитых на 2-е сутки после последней комы, в больших полушариях и стволе мозга оценивали активность моноаминоксидазы (КФ 1.4.3.4), глутамины (КФ 3.5.1.2), аденозинмонофосфатдезаминазы (КФ 3.5.4.6) и глутаматдегидрогеназы (КФ 1.4.1.3). Обнаружены изменение субстратной специфичности моноаминоксидазы, увеличение активности аденозинмонофосфатдезаминазы и уменьшение активности глутамины в состоянии гипогликемической комы и в различные сроки восстановительного периода. Выявленные изменения являются результатом окислительного стресса и могут иметь значение в патогенезе постгипогликемической энцефалопатии.

Activities of monoaminooxidase (KP 1.4.3.4), glutaminase (KP 3.5.1.2), adenosine monophosphate deaminase (KP 3.5.4.6), and glutamate dehydrogenase (KP 1.4.1.3) in the brain hemispheres and stem were evaluated in rats in a state of hypoglycemic coma (40 U insulin/kg), 12 and 48 h after a single glucose arrest of coma, and in animals subjected to 5-7 hypoglycemic comas at 2-day intervals and sacrificed after the last coma. The substrate specificity of monoaminooxidase was changed, adenosine monophosphate dehydrogenase activity increased, and glutaminase activity decreased in hypoglycemic coma and in various terms of recovery after coma. The detected changes result from oxidative stress and can be involved in the pathogenesis of posthypoglycemic encephalopathy.

Гипогликемия — состояние, связанное с передозировкой инсулина в ходе лечения сахарного диабета и с гиперпродукцией гормона при инсулиноме поджелудочной железы, приводит к постгипогликемической энцефалопатии, механизмы развития которой требуют дальнейшего изучения [2, 5, 11, 12].

Одной из причин возникновения энцефалопатий различного генеза являются нарушения процессов дезаминирования в нервной ткани, поскольку дезаминаты мозга катализируют реакции синтеза и катаболизма нейромедиаторов и энергетического обмена.