

◆ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2001

УДК 616.441-089.87-089.168-07:616.154:577.175.44]-092.9

Л. М. Шкуматов, К. А. Прядко, И. И. Крылова, Л. С. Корвин-Кучинская, И. М. Багель

ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В КРОВИ ПОСЛЕ ПОЛНОЙ ИЛИ ЧАСТИЧНОЙ ТИРЕОИДЭКТОМИИ У КРЫС

Лаборатория эндокринологии (зав. — канд. мед. наук И. М. Багель) Института радиобиологии НАН Республики Беларусь, Минск

Операция полной или частичной тиреоидэктомии адаптирована применительно к взрослым животным, что позволило добиться приемлемого уровня смертности (менее 5%) во время и после хирургического вмешательства. У интактных, ложнопериоперированных крыс и у животных с удаленной на 100, 75, 50 и 25% щитовидной железой в разные сроки проведено сравнительное исследование концентрации тиреоидных гормонов в крови. На основании полученных данных утверждается, что функция щитовидной железы обладает значительной устойчивостью к механическому повреждению и высоким потенциалом восстановления. Делается вывод о том, что заключение о повреждении железы на основании изучения концентрации в крови тиреоидных гормонов после воздействия на организм различных патогенетических факторов может быть сделано лишь при получении типичной картины их временной динамики. Предлагается тотальной тиреоидэктомией называть полное удаление видимой части железы с последующим применением тиреостатических средств, позволяющим добиться атироксинемии, субтотальной — полное удаление видимой части железы, сопровождающееся выраженной и продолжительной гипотироксинемией, а частичной — удаление любого фрагмента железы.

Complete or partial thyroidectomy, adapted to adult animals, resulted in a permissible mortality (less than 5%) during and after the intervention. Blood concentrations of thyroid hormones were compared in intact, sham-operated animals, and animals with 100, 75, 50, and 25%-removed thyroid in various periods after the operation. The results indicate high stability of thyroid function to mechanical injury and its high regeneration potential. A conclusion on the gland damage after exposure of the organism to pathogenetic factors can be made only after repeated measurements of blood concentrations of thyroid hormones if a typical time course of their changes is observed. The authors suggest that complete removal of visible part of the gland with subsequent thyrostatic therapy leading to athyroxinemia be called total thyroidectomy, complete removal of visible part of the gland associated with pronounced long hypothyroxinemia be called subtotal thyroidectomy, and removal of any fragment of the gland be called partial thyroidectomy.

Гормоны щитовидной железы (ЩЖ) у позвоночных участвуют в регуляции процессов обмена веществ, гисто- и морфогенеза. Так, у млекопитающих тиреоидная недостаточность на стадии эмбриогенеза оказывает тератогенное действие, проявляющееся во внутриутробной гибели или в необратимых нарушениях развития тканей зарождающегося организма. Во взрослом состоянии стойкая гипо- или гиперфункция ЩЖ вызывает микседему или тиреотоксикоз соответственно.

Как правило, у людей клиническим формам тиреоидной патологии соответствует лабораторный (определяемый по динамике концентрации тиреоидных гормонов в крови или по накоплению радиоактивных изотопов йода в ЩЖ) гипер- или гипотиреоз. У взрослых лабораторных животных, в частности у крыс, тиреоидные дисфункции не имеют ярко выраженной клинической картины. Определение функционального состояния ЩЖ у крыс прижизненно, в условиях моделирования ее гипо- или гиперфункции, по-видимому, возможно на основании измерения концентрации гормонов: тироксина (T_4), трийодтиронина (T_3), тиреоидстимулирующего гормона гипофиза, рилизинг-факторов гипоталамуса.

Наиболее простой способ моделирования гипофункции — хирургическая экстирпация ЩЖ. Однако даже после полного удаления ЩЖ у крыс тиреоидные гормоны из крови полностью не исчезают: через 1 мес после вмешательства уровень T_4 в крови составляет 50—60%, а T_3 — 80—100% от уровня соответствующих контролей [4, 8, 12]. Удаление 2/3 железы вызывает лишь непродолжительное (7—10 дней) и не очень сильное (на 15—40%) снижение концентрации обоих гормонов [6, 7]. Следовательно, с уменьшением повреждения железы реакция со стороны концентрации тиреоидных гормонов в крови также уменьшается. Поэтому можно предположить, что существует такой объем ЩЖ, удаление которого не приведет к статистически значимым изменениям концентрации тиреоидных гормонов в крови.

Обычно операцию тиреоидэктомии производят у молодых животных, так как они ее лучше переносят, чем взрослые. Поэтому одной из целей настоящей работы было адаптировать ме-

тод полной и частичной тиреоидэктомии к взрослым крысам, добившись приемлемого уровня смертности, а также изучить динамику концентрации тиреоидных гормонов (T_4 и T_3) в крови крыс в послеоперационный период после удаления различных объемов ЩЖ.

Материалы и методы

Операцию истинной и ложной тиреоидэктомии проводили под общим наркозом (γ -оксибутират натрия, 1,5 г/кг, внутривенно). Все манипуляции с животными и ЩЖ при ложной операции были такие же, как и при истинной операции, за исключением перевязывания сосудов и удаления железы.

Серия А. Интактных, ложнопериоперированных и тиреоидэктомированных крыс забивали на 2, 7, 14, 21 и 28-е сутки после операции. Сыворотку крови, полученную обычным способом, отбирали в пластмассовые микроконтейнеры и использовали немедленно или хранили до использования при -20°C .

Серия Б. У тиреоидэктомированных и ложнопериоперированных крыс кровь в количестве 0,4—0,5 мл брали прижизненно из надрезанного кончика хвоста 1—2 раза в неделю в пластиковые микропробирки, содержащие 100 ЕД гепарина. Пробирки немедленно центрифугировали 3 мин при 6000 г. Полученную плазму использовали для определения немедленно или хранили при -20°C .

Серия В. У крыс удаляли 100% ЩЖ (1-я группа), 75% (2-я группа), 50% (3-я группа) или 25% ЩЖ (4-я группа). 4-я и 5-я группы были группами адекватного (ложнопериоперированные животные) и интактного контроля. Кровь у этих животных брали 1—2 раза в неделю из надрезанного кончика хвоста.

Концентрацию гормонов в образцах определяли наборами для радиоиммунологического анализа РИА- T_4 -ИПР и РИА- T_3 -ИПР (ХОП ИБОХ НАН Республики Беларусь). Динамика концентрации в экспериментальных группах на рис. 1 выражена в процентах относительно интактного контроля, значение которого принято за 100%.

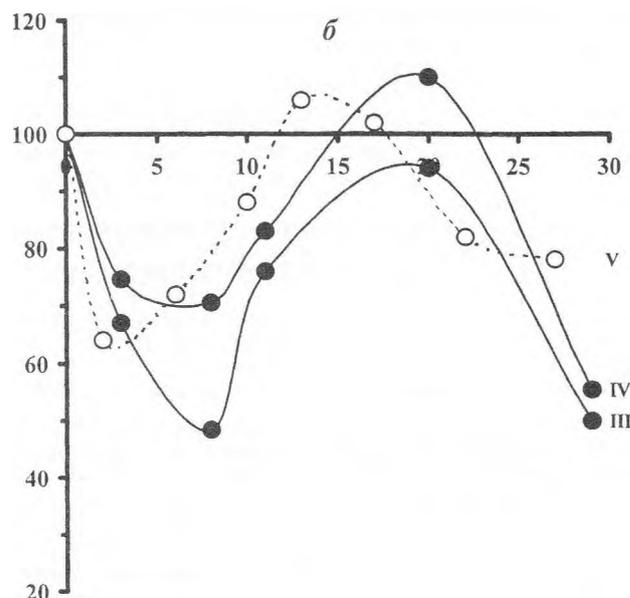
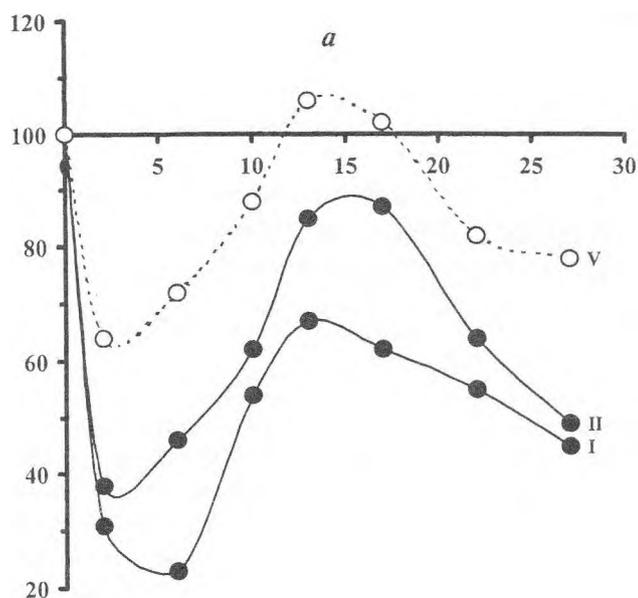


Рис. 1. Динамика концентрации T_4 в крови крысы в послеоперационный период. а — 100% (I) и 75% (II) объема удаления железы, ложная операция (V); б — 50% (III) и 25% (IV) объема удаления железы, ложная операция (V).

Результаты определения концентрации тиреоидных гормонов обрабатывали статистически. Достоверность результатов оценивали с использованием критерия Стьюдента. Разницу между средними арифметическими концентрации тиреоидных гормонов в разных группах считали статистически достоверной при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Паращитовидные железы (ПЩЖ), которые у крысы расположены в толще ЩЖ, также удаляют при экстирпации последней. Если ПЩЖ не пересаживать в другое место, то сохранить их не представляется возможным [2]. Следовательно, обычно операция тиреоидэктомии является операцией паратиреоидтиреоидэктомии. Начальные этапы мы проводили так же, как описано в руководстве Я. М. Кабака [2], с учетом некоторых моментов, отраженных в работе [3]. Как отмечено автором последней работы и что имело место в начале наших исследований, при проведении массовых операций часто наблюдается падеж животных. Среди возможных причин гибели во время и после операции следует назвать механическую асфиксию, обильные кровотечения, грубые нарушения минерального (кальциевого) обмена, пневмонии и др.

Хорошее освещение операционного поля, использование лупы, а также очень осторожная работа режущим инструментом практически исключили гибель животных от асфиксии. Несмотря на то что в ходе операции ПЩЖ также удаляли, проявления гипопаратиреоза (судороги) мы наблюдали только у 2 из 40 тиреоидэктомизированных животных. Однако в дальнейшем, чтобы полностью исключить возможные нарушения минерального обмена, крысам в качестве питья давали 0,2% $CaCl_2$.

Как показала практика, "тугая тампонада" [3] останавливает кровь во время операции, но кровотечения могут возобновиться во время выхода из наркоза, особенно при работе со взрослыми животными. Чтобы исключить это осложнение, на сосуды ЩЖ накладывали 4 шелковые лигатуры на *a.thyreoidea cranialis* и *a.thyreoidea caudalis* (рис. 2). Вместе с последней часто перевязывали и лежащую рядом *v.thyreoidea*. Операционную рану тщательно ушивали и обильно припудривали порошком белого стрептоцида (исключает нагноения).

Операции проводили в теплое время года, животных оберегали от сквозняков. Перечисленные меры позволили снизить падеж животных до приемлемого уровня менее 5%.

Концентрации T_3 и T_4 в крови — весьма лабильный показатель. У интактных животных колебания их концентрации (отношения максимальных значений к минимальным) достигают 2 раза и более [9, 10]. Следовательно, при изучении каких-либо воздействий на концентрацию тиреоидных гормонов требуется одновременный адекватный контроль.

Сравнение динамики концентрации гормонов у ложнооперированных и интактных животных (серия А) показало, что статистически значимые изменения концентрации T_4 после ложной операции наблюдались на 2-е и 28-е сутки. По-видимому, изменения, особенно в ранние сроки, могут быть обусловлены либо последствием наркоза, либо послеоперационным состоянием животных. Поскольку использованный в качестве наркоза γ -оксибутират натрия не вызывает достоверных изменений в концентрации тиреоидных гормонов (см. таблицу), более вероятным является второе предположение. С учетом высказанных

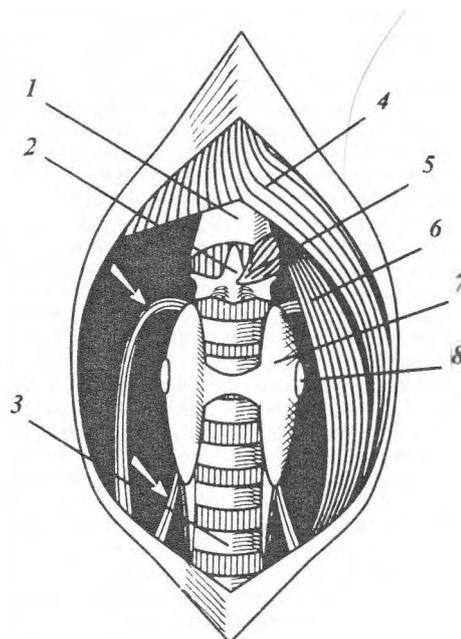


Рис. 2. Схематическое изображение операционного поля при проведении тиреоидэктомии: 1 — щитовидный хрящ; 2 — перстневидный хрящ; 3 — хрящевые полукольца трахеи; 4 — грудинно-подъязычная мышца; 5 — перстневидно-щитовидная мышца; 6 — грудинно-щитовидная мышца; 7 — щитовидная железа; 8 — паращитовидная железа. Стрелками показаны места наложения лигатур. Мышцы на правой стороне удалены.

Концентрация T_3 и T_4 (в нмоль/л) в крови крыс через 2 и 6 сут после применения γ -оксибутирата натрия (1,5 г/кг) без оперативного вмешательства

Время после применения γ -оксибутирата натрия	T_3		T_4	
	контроль	опыт	контроль	опыт
2	$0,67 \pm 0,01$	$0,60 \pm 0,05$	$37,8 \pm 4,0$	$30,7 \pm 1,7$
6	$0,63 \pm 0,06$	$0,50 \pm 0,07$	$35,3 \pm 6,5$	$26,7 \pm 3,6$

замечаний для целей сравнения мы в дальнейшем использовали группу ложнопериоперированных животных.

Тиреоидэктомия вызывает закономерные изменения концентрации тиреоидных гормонов в крови. Уже на 2-е сутки после тиреоидэктомии уровень T_4 снижается примерно на 40% по сравнению с таковым у ложнопериоперированных животных. В этот срок разница концентрации T_4 в крови ложнопериоперированных и тиреоидэктомированных животных еще статистически недостоверна. Однако гипотироксинемия продолжает прогрессировать, и на 7-е сутки уровень T_4 в крови тиреоидэктомированных животных более чем в 3 раза ниже, чем у ложнопериоперированных. К 28-м суткам разница уменьшается и вновь становится статистически недостоверной.

Меньшая разница концентрации T_4 у ложнопериоперированных и тиреоидэктомированных животных на 28-е сутки может свидетельствовать либо о восстановлении тиреоидной функции в этой экспериментальной группе либо о том, что у них сохранилось большое количество тироцитов. Чтобы проверить, какое из этих предположений более вероятно, была выполнена серия Б и у ложнопериоперированных, и у тиреоидэктомированных животных кровь брали прижизненно. Полученные результаты сходны с таковыми в серии А и свидетельствуют в пользу восстановления тиреоидной функции [8], подтверждаемого также данными морфологических исследований [1, 5].

Полное или частичное удаление ЩЖ (серия В) приводит к сходной динамике концентрации T_4 (см. рис. 1, а, б). Во всех группах наблюдается снижение уровня гормона в 1-ю неделю после операции, некоторое повышение к концу 2-й недели и повторное снижение в дальнейшем. При этом уменьшение концентрации T_4 в крови ложнопериоперированных животных в 1-ю декаду после операции, по-видимому, является реакцией организма на травму. На рис. 1 видно, что удаление 25% объема органа практически не усиливает гипотироксинемической реакции на операционную травму. Это усиление имеет место при удалении 50—100% объема железы и обычно пропорционально величине удаленного фрагмента.

Изменения концентрации T_3 имеют сходный, но менее выраженный характер. Заметное снижение содержания гормона (на 40—60% в зависимости от объема резекции) наблюдается только в начальный период, тогда как уже через 1 нед и в последующем разница становится статистически недостоверной, а во 2, 3, 4-й группах можно говорить о полной нормализации. Через 1 мес и в 1-й группе значения не отличаются от контрольных.

Известно, что T_3 попадает в кровь не только из железы, но и из других тканей (печень, почки, селезенка и др.), где при дейодировании T_4 образуется по данным разных авторов [11, 15], от 20 до 80% циркулирующего T_3 . Это объясняет различия послеоперационной динамики концентрации T_3 и T_4 и дает основание утверждать, что динамика концентрации T_4 в большей мере, чем T_3 , способна характеризовать состояние или степень поражения ЩЖ.

Как мы уже отмечали, с уменьшением величины удаленного фрагмента ЩЖ уменьшается типичная реакция концентрации T_4 (выраженность и продолжительность гипотироксинемии) [4, 6—8]. Надо полагать, что существует такой объем железы, удаление которого уже не скажется заметным образом на концентрации T_4 в крови. Из наших данных следует, что этот объем составляет менее 50% величины интактной железы, так как в этом

случае достоверных различий концентрации T_4 в крови оперированных и ложнопериоперированных животных не наблюдали (см. рис. 1, б).

Следовательно, аккуратное удаление всей видимой ЩЖ у крыс сопровождается довольно глубокой и продолжительной (21 сут) гипотироксинемией. К 28-м суткам разница в концентрации T_4 у тиреоидэктомированных и ложнопериоперированных животных уменьшается, а концентрация T_4 уже не различается. Возможно, восстановление уровня T_3 происходит за счет активации дейодирования T_4 в тканях организма с последующим выходом T_3 в кровь. Тенденция к нормализации уровня T_4 свидетельствует в пользу того, что активируется пролиферация тироцитов, которые могли сохраниться на культиках сосудов ЩЖ, либо их экстриморфальных популяций. По-видимому, во избежание путаницы, следует уточнить терминологию, относящуюся к оценке радикальности операции тиреоидэктомии, по крайней мере в эксперименте. На основании динамики тиреоидных гормонов тотальной тиреоидэктомией следует называть полное удаление видимой части ЩЖ с последующим применением мощных химических тиреостатиков [12] или радиоактивных изотопов йода [13, 14], что позволяет добиться атиреоза. Полное удаление видимой части ЩЖ без применения тиреостатиков следует называть субтотальной тиреоидэктомией, а удаление любой части железы — частичной тиреоидэктомией.

Заключение

Таким образом, проведенные исследования подтверждают мнение о том, что ЩЖ обладает значительной устойчивостью к воздействию поражающих факторов, в частности к механическому повреждению, и значительным потенциалом восстановления тиреоидной функции [1, 8, 5]. В связи с этим о поражении ЩЖ на основании изменений концентрации тиреоидных гормонов в крови можно говорить лишь в том случае, когда наблюдается их типичная динамика: вначале снижение, а затем частичная или полная нормализация.

При этом следует иметь в виду, что таковая наблюдается при подавлении не менее 25-50% структурно-функционального потенциала железы. Это имеет место при хирургическом удалении такого объема органа или при введении около 1 МБк ^{131}I [8, 9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Аleshin Б. В., Бриндак О. И., Мамина В. В. // Пробл. эндокринологии. — 1987. — № 6. — С. 67—72.
2. Кабак Я. М. Практикум по эндокринологии. — М., 1968.
3. Корзтяну А. Н. // Пробл. эндокринологии. — 1987. — № 1. — С. 51—53.
4. Косовский М. И., Каткова С. П., Мирхамедов М. М., Рахимджанов Р. Т. // Там же. — 1989. — № 3. — С. 50—54.
5. Павлов А. В., Александров Ю. К., Добордженидзе Т. Р., Мирот Т. Л. // Там же. — 1997. — № 1. — С. 34—36.
6. Яциков С. Н., Глумова В. А. // Бюл. экспер. биол. — 1989. — Т. 107, № 3. — С. 353—356.
7. Яциков С. Н., Глумова В. А., Трусов В. В. // Пробл. эндокринологии. — 1989. — № 1. — С. 83—86.
8. Шкуматов Л. М., Крылова И. И., Маркова А. Г., Багель И. М. // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1994. — № 3. — С. 386—390.
9. Шкуматов Л. М., Крылова И. И., Маркова А. Г., Багель И. М. // Вопр. мед. химии. — 1996. — № 2. — С. 111—114.
10. Шкуматов Л. М., Крылова И. И. // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1999. — № 6. — С. 650—654.
11. Chanoine J. P., Braverman L. E., Farwell A. P. et al. // J. Clin. Invest. — 1993. — Vol. 91. — P. 2709—2713.
12. Dubaniewicz A., Kaciuba-Uscilko H., Nazar K., Budohoski L. // Biochem. J. — 1989. — Vol. 263. — P. 243—247.
13. Escobar-Morreale H. F., Obregon M. J., Hernandez A. et al. // Endocrinology. — 1997. — Vol. 138. — P. 2559—2568.
14. Robert M. Q., Herrera E. // Am. J. Physiol. — 1988. — Vol. 255. — P. E280—E286.
15. Silva J. E., Matthews P. // Endocrinology. — 1984. — Vol. 114. — P. 2394—2405.

Поступила 16.02.01