

Очевидно, отмеченные нарушения в системе МЗЛ являются одним из важных патогенетических механизмов, обуславливающих развитие и усугубление неспецифических воспалительных процессов в легких, отягощающих течение самого СД и потому диктующих необходимость поиска путей их коррекции.

Выводы

1. При экспериментальном аллоксановом диабете наблюдаются нейтрофильная инфильтрация легких и значительное снижение бактерицидной емкости и фагоцитирующей активности АМ.

2. Дисфункция клеточно-гуморальных компонентов и ослабление МЗЛ, являясь отрицательным патогенетическим фактором, ухудшают течение и исход как патологического процесса в легких, так и СД в целом.

3. Для предупреждения возникновения и хронизации воспалительных процессов в респираторной системе при СД требуется поиск средств, нормализующих нарушенные показатели МЗЛ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абелева И. Ю. Функциональное состояние легких у больных сахарным диабетом: Дис. ... канд. мед. наук. — М., 1982.
2. Вискман М. Е., Маянский А. Н. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления НСТ: Метод. рекомендации. — Казань, 1979.
3. Зайнутдинов Б. Р., Борников В. Т., Ишонходжаев Т. М. // Тезисы докл. конф. биохимиков Узбекистана, 17–18 ноября. — Ташкент, 1986. — С. 41–42.
4. Каграманов К. А. Антибиотики, бактериальные полисахариды и интерферон. — М., 1988.
5. Карачунский М. А., Панесюк И. А., Стоилов Л. Д., Филиппов В. П. // Пробл. эндокринологии. — 1997. — Т. 43, № 6. — С. 13–17.
6. Кодолова И. М., Лысенко Л. В., Салтыков Б. Б. // Арх. пат. — 1982. — № 7. — С. 35–40.
7. Лысенко Л. В. // Арх. пат. — 1990. — Т. 52, № 11. — С. 31–36.
8. Лысенко Л. В., Лысенко А. И., Кулик В. П. // Бюл. экспер. биол. — 1990. — Т. 109, № 1. — С. 75–78.
9. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования / Под ред. Е. А. Кост. — М., 1968.
10. Щербак А. В. // Тер. арх. — 1986. — № 8. — С. 148–153.
11. Myznik Q. W., Jeak E. S., Farris B. // J. Immunol. — 1968. — Vol. 86. — P. 133–136.

Поступила 01.04.99

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ. 2000

УДК 612.82.014.018.2:577.175.44].084

О. В. Галкина, В. М. Прокопенко, Ф. Е. Путилина, Н. Д. Ещенко, А. В. Арутюнян

ДЕЙСТВИЕ ИЗОМЕРОВ ТИРОКСИНА НА ПРОЦЕССЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Институт физиологии им. А. А. Ухтомского, Санкт-Петербургский государственный университет;
Институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН

Методом хемилюминесценции (ХЛ) установлены эффективные концентрации для D- и L-изомеров тироксина, а также изучено их влияние на процессы свободнорадикального окисления в митохондриальной и синапсомембранной фракциях из коры головного мозга взрослых крыс *in vitro*. Показано, что в модельной системе с рибофлавином антиокислительная активность D-T₄ была в 2,2 раза выше, чем L-T₄. Значение эффективных концентраций для обеих форм тироксина составили: $I_{50} = 7,43 \cdot 10^{-5} \pm 0,71$ М для D-T₄ и $I_{50} = 15,47 \cdot 10^{-5} \pm 1,23$ М для L-T₄. Для изучения действия тироксина на мембранные фракции коры головного мозга *in vitro* использовали люминолзависимую перекисную ХЛ. В физиологической концентрации ($1 \cdot 10^{-8}$ М) обе формы гормона оказывали одинаковое по интенсивности антиоксидантное действие, которое проявлялось сильнее в митохондриальной фракции, где интенсивность ХЛ снижалась на 69 и 66%, тогда как в синапсомембранной фракции — только на 45 и 46%. Поскольку D-форма не обладает гормональной активностью, можно предположить, что данный эффект связан с фенольной природой тироксина.

Effective concentrations for D and L thyroxine isomers were determined by the chemiluminescent (CL) method and their effects on free radical oxidation in the mitochondrial and synaptosomal fraction of adult rat cerebral cortex were studied *in vitro*. AOA D-T₄ in a model system with riboflavin was 2.2 times higher than L-T₄. Effective concentrations for both thyroxine forms were $I_{50} = 7.43 \times 10^{-5} \pm 0.71$ M for D-T₄ and $I_{50} = 15.47 \times 10^{-5} \pm 1.23$ M for L-T₄. Thyroxine effect on membranous fraction of the brain cortex was studied *in vitro* using luminol-dependent peroxide CL. In normal concentrations (1×10^{-8} M) both hormone forms exerted equally intensive antioxidant effect which was more pronounced in the mitochondrial fraction, where CL decreased by 69 and 66%, while in the synaptosomal fraction it decreased only by 45 and 46%. Since D form possesses no hormonal activity, this effect may be due to phenol origin of thyroxine.

До настоящего времени нет единого мнения о влиянии гормонов щитовидной железы на процессы свободнорадикального окисления (СРО), в том числе перекисного окисления липидов (ПОЛ). Усиление интенсивности ПОЛ при гипертиреозе показано главным образом на тканях-мишенях данных гормонов: скелетных и сердечной мышцах, гладкой мускулатуре, печени [13, 14]. Антиоксидантные свойства тиреоидных гормонов (ТГ) изучены в гораздо меньшей степени и в основном про-

демонстрированы *in vitro*. Тироксин оказывает антиоксидантное действие в микросомальной [15] и митохондриальной [4] фракциях печени, а также способен предотвращать образование свободных радикалов в нейтрофилах [9]. Влияние ТГ на процессы ПОЛ мембран мозга взрослых животных практически не исследовано.

Механизм антиоксидантного действия ТГ точно не известен. Эти гормоны регулируют многие метаболические процессы, оказывающие влияние на

ПОЛ: они способны изменять уровень антиоксидантов, а также степень ненасыщенности жирных кислот [1]. Кроме того, эти гормоны относятся к фенольным соединениям и могут выступать в роли свободных антиоксидантов, напрямую взаимодействуя со свободными радикалами. Тироксин имеет 2 изомера — D и L (D-T₄, L-T₄), обладающих сходным химическим строением и одинаковой растворимостью в липидах. Однако только L-форма гормонально-активна, что, по-видимому, связано с механизмом деиодинации. Считается, что превращение тироксина в трийодтиронин (ферментативная деиодинация) является первым шагом в действии гормонов этой природы. Этому процессу подвергаются только L-изомеры, а D-форма не способна к деиодинации и поэтому лишена биологической активности [12]. В силу этого сравнение антиоксидантных свойств двух изомеров представляется большой интерес.

Цель данной работы заключалась в сравнительном исследовании антиоксидантных свойств двух изомеров тироксина, а также в изучении их влияния на процессы СРО в субклеточных фракциях коры головного мозга взрослых крыс.

Материалы и методы

В работах использовали водный раствор D- и L-тироксина ("Reanal") в 0,01 М NaOH. Оценку общей антиокислительной активности (АОА) тироксина проводили по изменению хемилюминесценции (ХЛ) модельной системы. Для сравнительной оценки АОА двух форм тироксина использовали метод ХЛ рибофлавина с перекисью водорода в присутствии ионов Fe²⁺ [2]. Регистрацию светосуммы (S) осуществляли в течение 2 мин при 37°C на хемилюминиметре "Emilite-1105". Опытная проба содержала D-T₄ и L-T₄ в определенных разведениях вместо соответствующего количества буфера. Величину ингибирования светосуммы рассчитывали по формуле

$$\text{Усл. ед.} = 1 - S_{\text{оп}}/S_{\text{к}}$$

и выражали в процентах. За эффективную концентрацию (I₅₀) принимали концентрацию гормона, ингибирующую величину S на 50%. АОА изомеров тироксина рассчитывали как обратную величину I₅₀ [8].

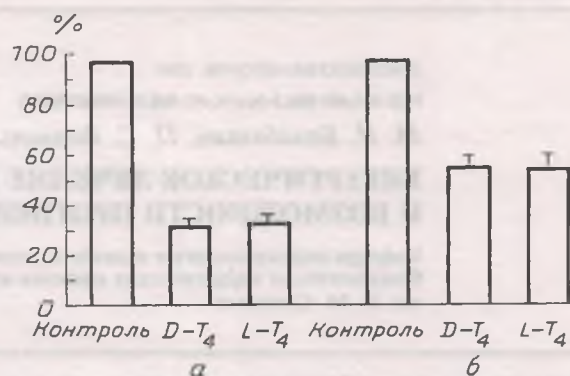
Для исследования АОА различных форм тироксина в субклеточных фракциях головного мозга использовали люминолзависимую перекисную ХЛ [6]. Субклеточные фракции из коры головного мозга выделяли в градиенте плотности сахарозы [11] и разводили в соответствующее количество раз для стандартизации показателей. Конечная концентрация гормона в пробе была 10⁻⁸ М. Интенсивность светосуммы выражали в процентах по отношению к контролю. АОА выражали в условных единицах (как описано выше) и рассчитывали на 1 мг белка. Содержание липидных классов определяли с помощью стандартных методик, как описано ранее [5].

Результаты и их обсуждение

Антиоксидантный эффект обеих форм гормона показан на модельной системе с рибофлавином. Эта система исключает влияние тироксина на мем-

бранные структуры и дает возможность сравнить антиоксидантное действие изомеров, которое в данном случае, видимо, обусловлено прямым взаимодействием с образующимися в ходе окисления рибофлавина свободными радикалами. АОА D-тироксина была в 2,2 раза выше, чем L-тироксина, и составила 0,13 · 10⁵ и 0,06 · 10⁵ соответственно. В ходе эксперимента были установлены эффективные концентрации обеих форм тироксина: I₅₀ = 7,43 · 10⁻⁵ ± 0,71 М для D-T₄ и I₅₀ = 15,47 × 10⁻⁵ ± 1,23 М для L-T₄. Данные концентрации (10⁻⁵ М) аналогичны эффективным концентрациям стероидных гормонов [7], дающих подобный антиоксидантный эффект. Однако эти значения существенно выше средних физиологических концентраций гормонов.

Для изучения действия тироксина на мембранные фракции коры головного мозга *in vitro* наибольший интерес представляло исследование влияния концентраций, близких к физиологическим. В концентрации 1 · 10⁻⁸ М обе формы гормона подавляли интенсивность ХЛ, т. е. оказывали антиоксидантное действие. При этом антиоксидантный эффект был неодинаковым для разных мембранных фракций. Так, в митохондриальной фракции коры головного мозга происходило снижение интенсивности ХЛ на 69 и 66% (см. рисунок, а), а в синапсомембранной фракции — только на 45 и 46% (см. рисунок, б). Вероятно, выявленные различия отражают специфику протекания свободнорадикальных процессов в этих субклеточных фракциях коры, что, по-видимому, связано с различиями в липидном составе, структурных и функциональных особенностях этих субклеточных структур. Так, при исследовании интенсивности свечения различных субклеточных фракций наибольшей интенсивностью обладали именно митохондрии [3]. Полученные нами данные о содержании фосфолипидов, ненасыщенные жирнокислотные цепи которых являются основным субстратом ПОЛ, показывают, что их содержание в митохондриальной фракции несколько выше, чем в синапсомембранной. На долю фосфолипидов в общем липидном пуле во фракции митохондрий приходится 66%, а в синапсомембранах — 60%. В то же время во фракции нервных окончаний присутствует более высокий



Влияние D- и L-изомеров тироксина в концентрации 10⁻⁸ М на уровень люминолзависимой перекисной ХЛ в субклеточных фракциях коры головного мозга крыс

а — митохондриальная фракция; б — синапсомембранная фракция.

Таблица 1

Содержание общих липидов, общих фосфолипидов и холестерина в субклеточных фракциях коры головного мозга крыс (в мг/г ткани)

Субклеточная фракция	Содержание общих липидов	Содержание холестерина	Содержание фосфолипидов
Митохондриальная	4,38 ± 0,04 (n = 6)	0,52 ± 0,11 (n = 6)	2,94 ± 0,25 (n = 6)
Синаптосомальная	8,23 ± 0,47* (n = 6)	1,49 ± 0,15* (n = 6)	4,94 ± 0,40* (n = 6)

Примечание. * — $p < 0,01$.

Таблица 2

АОА D- и L-изомеров тироксина в субклеточных фракциях коры головного мозга крыс (в усл. ед./мг белка)

Субклеточная фракция	D-тироксин	L-тироксин
Митохондриальная	102,7 ± 7,8 (n = 5)	97,9 ± 5,5 (n = 5)
Синаптосомальная	30,0 ± 2,8* (n = 5)	30,9 ± 4,9* (n = 5)

Примечание. * — $p < 0,01$ по сравнению с митохондриальной фракцией.

уровень холестерина, считающегося основным стабилизатором мембран [10] (табл. 1).

При сравнении АОА двух форм гормона она оказалась одинаковой как в митохондриальной, так и в синаптосомальной фракциях коры головного мозга (табл. 2). Эти данные позволяют предположить, что антиоксидантный эффект в данном случае не связан с проявлением гормональной активности, поскольку активным в этом отношении является только L-изомер. Известно также, что трийодтиронин, дающий гораздо больший биологический эффект, проявляет меньшую антиоксидантную активность, чем тироксин [15]. Видимо, антиоксидантный эффект ТГ в данном случае связан с их химическим строением. Как уже говорилось выше, имея фенольную природу, гормоны щитовидной железы, как и стероидные, могут действовать как истинные антиоксиданты. В основе механизма действия таких антиоксидантов лежит реакция взаимодействия молекулы ингибитора непосредственно с радикалом, ведущим цепь окисле-

ния. Ингибирование заключается в образовании устойчивого радикала ингибитора, не способного вступать в новые свободнорадикальные реакции. Образование устойчивого феноксирадикала тироксина было показано Wynn [15] при изучении микросомального окисления в печени. При этом тироксин проявлял антиоксидантные свойства.

Выводы

1. Эффективные концентрации D- и L-изомеров тироксина аналогичны таковым стероидных гормонов, дающих подобный антиоксидантный эффект, и составляют 10^{-5} М.

2. В физиологической концентрации 10^{-6} М обе формы гормона оказывают антиоксидантное действие в субклеточных фракциях коры головного мозга крыс независимо от наличия биологической активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антипенко Е. Н., Антипенко А. Е., Кавешникова И. В. и др. // Успехи совр. биол. — 1994. — Т. 114, Вып. 5. — С. 558—572.
2. Бурмистров С. О., Опарина Т. И., Прокопенко В. М., Арутюнян А. В. // Клин. лаб. диагн. — 1997. — № 11. — С. 14—17.
3. Владимиров Ю. А. Сверхслабые свечения при биохимических реакциях. — М., 1966.
4. Владимиров Ю. А., Гусаков В. М., Федоров В. К. и др. // Бюл. exper. биол. — 1977. — Т. 83, № 5. — С. 558—560.
5. Галкина О. В. Вестн. СПбГУ. — 1995. — Сер. 3. — Вып. 2, № 10. — С. 63—67.
6. Прокопенко В. М., Арутюнян А. В., Фролова Е. В. и др. // Бюл. exper. биол. — 1997. — Т. 124, № 12. — С. 632—634.
7. Сергеев В. П. Стероидные гормоны. — М., 1984.
8. Шерстнев М. П. // Вopr. хемилюминесценции. — 1991. — Т. 1, № 2. — С. 13—15.
9. Aoyagi K., Takeshige K., Minakami S. // Biochim Biophys. Acta — 1991. — Vol. 1093, N 2/3. — P. 223—228.
10. Bastiaanse E., Hold K., Van der Laarse A. // Cardiovasc. Res. — 1997. — Vol. 33, N 2. — P. 272—283.
11. Hajos F. // Brain Res. — 1975. — Vol. 93, N 3. — P. 485—489.
12. Hulbert A. J. // J. Theoret. Biol. — 1978. — Vol. 73, N 1. — P. 81—100.
13. Morini P., Casalino E., Sblano C., Landriscina C. // Int. J. Biochem. — 1991. — Vol. 23, N 10. — P. 1025—1030.
14. Venditti P., Balestrieri M., Di Meo S., De Leo T. // J. Endocrinol. — 1997. — Vol. 155, N 1. — P. 151—157.
15. Wynn J. // Arch. Biochem. — 1968. — Vol. 126, N 3. — P. 880—891.

Поступила 11.05.99

♦ ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ. 2000

УДК 616.441-006.5-06:616.441-008.61-089.87(048.8)

М. И. Балаболкин, П. С. Ветшев, Н. А. Петунина, Л. В. Трухина

ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ДИФFUЗНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ЗОБА И ВОЗМОЖНОСТИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЕГО РЕЗУЛЬТАТОВ

Кафедра эндокринологии и диабетологии (зав. — проф. М. И. Балаболкин) ФППО ММА им. И. М. Сеченова, Факультетская хирургическая клиника им. Н. Н. Бурденко (дир. — проф. С. А. Давлани) ММА им. И. М. Сеченова

Большинство наиболее авторитетных исследователей в области тиреологии сходятся во мнении о том, что идеальное лечение при диффузном токсическом зобе (ДТЗ) должно обеспечивать быстрое устранение клинических симптомов тирео-

токсикоза и сопровождаться минимальным риском осложнений для больного [1, 2, 7]. К сожалению, в настоящее время клиническая практика не располагает методом лечения, в полной мере отвечающим этим требованиям. Выбор метода лечения при