

12. Supaviali P., Cortes R., Palacios J. et al. // Modulation of Central and Peripheral Transmitter Function / Eds G. Biggio et al.— New York, 1986.— P. 453—457.
13. Sutanto W., Handelsman G., De Kloet E. // Neuroendocr. Lett.— 1988.— Vol. 10, N 4.— P. 280.

Поступила 07.05.93

T. M. Mishunina, V. Ya. Kononenko — KINETIC PARAMETERS OF GABA RECEPTOR BINDING BY RAT ADENOHYPOPHYSAL MEMBRANES UNDER CONDITIONS OF MODELLING VARIOUS CORTICOSTEROID AND ACTH LEVELS IN THE BODY

Kinetic parameters of ^{14}C -GABA specific binding by rat adenohypophyseal plasma membranes were studied in experiments on modelling various corticosteroid and ACTH

levels in animal body. A single hydrocortisone injection did not change K_d for high- and low-affinity GABA receptors, the number of the former (B_{max}) increasing in this case. Repeated hydrocortisone injections were associated with K_d reduction for high-affinity GABA receptors and a noticeable increase of K_d for low-affinity receptors, with their number reducing. ACTH injection did not change the kinetic parameters of GABA binding with receptors. The number of high-affinity GABA receptors and their affinity reduced after removal of adrenals whereas the number of low-affinity receptors in this case was increasing. A single hydrocortisone injection to adrenalectomized rats had a normalizing effect on adenohypophyseal GABA receptors. Analysis of the results and changes in blood hormonal levels indicated that affinity changes in high-affinity receptors and changed number of low-affinity adenohypophyseal GABA receptors correlated with changes in ACTH and hydrocortisone changes.

© С. И. КРАЙНОВА, В. И. КАНДРОР, 1993

УДК 616.441-006.5-07:616.153.96-097-078.33

С. И. Крайнова, В. И. Кандор

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНТИТЕЛ ИЗ СЫВОРОТОК БОЛЬНЫХ АУТОИММУННЫМИ ТИРЕОПАТИЯМИ С ИЗОЛИРОВАННЫМИ КЛЕТКАМИ ДИФFUЗНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ЭУТИРЕОИДНОГО УЗЛОВОГО ЗОБА

Лаборатория патофизиологии (зав.— проф. В. И. Кандор) Эндокринологического научного центра (дир.— член-корр. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Москва

Основные аутоиммунные заболевания щитовидной железы (ЩЖ) включают диффузный токсический зоб — ДТЗ (болезнь Грейвса) и хронический тиреоидит (болезнь Хашимото) с его вариантами. В последние годы наблюдается отчетливый рост распространенности этих заболеваний [3], что делает актуальным углубленное изучение их патогенеза.

Несмотря на некоторые общие черты в клинической картине и морфологии ЩЖ при двух указанных заболеваниях, дифференциальный диагноз между ними в большинстве случаев вполне возможен. ДТЗ, как известно, характеризуется гиперплазией тиреоидной паренхимы с частым присутствием в ней того или иного количества лимфоидных элементов. При тиреоидите Хашимото (ТХ), наоборот, наблюдаются уменьшение функционирующих элементов тиреоидной ткани с замещением их лимфоцитами различных субпопуляций, а также более или менее выраженный фиброз железы.

Учитывая доказанную роль аутоиммунных механизмов в патогенезе обоих заболеваний, можно было предполагать, что такие механизмы при каждом из них отличаются своеобразием, приводя в одном случае (ТХ) к убыли функциональных элементов тиреоидной паренхимы, а в другом (ДТЗ) — к их активации и гиперплазии. В связи с этим нам представлялось целесообразным оценить возможные различия в эффективности иммунологических механизмов цитотоксичности по отношению к изолированным тиреоцитам при обоих заболеваниях.

Известно существование ряда видов цитотоксичности: клеточной, антителозависимой клеточно-опосредованной (АЗКЛОЦ) и, наконец, антителозависимой комплементопосредованной (АЗКОЦ). В данной работе мы проанализировали только последний вид цитотоксичности, поскольку при тиреоидной патологии он получил наименьшее освещение в литературе [10].

Материалы и методы

Пациенты. Сыворотки были получены от 46 больных ДТЗ (41 женщина и 6 мужчин в возрасте 21—60 лет) и от 48 больных ТХ (42 женщины и 6 мужчин в возрасте 15—65 лет) с впервые выявленными заболеваниями, обследованных в клинических подразделениях Эндокринологического научного центра (ЭНЦ) РАМН (канд. мед. наук Н. Ю. Свириденко) с использованием данных гормональных и гистологических исследований.

Первичные клеточные культуры. Клетки выделяли из наиболее доступной ткани ДТЗ (полученной при операции). Учитывая возможные изменения антигенного состава поверхности таких клеток, мы сочли целесообразным проверить действие испытуемых сывороток и на относительно нормальных тиреоцитах. Материалом для получения последних служила околоушная ткань больных с эутиреоидным узловым зобом (ЭУЗ). Все операции выполнены в хирургическом отделении ЭНЦ РАМН (канд. мед. наук Э. Н. Базарова).

Ткань измельчали ножницами, обрабатывали коллагеназой В («Boehringer», ФРГ) в концентрации 1 мг/мл в растворе Хенкса, не содержащем Ca^{2+} и Mg^{2+} , в течение 2,5—3 ч при 37 °С на водяной бане со встряхиванием. Полученный материал дробили пипетированием, пропускали через капроновый фильтр, центрифугировали трижды в среде МЕМ на центрифуге ОПН-ЗУХЛ 4,2 по 30 с при 1500 об/с и помещали в ростовую среду (среда 199 с 5 % эмбриональной сыворотки теленка, 0,6 мг/мл глутамина, 2,4 мг/мл НЕРЕС, по 50 ЕД/мл пенициллина и стрептомицина). Судя по окраске витальным красителем (трипановый синий), число живых клеток в суспензии составляло 95—100 %. Клеточная суспензия состояла из одиночных клеток и небольших кластеров, насчитывающих 5—20 клеток. Клетки рассаживали в 96-луночные планшеты с плоским дном (по 200 000 клеток в 1 лунку с 200 мкл ростовой среды). В тот же день к клеткам добавляли ^3H -тимидин (2 мКи/мл) и инкубировали 72 ч при 37 °С во влажном воздухе, насыщенном CO_2 . В дальнейшем мы отказались от культивирования клеток. В этом случае клетки (по 200 000 клеток в 30 мкл ростовой среды) рассаживали в лунки с покрытым агаром дном. Поскольку результаты исследования цитотоксичности испытуемых сывороток в обоих случаях были идентичными, данные объединили.

Определение цитотоксичности. В опытах с использованием ^3H -тимидина жидкость из лунок с прикрепившимися к дну клетками удаляли. Клетки трижды промывали средой 199 и затем добавляли к ним 30 мкл среды 199, 30 мкл испытуемой сыворотки (прогретой в течение 30 мин при 56 °С для инактивации собственного комплемента) и 30 мкл комплемента, источником которого служила высушенная кроличья сыворотка, разведенная по инструкции средой 199. Инку-

Таблица 1

Частота встречаемости АЗКОЦ в сыворотках больных ДТЗ и ТХ на клетках, выделенных из тканей ДТЗ и ЭУЗ

Сыворотки больных	Частота выявления цитотоксичности, %		p
	тиреоциты из ДТЗ	тиреоциты из ЭУЗ	
ДТЗ	36 (14/39)	79 (27/34)	<0,01
ТХ	73 (24/33)	70 (19/27)	>0,5
p	<0,01	>0,5	

Примечание. В скобках в числителе — количество цитотоксичных сывороток, в знаменателе — общее количество исследованных сывороток.

клетках ЭУЗ. Для сывороток больных ТХ таких различий нет.

Следует отметить, что U. Vogner и соавт. [8], проверяя АЗКЛОЦ сывороток больных ДТЗ и ТХ на клетках ДТЗ, также обнаружили, что только единичные сыворотки больных ДТЗ оказывали цитотоксическое действие, тогда как практически все сыворотки больных ТХ обладали цитотоксичностью на этих клетках. Как и в наших опытах, эти авторы установили, что сыворотки больных ТХ сохраняют свою цитотоксичность при проверке на клетках ЭУЗ. Однако действие сывороток больных ДТЗ на клетки ЭУЗ они не проверяли, что, вероятно, и не позволило им обнаружить наблюдавшиеся нами различия.

Степень цитотоксичности во всех наших экспериментах оказалась примерно одинаковой (количество погибших клеток при использовании разных тканей и разных сывороток в среднем составляло около 45 %). Единственным исключением явились результаты испытания сывороток больных ДТЗ на ткани ЭУЗ, когда количество погибших клеток (52 %) существенно ($p < 0,05$) превышало этот показатель на другой ткани и с другими сыворотками на разных тканях.

Таким образом, исходное предположение, согласно которому сыворотки больных ТХ должны обладать и более частой цитотоксичностью по отношению к тиреоцитам, чем сыворотки больных ДТЗ, подтвердилось лишь частично: предполагавшиеся различия проявлялись только на клетках ДТЗ и не обнаруживались на, казалось бы, более адекватном объекте — «интактных» тиреоцитах из околоушной ткани ЭУЗ.

Таблица 2

Присутствие МкАт в обладающих и не обладающих АЗКОЦ сыворотках больных ДТЗ и ТХ

Сыворотки больных	Клетки из ДТЗ	Клетки из ЭУЗ
ДТЗ:		
цитотоксические	5/5	13/15
нецитотоксические	11/14	5/6
ТХ:		
цитотоксические	7/15	5/10
нецитотоксические	6/7	1/6

Примечание. В числителе — количество сывороток, содержащих МкАт; в знаменателе — общее количество исследованных сывороток.

бацию продолжали еще 18 ч в тех же условиях. Для отделения живых, прикрепленных к дну лунки клеток от лизированных лунки промывали 8 раз средой 199. Оставшиеся живые клетки разрушали 10 % NaOH. Щелочной лизат нейтрализовали и помещали в толуоловый синтиллятор. Радиоактивность определяли на бета-счетчике «Magk-3». Результаты выражали в процентах по формуле:

$$ЦТ = \frac{A - B}{A} \cdot 100,$$

где ЦТ — цитотоксичность испытуемой сыворотки, А — число импульсов в 1 мин в лунках с сывороткой доноров, В — то же в лунках с испытуемой сывороткой. Все определения проводили в 4 параллельных пробах с вычислением средней. В каждом опыте часть клеток инкубировали с цитотоксической сывороткой без комплемента и с комплементом без сыворотки для исключения цитотоксического эффекта каждого из компонентов реакции, а также вообще без сыворотки и комплемента для исключения возможной цитотоксичности донорской сыворотки. Последняя представляла собой пул сывороток 10 здоровых лиц (получено со станции переливания крови МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского).

В опытах, проводимых по альтернативной методике (без культивирования с ³H-тимидином), к клеточной суспензии сразу же добавляли 30 мкл испытуемой сыворотки, инкубировали 30 мин при 37 °С, добавляли 30 мкл комплемента и точно так же инкубировали еще 18 ч. По окончании инкубации в каждую лунку добавляли по 10 мкл формалина. Число целых клеток (т. е. оставшихся живыми перед добавлением формалина) подсчитывали в камере Горяева. То обстоятельство, что целыми в данных условиях оставались только живые клетки, дополнительно проверялось с помощью витального красителя. Добавление формалина позволяло проводить подсчет нелизированных клеток через длительное время после опыта. Результаты оценивали по приведенной выше формуле, где А — число клеток в лунках с донорской сывороткой, В — в лунках с испытуемой сывороткой [2].

Исследование аутоантител. В испытуемых сыворотках определяли присутствие антител к микросомальному тиреоидному антигену с использованием иммунофлуоресцентного метода [6] и метода непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

Для выяснения возможных различий в антигенном составе поверхностной мембраны тиреоцитов из ДТЗ и ЭУЗ соответствующие клетки культивировали 72 ч в ростовой среде, а затем использовали их в качестве антигена для непрямого ИФА [1]. Сравнивали степень связывания антител, присутствующих в сыворотках больных с аутоиммунными заболеваниями ЩЖ, с клетками, полученными из обеих тканей. Результаты выражали как разницу величин оптической плотности (D_{492}) для испытуемой и донорской сывороток на клетках одного вида и сравнивали эти данные, полученные на клетках разных видов. Каждую сыворотку проверяли на 3 культурах из ткани ДТЗ и на 2 культурах из ткани ЭУЗ в 4 параллелях. Эти исследования выполнялись в лаборатории молекулярной эндокринологии Института экспериментальной эндокринологии ЭНЦ РАМН. Полученные данные обрабатывали математически [7].

Результаты и их обсуждение

В табл. 1 приведены данные о частоте встречаемости АЗКОЦ в сыворотках больных аутоиммунными тиреопатиями в зависимости от использованной ткани.

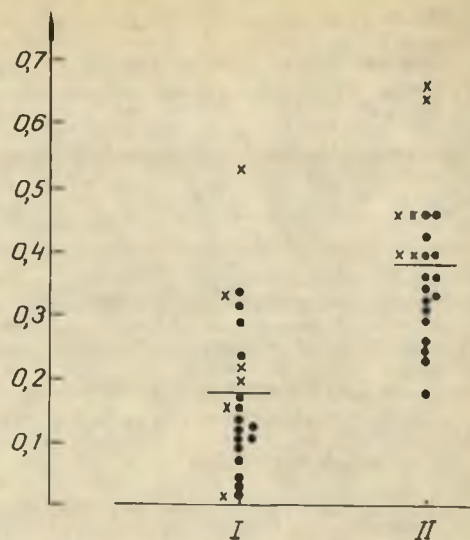
Как видно из табл. 1, при использовании в качестве объекта воздействия клеток околоушной ткани ЭУЗ (которые мы рассматриваем как относительно интактные) различия в частоте цитотоксичности сывороток лиц с обоими аутоиммунными заболеваниями отсутствуют. Однако эти различия отчетливо выявляются при проверке цитотоксичности на клетках ДТЗ. В этом случае сыворотки больных ТХ проявляют АЗКОЦ вдвое чаще, чем сыворотки больных ДТЗ. Одновременно выяснилось, что сыворотки больных ДТЗ на клетках ДТЗ проявляют АЗКОЦ гораздо реже, чем на

Поскольку выявленные различия в частоте АЗКОЦ сывороток больных ДТЗ и ТХ на клетках из разных тканей могли зависеть как от особенностей самих сывороток, так и от свойств разных тканей, необходимо было сравнить эффект одних и тех же сывороток на клетках из разных тканей. При проведении такого анализа оказалось, что из 27 сывороток больных ДТЗ, проверенных на обоих типах клеток, только 11 (41 %) проявляли АЗКОЦ на обоих объектах; 5 (18 %) были нецитотоксическими на обоих объектах, 11 (41 %) — цитотоксическими только на клетках ЭУЗ. Следовательно, при испытаниях одних и тех же сывороток подтвердился вывод о том, что около 50 % сывороток больных ДТЗ, проявляющих цитотоксичность на околоузловой ткани, не обладают такой активностью на клетках ДТЗ. Это означает, очевидно, что различия в эффекте сывороток больных ДТЗ на клетках разных тканей обусловлены особенностями именно клеток, а не сывороток.

Полученные данные могли бы указывать на дефицит каких-то антигенов на поверхности тиреоцитов из ткани ДТЗ, с которыми взаимодействуют цитотоксические антитела, присутствующие в сыворотках больных ДТЗ. Принципиальная возможность «сброса» клетками поверхностных антигенов доказана на примере мембранных рецепторов [4]. Известно также, что количество поверхностных клеточных антигенов существенно уменьшается в условиях активной пролиферации, характерной, в частности, для тиреоидной ткани при ДТЗ. Существование при ДТЗ антител, направленных против антигенов, количество которых резко снижено, могло бы объясняться следующим образом. Как показывают опыты на тиреоцитах из ЭУЗ, такие антигены присутствуют на клетках нормальной ЩЖ. Аутоиммунные заболевания характеризуются поликлональной активацией антителогенеза [14], при которой логично ожидать появления и цитотоксических антител. В этом случае «сброс» тиреоцитами столь опасных антигенов мог бы рассматриваться как некая компенсаторная реакция при ДТЗ, направленная на сохранение органа (ЩЖ) в условиях персистенции цитотоксических антител в сыворотке. Возможность длительной персистенции тиреоидных аутоантител даже при полном отсутствии антигена была продемонстрирована на примере лиц, перенесших тотальную экстирпацию ЩЖ по поводу ее аутоиммунного поражения [5]. Кроме того, отсутствие корреляции между наличием цитотоксических антител и морфологической картиной пораженной аутоиммунным процессом органа [12] свидетельствует о том, что наличие антител не означает реализации их эффекта.

Не исключено также, что соответствующие антигены на тиреоцитах из ДТЗ оказываются «прикрытыми» какими-то аутоантителами, сохраняющимися на поверхности этих клеток в процессе выделения последних. В таком случае «прикрывающие» антитела явно не являются носителями АЗКОЦ, поскольку при добавлении к клеткам только комплемента (без сыворотки) гибели клеток не наблюдалось. Этот вопрос нуждается в дальнейшем изучении.

В то же время сыворотки больных ТХ не имели различий в действии на клетки из разных



Связывание антител из сывороток крови больных ДТЗ и ТХ с тиреоцитами, изолированными из ткани ДТЗ и ЭУЗ.

По оси ординат — разница между показателями экстинкции ($D_{0.02}$) сывороток больных и донорской сыворотки. Точки — сыворотки больных ДТЗ; крестики — сыворотки больных ТХ. I — тиреоциты из ДТЗ; II — тиреоциты из околоузловой ткани ЭУЗ.

тканей: из 14 таких сывороток 9 оказались цитотоксическими, а 5 не проявляли АЗКОЦ на обоих видах клеток. На основании этого можно сделать вывод, что по крайней мере часть цитотоксических антител, присутствующих в сыворотках лиц с обоими аутоиммунными заболеваниями, направлена к разным поверхностным антигенам тиреоцитов. В противном случае при исследовании сывороток больных ТХ мы должны были бы наблюдать те же различия на разных тканях, что и для сывороток больных ДТЗ.

Среди антииреоидных аутоантител, идентифицированных в настоящее время, фиксирующими комплемент и цитотоксическими принято считать антитела к микросомальному тиреоидному антигену (МкАт) [13]. Поэтому представляло интерес сопоставление АЗКОЦ исследуемых сывороток с присутствием в них таких антител. Результаты этого сопоставления приведены в табл. 2.

На первый взгляд, представляется, что АЗКОЦ сывороток больных ДТЗ обусловлена именно присутствием МкАт. Действительно, при проверке на клетках из ДТЗ все 100 % цитотоксических сывороток больных ДТЗ содержали МкАт, а цитотоксических по клеткам ЭУЗ сыворотках больных ДТЗ МкАт обнаруживались в 87 % случаев. Однако при более подробном анализе роль МкАт в качестве носителя АЗКОЦ сывороток оказывается далеко не столь значительной. Так, среди нецитотоксических сывороток больных ДТЗ (независимо от вида клеток, на которых проверяли АЗКОЦ) МкАт содержал примерно такой же высокий процент сывороток (78 и 83). Сравнение полученных результатов с помощью критерия χ^2 показало отсутствие значимых различий ($p > 0.5$) в частоте обнаружения МкАт в цитотоксических и нецитотоксических сыворотках больных ДТЗ. Аналогичные данные получены при анализе роли МкАт в АЗКОЦ сывороток больных ТХ. В этом случае только около 50 % цитотоксических (при исследовании на клетках обоих видов) сывороток содержали МкАт, причем среди нецитотоксических сывороток этих больных также обнаруживались

содержащие МкАт. Статистический анализ не выявил значимых различий ($p > 0,3$) в частоте обнаружения МкАт между цитотоксическими и нецитотоксическими сыворотками.

Полученные данные, с одной стороны, подтверждают мнение с гетерогенности популяции МкАт [13], а с другой — демонстрируют присутствие в крови больных с аутоиммунными заболеваниями ЩЖ цитотоксических антител, отличных от МкАт. Следует подчеркнуть, что среди немикросомальных антител к поверхностным антигенам тиреоцитов уже давно предполагалось существование антител, обладающих цитотоксическим эффектом [13].

В связи с обсуждаемой проблемой возникает вопрос об участии МкАт в том или ином виде цитотоксичности — АЗКОЦ или АЗКЛОЦ. В литературе нет четких данных по этому вопросу. Отмечалось, что цитотоксический эффект МкАт обусловлен именно связыванием компонента [13]. Вместе с тем U. Vogner и соавт. [9] исследовали МкАт с точки зрения их роли в АЗКЛОЦ. Эти авторы не обнаружили корреляции между цитотоксическим эффектом сывороток и присутствовали в них МкАт. Учитывая отмеченную выше гетерогенность популяции МкАт, можно допустить их участие в обоих видах цитотоксичности.

Как подчеркивалось выше, АЗКОЦ ряда сывороток больных ДТЗ, проявляясь на «нормальных» тиреоцитах, не проявляется на клетках из ДТЗ. Мы заключили, что это может быть связано с дефицитом некоторых антигенов на последних клетках по сравнению с клетками ЭУЗ. Для проверки этого заключения мы оценивали степень связывания антител, присутствующих в 22 сыворотках больных ДТЗ и ТХ, с клетками обоих типов, использованных в качестве антигена при ИФА. Результаты соответствующих экспериментов показали, что независимо от наличия или отсутствия разницы в АЗКОЦ сывороток на разных клетках 21 из 22 проанализированных сывороток проявляла существенно меньшее связывание с клетками ДТЗ, чем с клетками ЭУЗ ($p < 0,01$). Для отдельных сывороток эта разница колебалась от 20 до 90 %, составляя в среднем 46 % (см. рисунок). Весьма интересен тот факт, что такая разница отмечена и для сывороток, которые не имели различий в цитотоксичности на клетках из разных тканей (часть сывороток больных ДТЗ и все сыворотки больных ТХ). Это означает, по-видимому, что клетки ДТЗ дефицитны не только по тем антигенам, с которыми взаимодействуют цитотоксические антитела, но и по ряду других антигенов.

При данной постановке эксперимента вновь возникает вопрос о возможности «прикрытия» поверхностных антигенов тиреоцитов из ткани ДТЗ эндогенными антителами. Однако такую возможность необходимо исключить, поскольку в контрольных пробах (в отсутствие добавленной сыворотки) меченые антитела к иммуноглобулинам человека не взаимодействовали с испытуемыми клетками.

В этом контексте целесообразно упомянуть известный факт экспрессии антигенов II класса гистосовместимости на клетках ЩЖ при ее ауто-

иммунном поражении (в данном случае на клетках ДТЗ) [11]. Полученные нами результаты показывают, что это обстоятельство не приводит к повышению уязвимости тиреоцитов цитотоксическими антителами.

Выводы

1. При исследовании на тиреоцитах, изолированных из ткани ДТЗ, сыворотки больных ТХ проявляют АЗКОЦ существенно чаще, чем сыворотки больных ДТЗ. Эта разница отсутствует при исследовании сывороток на клетках из околоузловой ткани ЭУЗ.

2. Ряд сывороток больных ДТЗ, обладающих АЗКОЦ на «нормальных» тиреоцитах, не проявляет ее на клетках из ДТЗ, что указывает на дефицитность последних клеток по антигенам, с которыми взаимодействуют цитотоксические антитела, присутствующие в сыворотках больных ДТЗ. В отношении цитотоксических антител, присутствующих в сыворотках больных ТХ, дефицит соответствующих антигенов на клетках из ДТЗ не выявляется. Это означает, что антитела — носители АЗКОЦ при разных аутоиммунных заболеваниях ЩЖ взаимодействуют с разными антигенами поверхности тиреоцитов.

3. Антитела к микросомальному тиреоидному антигену гетерогенны по своим цитотоксическим свойствам. Часть цитотоксических антител, присутствующих в сыворотках лиц с аутоиммунными заболеваниями ЩЖ, вообще не принадлежит к группе МкАт.

4. Количество антигенов на поверхности тиреоцитов из ткани ДТЗ, связывающих антитела, присутствующие в сыворотках больных с аутоиммунными тиреопатиями, примерно вдвое меньше количества соответствующих антигенов на поверхности тиреоцитов из околоузловой ткани ЭУЗ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горскова В. А., Кеда Ю. М., Крюкова И. В. и др. // Пробл. эндокринол. — 1990. — № 6. — С. 8.
2. Иммунологические методы / Под ред. Г. Фримеля: Пер. с нем. — М., 1987. — С. 289.
3. Клиническая эндокринология / Под ред. Н. Т. Старковой. — М., 1991.
4. Кульберг А. Я. Молекулярная иммунология. — М., 1985.
5. Океанова Т. А., Внотченко С. Л., Федосеева Г. И. и др. // Тер. арх. — 1990. — № 9. — С. 281.
6. Урбанавичюс В. Ю., Данис Ю. К., Некрасова Л. В. и др. // Пробл. эндокринол. — 1990. — № 6. — С. 3.
7. Урбах В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. — М., 1975.
8. Bogner U., Schleusener H., Wall J. R. // J. clin. Endocr. Metab. — 1984 — Vol. 59, N 4. — P. 734.
9. Bogner U., Wall J. R., Schleusener H. // Acta endocr. (Kbh.). — 1987. — Suppl. 281. — P. 133.
10. Burrow G. N., Oppenheimer J. H., Volpé R., Thyroid Function and Disease. — Philadelphia, 1989.
11. Khoury E. L., Greenspan J. S., Greenspan F. S. // J. clin. Endocr. Metab. — 1988. — Vol. 67, N 5. — P. 992.
12. Thyroid Autoimmunity / Eds A. Pinchera, S. H. Ingbar, J. M. McKenzie et al. — New York, 1987. — P. 117.
13. Volpé R. Autoimmune Diseases of the Endocrine System. — Boca Raton, 1990.
14. Wall J. R., Kuroki T. // Med. Clin. N. Amer. — 1985. — Vol. 69, N 5. — P. 913.

Blood sera of 46 patients with diffuse toxic goiter (DTG) and of 48 ones with Hashimoto's thyroiditis (HT) were tested for antibodies—complement-mediated cytotoxicity carriers (ACMMC). ACMMC targets were isolated DTG cells and cells of euthyroid nodular goiter (ENG) perinodular tissue. Antimicrosomal antibodies were assayed in the sera by indirect immunofluorescence and antibodies to all thyrocyte surface antigens isolated from both tissue samples were determined by solid-phase enzyme immunoassay. When DTG cells were targets, DTG patients' sera detected ACMMC in 36 % of cases and HT patients' sera in 73 % of cases ($p < 0.001$).

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1993

УДК 615.357:577.175.53].015.4.076.9

В. В. Ракицкая, В. Г. Шаляпина, Н. Л. Войлокова, Н. Ф. Суворов, Е. В. Туркина

АКТИВАЦИЯ СИМПАТИКО-АДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ ВВЕДЕНИЕМ КОРТИКОЛИБЕРИНА В ХВОСТАТОЕ ЯДРО СОБАК

Лаборатория физиологии и патологии эндокринной системы (зав. В. Г. Шаляпина) и лаборатория физиологии высшей нервной деятельности (зав. В. Т. Шуваев) Института физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

Сейчас уже не вызывает сомнения тот факт, что специфический активатор адrenoкортикотропной функции кортиколиберин (КЛ) одновременно является сильным возбудителем симпатико-адреналовой системы. Введенный в кровяное русло или в желудочки мозга, он существенно повышает содержание в крови адреналина (А), норадреналина (НА) и усиливает многие вегетативные процессы, зависящие от симпатической иннервации [5, 8]. Нет до сих пор каких-либо убедительных данных о механизме действия КЛ на симпатико-адреналовую систему, так же как и о месте приложения его эффекта на хромаффинные элементы. Однако в ряде работ [7, 9] обращается внимание на то, что одновременно с симпатической активностью этот гормон вызывает и многочисленные поведенческие эффекты, особенно те из них, которые экспрессируются стрессом. Это дало возможность заключить, что КЛ участвует в интеграции функций, формирующих стрессорный ответ [3, 7, 9].

Ввиду того, что в последние годы большое значение в интеграции поведенческих процессов отводится стрионигральному комплексу [1, 2, 4], мы сочли возможным изучить влияние КЛ, вводимого непосредственно в стриатум (хвостатое ядро), на симпатико-адреналовую систему и решить вопрос об участии дофаминергических структур в этом процессе.

Материалы и методы

Опыты проводили в условиях хронического эксперимента на собаках с билатеральными канюлями, вживленными в дорсальную часть головки хвостатого ядра. В I серии опытов (6 собак) спустя 15 дней после операции через эти хемотроды вводили 41-КЛ («Serba») в дозе 10 мкг на животное, растворенный в искусственной спинномозговой жидкости в объеме 4 мкл (по 2 мкл билатерально). Во II серии опытов (5 собак) КЛ вводили на фоне выключенной стрионигральной дофаминергической системы. Для этого использовали 6-гидроксидофамин («Sigma»), который вводили билатерально в дорсальный сегмент головки хвостатого ядра (50 мкг

In ENG cells the sera of patients of both groups detected ACMMC equally frequently (in more than 70 % of cases). Of the 27 DTG patients' sera tested with both tissues approximately a half detected ACMMC in only ENG tissue. There was no difference in HT patients' sera effects on ACMMC detection in both tissue samples. This has brought the authors to a conclusion about DTG cells deficiency for ACMMC mediating antigens. Moreover, DTG cells bound much less antibodies from sera of patients with autoimmune thyropathies, than ENG cells ($p < 0.001$), this confirming a deficiency of surface antigen on DTG cells. No correlation between the presence in the sera of antimicrosomal cells and of ACMMC was detected. A conclusion has been made about heterogeneity of antimicrosomal antibody population and about the presence of ACMMC in blood sera of patients with autoimmune thyropathies, these antibodies not belonging to antimicrosomal ones. ACMMC also may be heterogenous and differ in DTG and HT patients.

в 2 мкл 0,2 % аскорбиновой кислоты в физиологическом растворе). В качестве контроля использовали животных (5), которым вводили растворитель в том же объеме. КЛ вводили через 15 дней после инъекции нейротоксина. Степень повреждения дофаминергических окончаний устанавливали по содержанию дофамина (ДА) в хвостатом ядре.

Для определения содержания А и НА из вены голени брали кровь до введения нейрогормона, а затем через 30 и 60 мин после инъекции. Аналогичное тестирование проводили и в контрольных опытах с микроинъекцией искусственной спинномозговой жидкости.

Уровень А и НА в плазме крови, а также ДА в хвостатом ядре определяли радиоэнзиматическим методом с использованием наборов «Катехола» фирмы «Хемапол» (ЧСФР). Полученные данные обрабатывали статистически.

Результаты и их обсуждение

В крови собак, взятой из вены голени, содержание А составляло 364 ± 45 пг/мл, а НА — 570 ± 86 пг/мл, и это вполне достоверно отражает исходный уровень активности симпатико-адреналовой системы у интактных животных. Это содержание колеблется у контрольных собак незначительно, несколько возрастая в ответ на инъ-

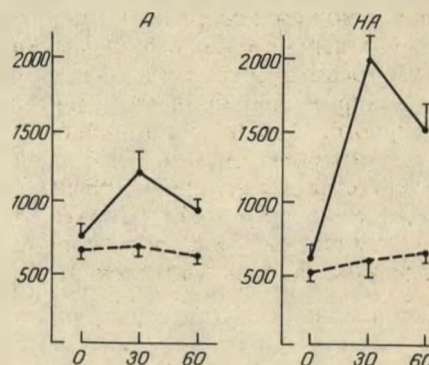


Рис. 1. Изменение содержания А и НА в плазме крови собак после введения КЛ в хвостатое ядро.

Здесь и на рис. 2 по оси ординат — концентрация гормона (в пг/мл); по оси абсцисс — время (в мин). Пунктирная линия — контроль, сплошная — опыт.