

пролиферации двух кортизонрезистентных популяций, контролируемых разными факторами. Пролиферация кортизончувствительных клеток, формирующихся из субкапсулярных $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ кортизонрезистентных клеток, контролируется СТГ [10].

Выводы

1. СТГ не оказывает влияния на кортизонрезистентные тимоциты, чувствительные к НМФ.

2. НМФ увеличивает накопление внутри- и внеклеточного гипоксантина в железе, что оказывает стимулирующее влияние на пролиферацию кортизонрезистентных тимоцитов.

3. Вызванное СТГ ускорение синтеза ДНК в кортикальных тимоцитах не связано с изменением концентрации внутри- и внеклеточного гипоксантина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Безвершенко И. А., Гойдаш М. М., Премыслов В. Х. // Укр. биохим. журн.— 1989— Т. 61, № 1.— С. 52—57.
2. Дмитренко Н. П., Комиссаренко С. В., Буханевич Т. В. // Иммунология.— 1985.— № 3.— С. 74—75.
3. Ellis S. // Endocrinology.— 1961.— Vol. 69, N 3.— P. 554—570.
4. Ceredig R., MacDonald R. // J. Immunol.— 1982.— Vol. 120, N 2.— P. 614—620.
5. Pandian M. R., Talwar G. P. // J. exp. Med.— 1971.— Vol. 134.— P. 1095—1113.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1993

УДК 616.379-008.64-92.9-07:616.36-008.931

Л. И. Апуховская, М. В. Стефанов, Л. В. Антоненко, Л. И. Омельченко

ТРАНСПОРТ ВИТАМИНА D_3 ЧЕРЕЗ КИШЕЧНИК И ЕГО ОБМЕН В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ

Лаборатория медицинской биохимии (руководитель — канд. биол. наук Л. И. Апуховская) Института биохимии АН Украины, Киев

Сахарный диабет, возникновение которого связано с недостаточностью функции β -клеток поджелудочной железы, сопровождается нарушением многих видов обмена в организме [2, 4]. Исследования последних лет свидетельствуют также о взаимосвязи развития сахарного диабета и обмена витамина D. С одной стороны, показано, что сахарный диабет приводит к развитию диабетической остеопении, нарушению минерального гомеостаза, который проявляется не только снижением содержания минеральных компонентов в сыворотке крови, но и усилением экскреции кальция с мочой, ингибированием его активного транспорта через кишечник [5, 13]. Одной из возможных причин перечисленных нарушений при сахарном диабете может быть недостаточностью обеспечения организма активными метаболитами витамина D, хотя данные литературы по этому вопросу несколько противоречивы [9, 10]. Кроме того, имеются указания, что 1,25-дигидроксичолекальциферол регулирует рост, созревание и функциональную активность β -клеток поджелудочной железы [6, 7].

С другой стороны, инсулин оказывает прямое стимулирующее влияние на активность гидроксилаз витамина D в печени и почках [8, 11]. Поэтому недостаточность инсулина может послужить

6. Pierpaoli W., Sorkin E. // Nature.— 1967.— Vol. 215, N 5.— P. 834—837.
7. Scharenberg G. M., Rijkers G. T., Spaapen J. M. et al. // J. Immunopharmacol.— 1988.— Vol. 10, N 6.— P. 675—680.
8. Talwar G. P. // Proc. Indian. nat. Sci. Acad.— 1979.— Vol. 45, N 2.— P. 97—114.
9. Wilson A., D'Amico A., Ewig T. et al. // Immunology.— 1988.— Vol. 140, N 5.— P. 1461—1469.
10. Zuniga-Pflucker J. C., Kruisbeek A. M. // J. Immunol.— 1990.— Vol. 144, N 10.— P. 3736—3740.

Поступила 29.01.92

I. A. Bezvershenko, M. M. Goidash — EFFECTS OF SOMATOTROPIN AND PEPTIDE MITOGENIC FACTOR ON THYMOCYTE PROLIFERATIVE ACTIVITY

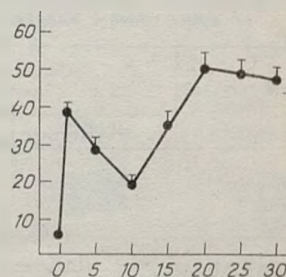
Summary. Hydrocortisone-resistant thymocyte proliferation is stimulated by the nonpeptide mitogenic factor. *In vivo* incubation of hydrocortisone-resistant thymocytes in the presence of the nonpeptide mitogenic factor results in accumulation of extra- and intracellular hypoxanthine, originating from $8\text{-}^{14}\text{C}$ -adenylic acid. Stimulation of *in vitro* incorporation of $2\text{-}^{14}\text{C}$ -thymidine in the thymocyte DNA may be effected via the somatotrophic hormone in case nonseparated thymocytes (but not hydrocortisone-resistant ones) are used. No hypoxanthine accumulation in somatotropin-stimulated nonseparated rat thymocytes was observed. $2\text{-}^{14}\text{C}$ -thymidine incorporation in the hydrocortisone-resistant thymocyte DNA was enhanced by incubation of the cells in the presence of hypoxanthine in concentrations observed after thymocyte stimulation with nonpeptide mitogenic factor. The authors come to a conclusion that somatotropin and nonpeptide mitogenic factor stimulate the proliferation of two different thymocyte populations, that may be involved in the process of proliferation and regeneration of the thymus exposed to steroids.

причиной нарушения обмена витамина D в организме. Снижение обеспеченности организма витамином D в свою очередь может усугублять степень уменьшения содержания инсулина, так как известно, что у крыс с недостатком витамина D ингибируется секреция инсулина. Введение витамина D приводит к нормализации этого процесса [5, 12].

Возможными причинами недостаточности витамина D при диабете могут быть как нарушение транспорта холекальциферола через кишечник, так и нарушения процессов его гидроксилирования. В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование обмена витамина D при сахарном диабете. Изучение этой проблемы по-

Рис. 1. Содержание глюкозы в сыворотке крови крыс после внутривенного введения аллоксана.

По оси ординат — уровень глюкозы (в ммоль/л); по оси абсцисс — время наблюдения (в сут).



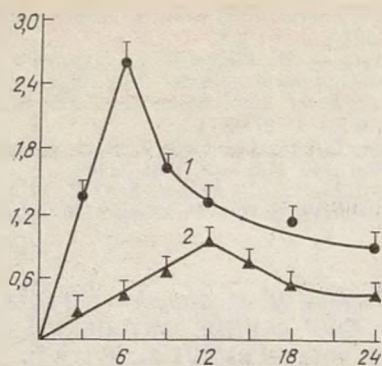


Рис. 2. Транспорт $[^3\text{H}]$ -холекальциферола через кишечник крыс в норме (1) и при аллоксановом диабете (2). По оси ординат — суммарная радиоактивность (в имп/мин $^{-1}$ /мл $^{-1} \cdot 10^{-3}$); по оси абсцисс — время (в ч).

зволит решить вопрос о необходимости назначения витамина D при данной патологии.

Материалы и методы

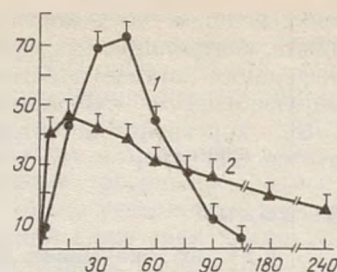
В опытах использовали 100 крыс линии Вистар с массой тела 120±5 г. Экспериментальный сахарный диабет вызывали путем внутривенного введения аллоксана из расчета 40 мг на 1 кг массы тела животного. Кровь брали из ретробульбарного синуса угла глаза под легким эфирным наркозом. Содержание глюкозы в сыворотке крови определяли с помощью тест-набора производства фирмы «Лаксма» (ЧССР). Экстракцию витамина D и его активных метаболитов из сыворотки крови и печени крыс, их разделение и количественное распределение осуществляли согласно описанному ранее методу [1]. Гидролиз 0,5 г гомогената печени проводили 2 мл 30% водного раствора КОН на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Использовали $[^3\text{H}]$ -холекальциферол с удельной радиоактивностью 14 Ки/ммоль фирмы «Amersham» (Великобритания).

Результаты и их обсуждение

О развитии диабета у крыс судили по уровню глюкозы в сыворотке крови. Введение аллоксана в дозах, вызывающих диабет, приводит к двухфазной реакции изменения содержания сахара в крови. Она заключается в первоначальном, достигающем максимума через 48 ч, повышении уровня глюкозы, сменяющегося затем его снижением, которое продолжается до 10 сут (рис. 1). Однако и на 10-е сутки содержание глюкозы в сыворотке крови не достигает нормальных величин. В более поздние периоды времени возникает вторичная гипергликемия. На 20-е сутки в сыворотке крови отмечается максимальное повышение уровня глюкозы, не изменяющегося вплоть до 30-х суток. Возможно, что первичный подъем уровня сахара в крови связан с влиянием аллоксана на синтез инсулина и гормональную

Рис. 3. Накопление $[^3\text{H}]$ -холекальциферола в печени крыс в норме (1) и при аллоксановом диабете (2).

По оси ординат — содержание радиоактивности в ткани печени (в %); по оси абсцисс — время (в мин).



систему организма. Вторичная гипергликемия является следствием деструктивных изменений β -клеток островков поджелудочной железы, снижением их числа до 20 ± 5 против 58 ± 7 у контрольных животных, что подтверждается гистохимическими исследованиями.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о развитии диабета у крыс на 30-е сутки после введения аллоксана.

Определение обеспеченности организма активными метаболитами витамина D показало, что на 30-е сутки в сыворотке крови крыс с аллоксановым диабетом их содержание значительно уменьшается (см. таблицу). Причиной подобных изменений могут быть нарушения транспорта холекальциферола через кишечник, а также процессов его гидроксирования.

С целью выяснения процесса всасывания витамина D в кишечнике при диабете животным в пищевод вводили 9 пмоль $[^3\text{H}]$ -холекальциферола. Через каждые 3 ч после введения метки определяли радиоактивность крови. Полученные результаты сравнивали с всасыванием $[^3\text{H}]$ -витамина D у контрольных животных. Как видно на рис. 2, у животных контрольной группы содержание метки в сыворотке крови увеличивается, достигая максимума к 6 ч после ее введения. У крыс с аллоксановым диабетом во все временные интервалы значительно снижена суммарная радиоактивность крови. При этом максимум концентрации метки наблюдается позже и приходится на 12 ч. Уровень радиоактивности в точке максимума у контрольных животных более чем в 3 раза выше, чем у крыс с аллоксановым диабетом. Возможно, что отмеченные изменения транспорта витамина D через кишечник являются следствием структурных изменений мембран энтероцитов, вызванных нарушением липидного обме-

Содержание 25(OH)D, 24,25(OH) $_2$ D и 1,25(OH) $_2$ D в сыворотке крови крыс с аллоксановым диабетом ($M \pm m$, $n=5$)

Условие опыта	Содержание активных метаболитов витамина D, нг/мл		
	25(OH)D	24,25(OH) $_2$ D	1,25(OH) $_2$ D
Норма	$5,3 \pm 0,3$	$3,4 \pm 0,3$	$0,16 \pm 0,01$
Диабет	$2,3 \pm 0,5^{**}$	$1,3 \pm 0,5^*$	$0,08 \pm 0,02^*$

Примечание. Достоверность различий по сравнению с нормой — одна звездочка $p < 0,01$, две — $p < 0,001$.

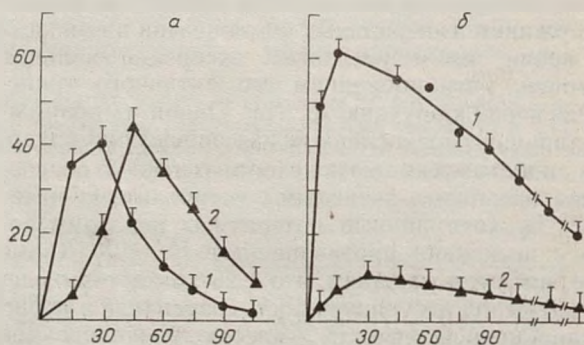


Рис. 4. Содержание $[^3\text{H}]$ -холекальциферола (1) и $[^3\text{H}]$ -25(OH)D $_3$ (2) в печени нормальных крыс (а) и при аллоксановом диабете (б).

По оси ординат — уровень радиоактивности (в имп/мин $^{-1}$ /орг $^{-1} \cdot 10^{-3}$); по оси абсцисс — время (в мин).

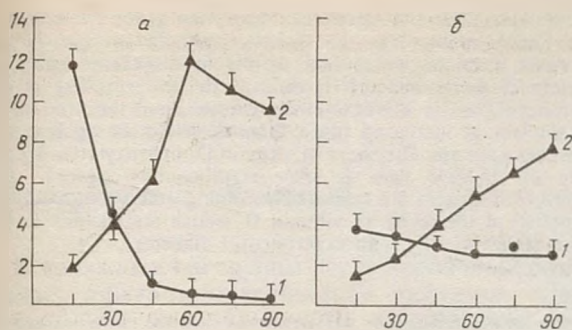


Рис. 5. Содержание $[^3\text{H}]$ -холекальциферола (1) и $[^3\text{H}]$ -25(OH)D₃ (2) в сыворотке крови нормальных крыс (а) и при аллоксановом диабете (б).

По оси ординат — уровень радиоактивности (в $\text{imp/min}^{-1}/\text{мл}^{-1} \cdot 10^{-3}$); по оси абсцисс — время (в мин).

на в организме при исследуемой патологии. Полученные результаты свидетельствуют, что у крыс с аллоксановым диабетом ингибируется транспорт холекальциферола через кишечник.

Установлено, что при диабете имеют место выраженные деструктивные изменения ткани печени и нарушения многих видов обмена в данном органе [3]. Поскольку превращение витамина D в его транспортную форму — 25(OH)D осуществляется в гепатоцитах, можно предположить, что в печени при исследуемой патологии нарушается обмен холекальциферола. С целью изучения этого процесса крысам контрольной и опытной групп внутривенно вводили 4,5 пмоль $[^3\text{H}]$ -холекальциферола. Как видно на рис. 3 максимум радиоактивности в печени контрольных животных приходится на 45 мин после введения метки. Причем в этот временной интервал печенью поглощается около 70 % введенной в кровоток метки. Через 105 мин практически вся радиоактивность из печени удаляется. При аллоксановом диабете распределение общей радиоактивности в печени существенно изменяется. Несмотря на то что основной процент $[^3\text{H}]$ -холекальциферола (до 50) включается в печень уже на 15-й минуте, а не на 45-й минуте, как это отмечено для контрольных животных, полностью метка не выводится даже на 240-й минуте. Через 105 мин после введения $[^3\text{H}]$ -витамина D, когда в норме его обмен практически заканчивается, при диабете еще более 20 % общей радиоактивности остается в печени. Характер изменения содержания общей радиоактивности в печени крыс с аллоксановым диабетом свидетельствует, вероятно, о значительном снижении скорости обмена витамина D при данной патологии.

Различно протекает в печени и процесс гидроксилирования витамина D у нормальных крыс и у животных с экспериментальным сахарным диабетом. Как видно на рис. 4, максимум содержания $[^3\text{H}]$ -холекальциферола в печени нормальных крыс приходится на 30-ю минуту после внутривенного введения метки. Содержание витамина D в это время в 2 раза выше, чем его гидроксилированной формы. Но уже на 45-й минуте на долю $[^3\text{H}]$ -25(OH)D приходится 62 % общей радиоактивности, содержащейся в это время в печени. Уровень неизмененного витамина D заметно уменьшается, и уже к 105-й минуте практически полностью происходит процесс гидро-

ксилирования холекальциферола в печени контрольных крыс. В то же время в печени крыс с экспериментальным диабетом гидроксилируется не более 20 % холекальциферола. Причем на протяжении всего исследуемого временного интервала процесс превращения витамина D в 25(OH)D замедлен, и даже на 240-й минуте в печени животных остается более 20 % непревращенного витамина D. Замедленный процесс гидроксилирования витамина D в печени крыс при диабете может быть следствием либо уменьшения транспорта холекальциферола в гепатоциты, где происходит его гидроксилирование, либо ингибирования активности 25-гидроксилазы витамина D. Эти результаты подтверждаются данными о содержании витамина D и 25(OH)D в сыворотке крови (рис. 5). Если у животных контрольной группы на 15-й минуте около 90 % общей метки сыворотки крови приходится на долю $[^3\text{H}]$ -холекальциферола, то уже на 60-й минуте в сыворотке практически присутствует только $[^3\text{H}]$ -25(OH)D. В то же время у крыс с аллоксановым диабетом содержание витамина D находится практически на одном уровне. На 60-й минуте, когда у крыс контрольной группы в сыворотке крови обнаруживается только $[^3\text{H}]$ -25(OH)D, у животных с диабетом до 50 % общей метки приходится на долю $[^3\text{H}]$ -холекальциферола. Необходимо отметить также, что содержание $[^3\text{H}]$ -25(OH)D в этот период составляет только 40 % от его уровня у контрольных животных, что согласуется с более высоким уровнем витамина D в печени.

Выводы

1. При аллоксановом диабете нарушается процесс всасывания витамина D в кишечнике, в результате чего нарушается его поступление в организм.

2. Сахарный диабет сопровождается снижением интенсивности поглощения печенью из кровотока витамина D, увеличением периода его обмена в этом органе, нарушением процесса гидроксилирования витамина D в 25(OH)D.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ануховская Л. И., Хрестовая Н. Л., Антоненко Л. В. и др. // Укр. биохим. журн. — 1990. — Т. 62, № 6. — С. 88—92.
2. Глебова Л. Н., Гапич Е. Л., Гончар И. В. и др. // Всесоюзный съезд патофизиологов, 4-й. — М., 1989. — С. 156.
3. Экспериментальный сахарный диабет: Роль в клинической диабетологии / Баранов В. Г., Соколова И. М., Гаспарян Э. Г. и др. — Л., 1983.
4. Almdal T. P., Jensen T., Vilstrup H. // Europ. J. clin. Invest. — 1990. — Vol. 20, N 1. — P. 29—34.
5. Cade C., Norman A. // Endocrinology. — 1986. — Vol. 119, N 1. — P. 84—90.
6. Cade C., Norman A. // Ibid. — 1987. — Vol. 120, N 4. — P. 1490—1497.
7. Clark S. A. et al. // Amer. J. Physiol. — 1987. — Vol. 253, N 1. — P. E99—E104.
8. Colette C., Pares-Herbute N., Monnier L. et al. // Horm. Metab. Res. — 1989. — Vol. 21, N 1. — P. 37—41.
9. Frazer T. E., White N. H., Hough S. et al. // J. clin. Endocr. — 1981. — Vol. 53. — P. 1154.
10. Ishida H., Seino Y., Matsukura S. et al. // Metabolism. — 1985. — Vol. 34, N 9. — P. 797—801.
11. Matsumoto T., Kawanobe Y., Ezawa I. et al. // Endocrinology. — 1986. — Vol. 118, N 4. — P. 1440—1444.
12. Nyomba B. L., Auwerx J., Bormans V. et al. // Diabetology. — 1986. — Vol. 29, N 1. — P. 34—38.
13. Nyomba B. L., Verhaeghe J., Ipemasset M. et al. // Endocrinology. — 1989. — Vol. 124, N 2. — P. 565—572.

Поступила 20.05.92

Summary. Vitamin D₃ intestinal transport and liver metabolism were studied in rats with alloxan-induced diabetes. The condition was induced by i. v. alloxan injection in a dose of 40 mg/kg b. m. Diabetes development was monitored by blood serum glucose measurements, carried out

for 30 days. [³H]-cholecalciferol absorption in the rat intestine was found inhibited in the diabetic animals as against the reference animals, which fact results in disordered entry of vitamin D₃ to the body. [³H]-cholecalciferol absorption by the liver is reduced in the examined condition, and the time of its metabolism is increased more than threefold as against the reference animals. The share of vitamin D₃ hydroxylation by the liver of diabetic rats is also significantly reduced. The described disorders are responsible, among other things, for the reduction of the levels of vitamin D₃ active metabolites in the blood serum of rats with experimental diabetes.

© В. Л. БЫКОВ, 1993

УДК 616.992.282-07:616.43-008.6

В. Л. Быков

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ НЕКОТОРЫХ ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗ ПРИ КАНДИДОИНФЕКЦИИ

Кафедра гистологии (зав.— проф. Г. С. Катинас) I Санкт-Петербургского медицинского института им. акад. И. П. Павлова

Кандидоз представляет собой инфекцию, вызываемую условно-патогенными грибами рода *Candida*, чрезвычайно широко распространенную во всех странах мира и часто сочетающуюся с рядом эндокринных нарушений: сахарным диабетом, гипер- и гипокортицизмом, дисбалансом половых стероидов, гипопаратиреозом, гипотиреозом [2]. Отдельные сочетания столь типичны, что выделены в самостоятельный кандидоэндокринный синдром (синдром Whitaker), ведущими компонентами которого служат гипокортицизм и гипопаратиреоз [23]. Взгляды на характер связи эндокринопатий и кандидоза неоднозначны. Большинство авторов склоняются к мнению о первичности гормональных сдвигов, создающих благоприятный фон для развития кандидоинфекции [18, 23], однако другие указывают и на возможность вторичных изменений эндокринных желез под влиянием микотической инфекции [5]. Высказывается также предположение об отсутствии патогенетической связи между инфекцией и эндокринными нарушениями или их независимом развитии вследствие единого первичного (вероятно, генетического) дефекта [4].

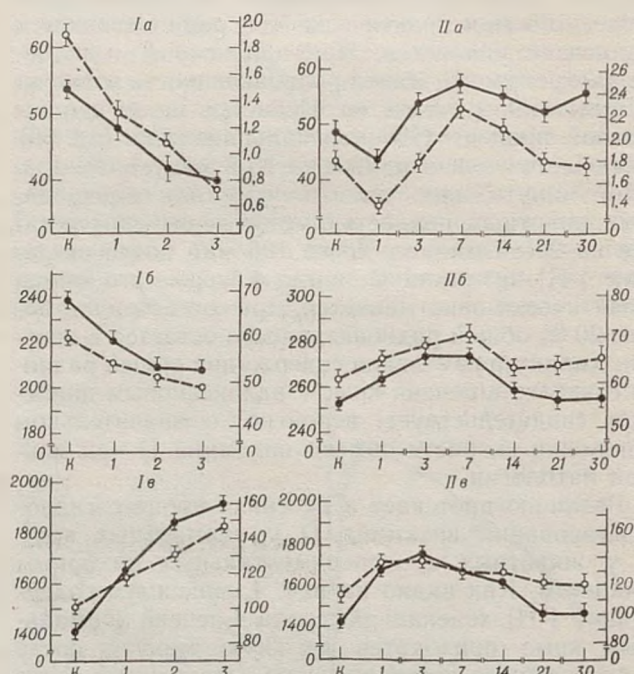
По очевидным причинам, решение вопроса о первичности кандидоинфекции или эндокринных нарушений в клинических условиях затруднено и требует экспериментальной проверки. Роль гормональных нарушений как факторов, предрасполагающих к развитию и тяжелому течению кандидоза, подтверждена рядом экспериментальных исследований [13, 16, 17]. Влияние кандидоинфекции на состояние желез внутренней секреции практически не изучено. В настоящей работе проведена морфофункциональная оценка состояния щитовидной (ЩЖ), околощитовидной желез (ОЩЖ) и коркового вещества надпочечника (НП) в динамике экспериментальной кандидоинфекции различной тяжести.

Материалы и методы

Опыты проведены на 78 мышах-самцах линии СВА массой 18–22 г. Животным 1-й группы внутрибрюшинно вводили высокую дозу возбудителя ($5 \cdot 10^8$ клеток *S. albicans*, штам 2565 Коллекции Всесоюзного центра по глубоким микозам Минздрава Российской Федерации, Санкт-Петербург), мышам 2-й группы — сравнительно низкую дозу

($5 \cdot 10^6$ клеток). Наблюдения в указанных группах осуществляли в течение 3 и 30 сут соответственно. В качестве контроля использовали 12 незараженных животных.

Эндокринные железы фиксировали в смеси формалин — спирт — уксусная кислота по Лилли, заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, ставили ШИК-реакцию с докраской гематоксилином. В ЩЖ стереологическим методом точечного счета с помощью окулярной сетки с 25 точками определяли объемную плотность основных структурных компонентов (эпителия, коллоида, стромы — V_v , V_{v_k} , V_{v_s}). Измерения проводили при увеличении 420, учитывая не менее 1000 точек на срезах каждого органа [11]. В ОЩЖ и средних отделах пучковой зоны коры НП средние диаметры ядер определяли с помощью винтового окулярного микрометра МОВ-1 при увеличении 2250 и вычисляли объемы ядер по формуле для сфер. Методом точечного счета в ОЩЖ и НП оценивали объемную плотность секреторных



Морфофункциональные показатели состояния ЩЖ (а), ОЩЖ (б) и коры НП (в) при острой тяжелой (I) и легко протекающей (II) микотической инфекции.

По оси ординат: а — слева — V_v (сплошная линия), справа — V_{v_k}/V_{v_s} (пунктирная линия); б, в — слева — объем клетки (паратироцитов и адренокортикоцитов), в μm^3 (сплошная линия), справа — объем ядер этих клеток, в μm^3 (пунктирная линия); по оси абсцисс — сроки наблюдения (в сут). К — контрольная группа