

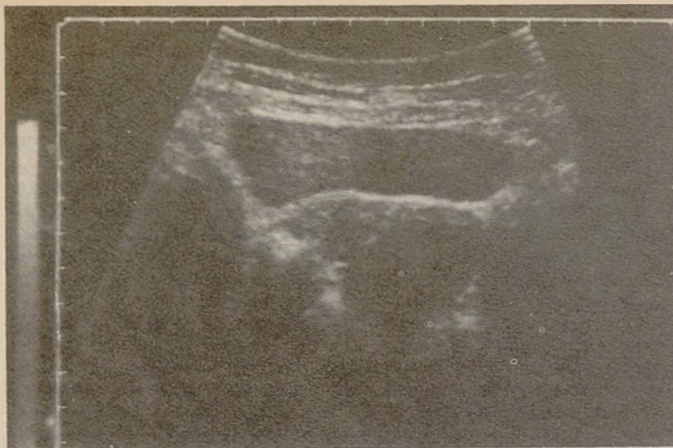


Рис. 2. УЗИ органов малого таза больной Оксаны А., 11 лет 6 мес.

1 — матка; 2 — кистозно-увеличенный левый яичник; 3 — наполненный мочевой пузырь.

кером которого являлись чрезвычайно высокие значения уровня ТТГ. У 2 больных нами выявлено увеличение размеров турецкого седла. Помимо этого, у всех девочек отмечалась высокая степень гиперпролактинемии, десятикратно превышающая возрастную норму. Нами не выявлено определенной закономерности в показателях гонадотропных гормонов, имеющих допубертатные значения у 2 больных и соответствующие пубертату уровни у 1 больной. Хотя более глубокое изучение гонадотропной функции в условиях пробы с люлиберинем, проведенное у больной Оксаны А., не позволило нам сделать вывод о пубертатной зрелости гипоталамо-гипофизарной системы, так как существенного подъема уровня как ЛГ (9,22—11,28 ЕД/л), так и ФСГ (6,18—10,66 ЕД/л) не отмечалось. Изучение цирхорального ритма гонадотропинов у этой же больной подтверждает наше предположение (ЛГ 8,28—10,03 ЕД/л, ФСГ 7,39—9,54 ЕД/л). Изучение ночного ритма гонадотропинов проводилось в течение 2 ч с взятием крови через каждые 20 мин, во время сна ребенка.

Таким образом, полученные данные позволяют нам высказать предположение, что ППР у больных с гипотиреозом не является проявлением истинной зрелости гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы.

Основным патогенетическим механизмом развития данного синдрома следует считать гиперпролактинемию. По-видимому, следует согласиться с авторами [12, 23], высказывающими мнение о повышении чувствительности яичников к гонадотропному влиянию. Это предположение под-

тверждено нами при катамнестическом наблюдении за больными: на фоне адекватной заместительной терапии тиреоидными препаратами наряду с клинико-лабораторной компенсацией гипотиреоза исчезали все проявления ППР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Нарушения полового развития / Жуковский М. А., Лебедев Н. Б., Семичева Т. В. и др.; Под ред. М. А. Жуковского.— М., 1989.
2. Педиатрия: Руководство / Под ред. Р. Е. Бермана, В. К. Вогана.— М., 1989.— Кн. 6.
3. Эзарт Ф. М., Камалов К. Г., Васильева Е. В. и др. // Пробл. эндокринологии.— 1991.— № 5.— С. 4—7.
4. Barnes N. D., Hayles A. B., Ryan R. J. // Mayo Clin. Proc.— 1973.— Vol. 48.— P. 849.
5. Bergstrand C. G. // Acta endocr. (Kbh.).— 1955.— Vol. 20.— P. 338.
6. Buchanan C. R., Stanhope R., Adlard P. et al. // Clin. Endocr.— 1988.— Vol. 29.— P. 427.
7. Castro-Magana M., Angulo M., Canas A. et al. // J. Pediatr.— 1988.— Vol. 112.— P. 397.
8. Costin G., Kershner A. K., Kogut M. D. et al. // Pediatrics.— 1972.— Vol. 50.— P. 881.
9. Franks R. C., Stempfel R. S. // J. clin. Endocr.— 1963.— Vol. 23.— P. 805.
10. Hemady Z. S., Siler-Khodr T. M., Najjar S. // J. Pediatr.— 1978.— Vol. 92.— P. 55.
11. Hubble D. // Amer. J. Dis. Child.— 1965.— Vol. 109.— P. 252.
12. Kaplan S. Clinical Pediatric Endocrinology.— N 4.— 1990.— P. 293—294.
13. Kendle F. W. // Brit. med. J.— 1905.— Vol. 1.— P. 246.
14. Kugler J. A., Huseman C. A. // Clin. Endocr.— 1983.— Vol. 19.— P. 213.
15. Laron Z., Karp M., Dolberg L. // Acta paediat. scand.— 1970.— Vol. 59.— P. 317.
16. Lee P. A., Blizzard R. M. // Johns Hopk. med. J.— 1974.— Vol. 135.— P. 55.
17. Pabst H. F., Poeschel S., Hillmann D. A. // Pediatrics.— 1967.— Vol. 40.— P. 590.
18. Silver H. K. // J. clin. Endocr.— 1958.— Vol. 18.— P. 886.
19. Tan S. H., Lee B. W., Wong H. B. et al. // Asian med. J.— 1987.— Vol. 27.— P. 795.
20. Valenti G., Ceda G. P., Denti L. et al. // Ricerca Clin. Lab.— 1984.— Vol. 14.— P. 53.
21. Van Gelderen H. H. // Arch. Dis. Child.— 1962.— Vol. 33.— P. 337.
22. Van Wyk J. J., Grumbach M. M. // J. Pediatr.— 1960.— Vol. 57.— P. 416—422.
23. Wood L. C., Olichney M., Locke H. et al. // J. clin. Endocr.— 1965.— Vol. 25.— P. 1289.

Поступила 11.10.93

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 616-008.823.2-02:616.453-006|06:816.441-006.5

В. А. Яковлев, С. Б. Шустов, Ю. Ш. Халимов

СЛУЧАЙ СОЧЕТАНИЯ СИНДРОМА КОННА И ДИФфуЗНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ЗОБА

Кафедра терапии усовершенствования врачей (начальник — проф. В. А. Яковлев) Военно-медицинской академии, Санкт-Петербург

Сочетание патологии надпочечников и щитовидной железы встречается весьма редко и, как правило, характеризуется надпочечниковой недостаточностью и гипотиреозом (синдром Шиндта), развивающимися при II типе аутоиммунного полигланулярного синдрома. Имеется единичное описание низкоренинового альдостеронизма, обусловленного раком щитовидной железы. В доступной литературе нами не найдено сведений о сочетании первичного гиперальдостеронизма и диффузного токсического зоба.

Приводим наше наблюдение.

Больная С., 49 лет, поступила в клинику 06.12.91. Жалобы при поступлении на значительную мышечную слабость, боли в области сердца, сердцебиение и перебои в ра-

боте сердца, головную боль, связанную с повышением артериального давления (АД) до 210/115 мм рт. ст., умеренное снижение массы тела. АД повышено в течение 4 лет, в последний год отмечала прогрессирование артериальной гипертензии и нарастание мышечной слабости, парестезии. Гипотензивные препараты эффекта не давали. За 2 мес до поступления в клинику стали беспокоить пароксизмы мерцательной аритмии. При объективном исследовании отмечались несколько пониженное питание, бледность кожных покровов, частый аритмичный пульс, артериальная гипертензия, приглушение I тона и систолический шум на верхушке, диффузное увеличение щитовидной железы II степени, больше за счет правой доли. Гипокалиемия 3,4 ммоль/л (норма

Радиоактивность электрофоретически выделенной полосы СТГ в пробах среды 3-часовой инкубации и гомогената гипофизарных клеток крыс разного возраста ($n=3$ в каждой группе)

Группа животных	Проба	Включение в СТГ, имп/мин на лунку	Доля секретируемого СТГ, %
Неонатальные	Среда	863±214	2,509±0,699
	Клетки	34 267±1534	
Препубертатные	Среда	1 491±132	4,278±0,235
	Клетки	33 372±2392	
Взрослые	Среда	1 297±166	3,143±0,343
	Клетки	39 790±1663	

Примечание. Для всех показателей возрастные различия недостоверны ($p>0,05$).

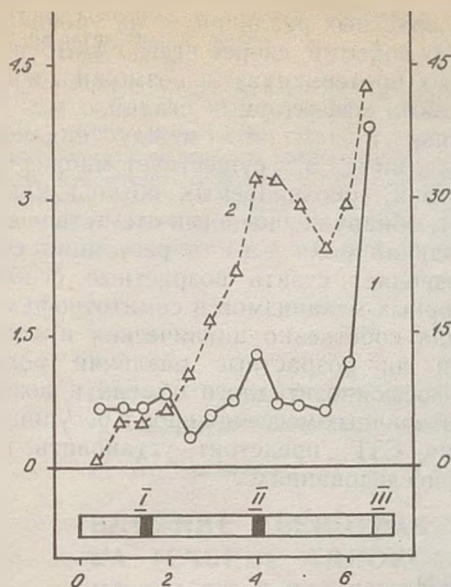


Рис. 1. Электрофореграммы меченых белков среды инкубации (1) и гомогената (2) гипофизарных клеток неонатальных крыс.

По осей ординат — радиоактивность сегментов геля (в имп/мин на лунку $\times 10^{-3}$): слева — для среды инкубации, справа — для гомогената клеток; по оси абсцисс — расстояние вдоль геля (от анода к катоду, в см). Внизу схематично изображен столбик геля; I — пролактин, II — СТГ, III — граница между разделяющим и концентрирующим гелем.

с помощью дискового электрофореза в 7,5 % полиакриламидном геле при pH 8,9 после предварительного промывания внутриклеточного пула гормона $L-^{14}C$ -лейцином [2, 3], где в качестве стандарта использовали электрофореграмму экстракта аденогипофиза крысы. Электрофоретическая подвижность фракций, содержащих СТГ и пролактин, была нами ранее подтверждена при биологическом тестировании с помощью тибиа-теста и пролиферации зоба голубей соответственно [7].

В табл. 1 показано, что при разделении белков гипофизарных экстрактов с помощью гель-электрофореза относительная подвижность (R_f) полосы, соответствующей СТГ крыс, не изменяется достоверно с возрастом. Это дало возможность использовать экстракт аденогипофизов взрослых крыс в качестве «носителя» при определении интенсивности секреции ^{14}C -меченного СТГ электрофоретическим методом в группах неонатальных и препубертатных животных.

Для анализа распределения меченых белков при электрофорезе столбик геля разрезали на сегменты толщиной около 5 мм, деполимеризовали H_2O_2 , и просчитывали затем радиоактивность в толуол-этанольном сцинтиллаторе на бета-спектрометре.

Использовали следующие препараты: специфический кальциевый ионофор A23187 («Calbiochem AG», Швейцария); избирательный кальцийхелатирующий агент этиленгликоль-бис (β-аминоэтиловый эфир) — N,N,N',N'-тетраацетат натрия (ЭГТА), аналоги циклических нуклеотидов N^6, O^2 -дibuтирил-аденозин-3',5'-монофосфат (Bt_2cAMP) и N^6, O^2 -дibuтирил-гуанозин-3',5'-монофосфат (Bt_2cGMP) («Sigma Chemical Co.», США). Статистическая обработка результатов, представленных в виде $M \pm m$, проведена с использованием t -критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Как показано на рис. 1, в гипофизарной культуре неонатальных крысят СТГ является доминантным, синтезированным de novo белком, который накапливается внутри клеток и освобождается в среду инкубации. Пик на границе между концентрирующим и разделяющим гелем нами не рассматривался, так как соответствовал радиоактивности высокомолекулярных компонентов, не входящих в мелкопористый разделяющий гель.

Известно, что при электрофорезе белков секреторных гранул аденогипофизов взрослых

крыс определяемые с помощью биотестов лютеинизирующий и тиреотропный гормоны локализуются в районе между полосой СТГ и границей концентрирующего и разделяющего геля [11]. Однако вследствие малого содержания в гипофизе (а тем более в первичной культуре) эти гормоны не дают ни четких полос при окрашивании электрофореграмм амидо черным 10В, ни пиков на радиоактивных белках [2].

Ранее нами было установлено, что в среде инкубации и гомогенате аденогипофизарных клеток взрослых самок крыс преобладает вновь синтезированный пролактин ($R_f \approx 0,82—0,84$) [2, 3]. Представленные на рис. 1 результаты подтверждают вывод о незрелости лактотропной функции неонатальных гипофизов, сделанный нами в предыдущей работе на основании измерения базальной секреции пролактина гомологичным радиоиммунологическим методом [8].

Сравнительная оценка полосы радиоактивности СТГ, полученной при электрофорезе проб гомогената и среды инкубации гипофизарных клеток крыс, показала лишь незначительное усиление соматотропной функции с возрастом (табл. 2). Доля СТГ, секретируемого в 3 ч инкубации, не различалась существенно между разными возрастными группами (см. табл. 2). Это говорит о том, что механизмы базальной секреции СТГ являются вполне зрелыми уже в клетках неона-

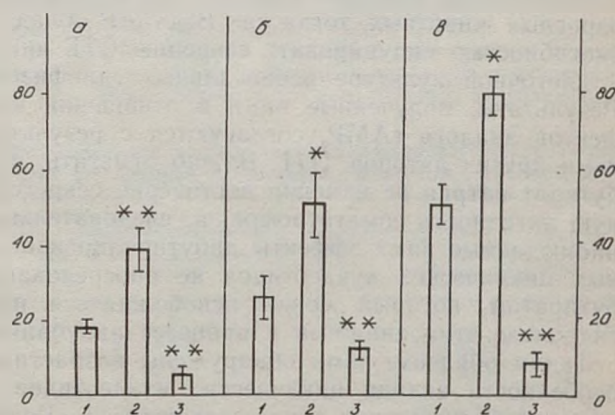


Рис. 2. Действие кальцийрегулирующих агентов на секрецию СТГ в культурах гипофизарных клеток крыс разного возраста: неонатальных (а), препубертатных (б) и взрослых (в).

По вертикали — уровень СТГ в среде (в нг/мл); по горизонтали: 1 — контроль; 2 — A23187 (5 мкМ); 3 — ЭГТА (2 мМ). Длительность инкубации 3 ч, $n=5—8$ в группе. Одна звездочка — $p<0,05$, две звездочки — $p<0,01$ по сравнению с соответствующим контролем.

Таблица 3

Влияние дибутирилпроизводных циклических нуклеотидов и бутирата натрия (по 2,5 мМ) на секцию СТГ в культурах гипофизарных клеток крыс разного возраста (длительность инкубации 3 ч, $n=5-9$ в группе)

Группа	СТГ в среде, нг/мл	% стимуляции
Неонатальные крысята		
Контроль	19,6±1,1	—
Bt ₂ cAMP	212±13,2**	980
Bt ₂ cGMP	40,7±6,1*	100
Бутират	26,0±5,2	—
Взрослые крысы		
Контроль	191±28,3	—
Bt ₂ cAMP	615±52,1**	220
Bt ₂ cGMP	208±17,4	—

Примечание. Достоверность различий по отношению к контролю в данной группе; одна звездочка — $p<0,01$, две звездочки — $p<0,001$.

тальных гипофизов, а имеющиеся небольшие возрастные различия радиоактивности полосы СТГ в гомогенате клеток и среде инкубации обусловлены, видимо, различным содержанием соматотрофов в ткани гипофизов крыс разного возраста [14].

Исследования, проведенные нами с использованием гомологичного радиоиммунологического анализа, показали достаточно высокую базальную скорость освобождения СТГ у неонатальных крысят, которая в ряде экспериментов была лишь ненамного ниже, чем у препубертатных и взрослых крыс. Кальциевый ионофор A23187 повышал секрецию СТГ, тогда как Ca^{2+} -хелатирующий агент ЭГТА резко снижал освобождение этого гормона, причем не было обнаружено существенных возрастных различий в реактивности соматотрофов к действию кальцийрегулирующих агентов (рис. 2).

Напротив, нами обнаружены отчетливые возрастные особенности влияния аналогов циклических нуклеотидов на секрецию СТГ (табл. 3). Так, Bt₂cAMP повышал освобождение СТГ в культуре гипофизарных клеток неонатальных крысят в значительно большей степени, чем в культуре взрослых животных, тогда как Bt₂cGMP обладал способностью индуцировать секрецию СТГ лишь в клеточной культуре неонатальных гипофизов. Результаты, полученные нами в отношении эффектов аналога cAMP, согласуются с результатами других авторов [17]. Важно отметить, что бутират натрия не изменял достоверно секреторную активность соматотрофов, а, следовательно, наблюдаемые нами эффекты дибутирилпроизводных циклических нуклеотидов не опосредованы бутиратом, который может освобождаться при гидролизе этих аналогов в процессе инкубации.

Таким образом, нами обнаружены возрастные особенности вклада циклических нуклеотидов в механизмы регуляции освобождения СТГ. Ранее отмечалось, что созревание гормонокомпетентности сопровождается изменением степени сопряжения отдельных компонентов мембранного комплекса рецептор — G-белки — аденилатциклаза [6]. Наши результаты и данные других авторов [6, 17] свидетельствуют о наличии иного меха-

низма возрастных различий — на уровне пострецепторных событий, скорее всего cAMP- и cGMP-зависимых протеинкиназ, а возможно, и следующих за ними эффекторных стадий.

В связи с тем что между циклическими нуклеотидами и Ca^{2+} существует множество взаимодействий (обозначаемых обычно как cross-talk [9]), обнаруженное нами отсутствие возрастных различий роли Ca^{2+} в регуляции секреции СТГ позволяет сузить возрастные особенности регуляторных механизмов в соматотрофах только до вклада собственно циклических нуклеотидов. Имеются ли возрастные различия роли продуктов фосфоинозитидного обмена и возможных других вторичных мессенджеров в регуляции освобождения СТГ, предстоит установить в дальнейших исследованиях.

Выводы

1. Базальная секреция СТГ культивируемыми клетками аденогипофиза неонатальных крыс соответствовала таковой при исследовании клеток аденогипофиза взрослых животных, что свидетельствует о зрелости секреторных механизмов соматотрофов на самом раннем этапе постнатального развития.

2. Показано, что соматотропная функция гипофиза неонатальных крыс является доминантной. Соматотрофы обладают повышенной реактивностью к секретогенному действию аналогов циклических нуклеотидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамова В. В., Батрамева Л. А., Федотов В. П. // Пробл. эндокринологии. — 1986. — Т. 32, № 1. — С. 56—60.
2. Гудосников В. И. Регуляция секреции пролактина в первичной культуре клеток аденогипофиза крыс: Дис. ... канд. биол. наук. — М., 1980.
3. Гудосников В. И., Комолов И. С., Федотов В. П. // Вopr. мед. химии. — 1980. — Т. 26, вып. 4. — С. 525—528.
4. Гудосников В. И. // Журн. общ. биол. — 1992. — Т. 53, № 6. — С. 790—796.
5. Гудосников В. И., Федотов В. П. // Пробл. эндокринологии. — 1992. — Т. 38, № 1. — С. 61—64.
6. Перцева М. Н. Молекулярные основы развития гормонокомпетентности. — Л., 1989.
7. Федотов В. П., Комолов И. С., Плужникова Г. Н. // Бюл. экспер. биол. — 1978. — № 10. — С. 491—493.
8. Федотов В. П., Гудосников В. И., Комолов И. С., Абрамова В. В. // Там же. — 1992. — № 4. — С. 402—404.
9. Davies J. R. E., Bidey S. P., Tomlinson S. // Clin. Endocr. — 1992. — Vol. 36. — P. 437—449.
10. Gabriel S. M., Milbury C. M., Alexander S. M. et al. // Neuroendocrinology. — 1989. — Vol. 50. — P. 170—176.
11. Hodges D. R., McShan W. H. // Acta endocr. (Kbh.). — 1970. — Vol. 63. — P. 378—384.
12. Komolov I. S., Fedotov V. P., Gudoshnikov V. I. et al. // Endokrinologie. — 1982. — Bd 80. — S. 318—324.
13. Kraicer J., Spence J. W. // Endocrinology. — 1981. — Vol. 108. — P. 651—657.
14. Smets G., Velkeniers B., Herregodts P. et al. // Histochem. J. — 1989. — Vol. 21. — P. 337—342.
15. Stachura M. E. // Endocrinology. — 1977. — Vol. 101. — P. 1044—1053.
16. Swennen L., Baes M., Schramme C., Deneef C. // Neuroendocrinology. — 1985. — Vol. 40. — P. 78—83.
17. Szabo M., Cuttler L. // Endocrinology. — 1986. — Vol. 118. — P. 69—73.

Поступила 03.02.94

V. P. Fedotov, V. I. Gudoshnikov, T. V. Mamayeva — ROLE OF CALCIUM IONS AND CYCLIC NUCLEOTIDES IN

Summary. Somatotrophic hormone (STH) biosynthesis and secretion were studied in primary adenohipophyseal cultures of neonatal, prepubertal, and adult rats. It was shown by disc PAAG electrophoresis of products synthesized in incubation of neonatal rat hypophyseal cells that L-¹⁴C leucin incorporates predominantly in the STH containing fraction. The share of prelabeled STH secreted into the culture virtually did not depend on the age of animals, this indicating the maturity of

mechanisms of basal somatotroph secretion as early as in the neonatal period of development. Ca-regulating agents (ionophore A23187, EGTA) caused quantitatively similar changes of somatotroph secretory activity in cultures of hypophyseal cells from rats of different ages. At the same time, clear-cut age-specific features of stimulating effect of dibutylryl derivatives of cAMP and cGMP on secretion of immunoreactive STH were detected. The results indicate that somatotrophic function in neonatal hypophysis is a dominant one and demonstrates increased reactivity to secretogenic action of cyclic nucleotide analogs.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ 1994

УДК 616.379-008.64-092.9-089:616.379-089.843]:615.874.2.03

Р. Е. Садыкова, Н. Н. Скалецкий, А. В. Древаль, Л. А. Кирсанова, П. И. Шишко

ВЛИЯНИЕ КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИИ КУЛЬТУР ОСТРОВКОВЫХ КЛЕТОК НА ТЕЧЕНИЕ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА У КРЫС, НАХОДИВШИХСЯ НА ДИЕТЕ С РАЗНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ БЕЛКА

Институт питания РАМН, НИИ трансплантологии и искусственных органов Минздравмедпрома РФ, Москва

В последние годы значительно возрос интерес к использованию в лечении инсулинзависимого сахарного диабета трансплантации островковых клеток (ОК) поджелудочной железы [5—7]. Согласно одной из последних сводок Регистра трансплантаций островков поджелудочной железы [5], в мире выполнено около 1700 клинических трансплантаций островков и культур ОК. Основные результаты трансплантации ОК заключаются в стабилизации лабильных форм инсулинзависимого сахарного диабета, приостановлении прогрессирования и частичном регрессе его поздних осложнений, снижении потребности реципиентов в экзогенном инсулине вплоть до достижения в отдельных случаях временной инсулиннезависимости [3—5, 8, 9]. Поиски путей улучшения результатов клинической трансплантации ОК явились стимулом для проведения новых экспериментов по трансплантации ОК лабораторным животным. Ранее нами было показано [1], что рацион с высоким содержанием белка уменьшает тяжесть течения аллоксанового диабета у крыс. Основной целью настоящего исследования явилось изучение влияния ксенотрансплантации культур ОК на течение экспериментального сахарного диабета у крыс, находившихся на пищевом рационе с разным содержанием белка.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 60 крысах-самцах линии Вистар с исходной массой 100—120 г. После короткого адаптационного периода пребывания на общевиарном рационе 60 животным с массой тела не менее 160 г вводили подкожно аллоксан (фирма «Lachema») в дозе 200 мг/кг с целью индукции сахарного диабета. После этого крыс разделили на 3 равные группы (по 20 животных в каждой) и перевели на синтетический низкокалорийный рацион с нормальным — 18 % (1-я группа), пониженным — 9 % (2-я группа) и повышенным — 50 % (3-я группа) содержанием белка (соевый изолят Ардекс М). При этом изокалорийность пищевого рациона крыс 2-й группы обеспечивали путем повышения квоты жиров при сохранении квоты углеводов, у крыс 3-й группы — за счет уменьшения квоты как жиров, так и углеводов. Содержание смеси минеральных веществ (0,9 г/сут), смеси водорастворимых витаминов (0,2 г/сут), холинхлорида (0,04 г/сут), витаминов А (300 МЕ/сут) и D (20 МЕ/сут) во всех рационах было одинаковым.

С целью регистрации возникновения диабетического статуса и его изменения у крыс еженедельно определяли концентрацию глюкозы в крови с помощью глюкозооксидазного метода (набор фирмы «Reanal»).

Через 2 нед после введения аллоксана и начала диетического кормления 18 животным с гипергликемией более 16 ммоль/л (по 6 крыс из каждой группы) произвели ксенотрансплантацию культур ОК. Культуры получали из поджелудочных желез новорожденных кроликов по методике, включающей в основном ферментное переваривание панкреатической ткани 0,2 % раствором коллагитина и измельчение ее глазными ножницами с последующей инкубацией по-

Изменения гликемии у крыс, находившихся на рационе с разным содержанием белка, после индукции аллоксанового диабета и последующей ксенотрансплантации культур ОК и у крыс с нелеченым аллоксановым диабетом (контроль; $M \pm m$)

Группа животных	Концентрация глюкозы в крови, ммоль/л		
	через 1 нед после введения аллоксана	через 2 нед после введения аллоксана	через 2 нед после трансплантации
1-я:			
реципиенты	26,0±2,8*	23,5±5,0*	16,4±1,4**
контроль	19,8±1,9	18,2±2,0	18,4±2,2
2-я:			
реципиенты	19,7±3,9	20,4±2,4	15,0±3,1***
контроль	17,8±2,4	19,1±1,4	18,6±2,8
3-я:			
реципиенты	26,8±3,8*	20,3±3,5	12,0±2,6***
контроль	21,0±1,6	17,1±1,9	16,6±2,0

Различия между реципиентами и контролем в каждой группе животных $p^* < 0,05$.

Достоверность показателей через 1 неделю после введения аллоксана и через 2 недели после трансплантации $p^{**} < 0,05$.