

13. Sturgess N.C., Ashford M.L.J. // Lancet. — 1985. — N 8453. — P. 474—475.
14. Trube G., Rorsman P., Ohno-Shasaku T. // Pflügers Arch. — 1986. — Bd 407. — S. 493—499.
15. Zuenkler B.J., Lenzen S., Manner K. et al. // Naunyn Schmiedesberg's Arch. Pharmacol. — 1988. — Bd 337. — S. 225—230.
16. Zuenkler B.J., Lins S., Ohno-Shasaku T. et al. // FEBS Lett. — 1988. — Vol. 239 — P. 241—244.

Поступила 08.06.94

V.N.Babichev, I.P.Savelyeva, M.I.Balabolkin — CHARACTERIZATION OF PANCREATIC B-CELL RECEPTORS BINDING SULFANILAMIDE DRUGS

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 616. 432-008.6: 577.175.322]-02:546.41]-053 -092.9-07

В. Г. Селятицкая, Н. А. Пальчикова, С. В. Одинцов

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ПОВЫШЕННЫЕ КОЛИЧЕСТВА ЙОДА С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ

Лаборатория экспериментальной эндокринологии (зав. — канд. биол. наук В.Г.Селятицкая) Института общей патологии и экологии человека (дир. — акад. РАМН В.П.Казначеев) СО РАМН, Новосибирск

Дефицит йода в биосфере является причиной развития различных форм дисфункций щитовидной железы, одна из которых — эндемический зоб. Профилактические мероприятия, проводимые путем применения йодированной соли, резко снижают частоту проявления эндемического зоба, но имеют ряд сложностей [2]. В последние годы широкое распространение приобретает применение йодированного масла, после введения которого в первые недели экскреция йода с мочой резко повышается [3]. Эти данные, а также результаты длительного применения йодсодержащих фармакологических препаратов (амиодарона и др.) [8] ставят вопрос о функционировании щитовидной железы в условиях избыточного поступления этого микроэлемента в организм.

Особую актуальность в этом случае приобретают экспериментальные исследования по изучению чувствительности организма животных к различным концентрациям йода, однако подобного рода работы проводятся преимущественно за рубежом [14,15]. В настоящей работе изучали функциональное состояние щитовидной железы и коры надпочечников у крыс, получавших повышенные количества йода с питьевой водой.

Материалы и методы

Использовали крыс-самцов линии Вистар. Животных содержали в индивидуальных клетках на стандартном рационе вивария (30 г сухой массы корма в день, вода без ограничения).

Крыс разделили на 3 группы: 1-я, контрольная, группа — животные получали для питья водопроводную воду, остальным крысам в питьевую воду добавляли йодид калия из расчета 8 мг йода на 1 л воды (2-я группа) и 80 мг/л (3-я группа).

В 1 серии экспериментов животных декапитировали через 50 дней после начала эксперимента. Щитовидную железу гомогенизировали в 0,01 М фосфатном буфере рН 7,4; центрифугировали 20 мин при 2000g, в супернатантах определяли содержание тироксина (T_4), трийодтиронина (T_3) и тиреоглобулина (ТГ). Надпочечники гомогенизировали в 0,1 М фосфатном буфере рН

Summary. Analysis of pancreatic β -cell receptors binding the sulfanilamide drugs widely used in therapy of type II diabetes, such as glybenclamide, glypizide, and glyclazide, showed that these drugs are characterized by excellent parameters of specific binding to these receptors. The receptors were tested for two parameters: number of bindings sites and dissociation constant. Glybenclamide was the most active of the drugs we tested, the other two agents being less active. Binding of these agents was reversible. The problem of identification of the examined receptors of sulfanilamides with K^+ -ATP-sensitive channels, similarly active conductors of the information transported by the sulfanilamide drugs in the mechanism of insulin secretion, is discussed.

7,4, центрифугировали 15 мин при 2000g, в супернатантах определяли содержание кортикостерона (В). В крови измеряли содержание T_4 , T_3 и В. При определении содержания гормонов использовали отечественные коммерческие наборы для радиоиммунологического анализа.

Во II серии экспериментов была введена дополнительная группа (4-я) животных, получавших питьевую воду с добавками йодида калия из расчета 800 мг на 1 л воды. В первые дни и через 12 нед после начала эксперимента у животных собирали суточную мочу, в которой определяли содержание йода и метаболитов йода. Животных забивали через 90 дней, измеряли те же параметры, что и в I серии экспериментов. Содержание йода в корме, в питьевой воде и моче крыс определяли кинетическим методом, в основу которого положена реакция восстановления четырехвалентного церия трехвалентным мышьяком, катализируемая неорганическим йодом (реакция Sandell — Kolthoff). На основе этого метода разработано несколько аналитических подходов, различающихся в основном способом подготовки проб к анализу на содержание йода [1]. Мы использовали подход, описанный в работе [5], в котором подобраны условия для озоления проб воды, кормов и т.д.

Результаты и их обсуждение

Определение содержания йода в корме, который получали животные всех групп, показало, что его поступление в сутки составило 2,4 мкг на животное. Содержание йода в водопроводной воде равнялось 5,12 нг/мл. Среднее потребление воды (около 10 мл в сутки) у животных всех групп не менялось в ходе эксперимента, отсюда потребление йода в сутки контрольными крысами составило около 2,45 мкг на животное. У животных экспериментальных групп поступление йода в организм определялось в основном добавками этого микроэлемента в питьевую воду и составило у крыс 2-й группы около 80 мкг, 3-й группы — 800 мкг и 4-й группы — 8000 мкг на животное в сутки. Экскреция неорганического йода с мочой у контрольных животных была $1,74 \pm 0,45$ мкг/сут, у животных 2-й группы — $46,09 \pm 7,22$ мкг/сут, 3-й группы — $424,94 \pm 95,03$ мкг/сут,

Таблица 1

Содержание T_3 , T_4 и ТГ в крови и ткани щитовидной железы крыс, получавших повышенные количества йода с питьевой водой в течение 50 сут

Группа животных	Добавки йода (в мг/л) к питьевой воде	Кровь		Щитовидная железа		
		T ₃	T ₄	T ₃	T ₄	ТГ, мг на 1 мг белка
		нмоль/л		пмоль на 1 мг белка		
1-я	-	1,76±0,10	58,3±3,9	7,63±1,05	202±23	39,0±5,3
2-я	8	2,13±0,10	71,1±3,7	30,34±3,03	647±46	47,0±4,7
3-я	80	1,79±0,08	62,3±3,4	49,81±5,49	721±46	45,3±4,7
P _{2-1,3} < 0,05		P ₂₋₁ < 0,05		P _{1-2,3} < 0,001		P _{1-2,3} < 0,001

4-й группы — 3470 ± 190 мкг/сут. Если рассчитать процент экскреции йода с мочой от его поступления, то он составит у контрольных крыс 71, у животных 2-й группы — 58, в 3-й группе — 53 и в 4-й — 43. Видно, что с увеличением потребления йода снижается доля его экскреции с мочой.

Сравнение кинетики содержания йодтиронинов в плазме и распределения их в тканях у человека и крысы показывает сходство путей метаболизма тиреоидных гормонов и их экскреции у этих видов. Однако соотношение активности путей метаболизма у них существенно разное [13]. Так, у крыс фекальный клиренс тиреоидных гормонов существенно выше, чем у человека. С калом у крыс выделяется 24-28% эндогенного T_4 , около 30% эндогенного T_3 , 7-10% неорганического йода [9]. При введении крысам ^{125}I - T_4 на фоне потребления больших количеств йода с питьевой водой до 44,4% метки обнаруживается в кале [9]. Как у человека, так и у крыс, помимо щитовидной железы, некоторые другие органы накапливают йод, в частности слюнные и потовые железы, причем при йодных нагрузках выведение йода со слюной и потом увеличивается [6, 7]. Хорошо известно, что при поступлении в организм избыточного количества неорганического йода увеличивается его выведение за счет таких физиологических механизмов, как кашель, чихание, рвота, секреция мочи, понос, потоотделение и т.д. [4]. Все эти данные литературы позволяют предположить, что полученное в наших экспериментах относительное снижение выведения неорганического йода с мочой у крыс при нагрузке йодом может компенсироваться увеличением удаления йода из организма путем других выделительных актов, преимущественно дефекации. Экстраполировать эти результаты на человека нельзя, так как выше уже упоминалось, что интенсивность путей метаболизма тиреоидных гормонов у человека и крысы различна.

В табл. 1 представлены результаты, полученные в I серии экспериментов. Видно, что содержание гормонов щитовидной железы в крови животных 2-й группы достоверно увеличивается, а у крыс 3-й группы не отличается от исходного уровня. В щитовидных железах резко (в 3 и 3,5 раза) повышается содержание T_4 и в еще большей степени (в 4 и 5 раз) — T_3 у животных 2-й и 3-й групп соответственно. При этом содержание ТГ достоверно не изменяется. Таким образом, повышение потребления йода существенно увеличивает синтез и содержание гормонов в железе, но в крови их концентрация из-

меняется в значительно меньшей степени. Как долго может сохраняться подобная гомеостатическая реакция? Ответ на этот вопрос мы попробовали получить во II серии экспериментов.

У животных 2-й и 3-й экспериментальных групп через 90 дней после начала потребления увеличенных количеств йода, как и через 50 дней, существенных сдвигов в содержании T_4 и T_3 в крови не обнаружено. В щитовидных железах подъем концентрации T_3 , отмеченный на 50-й день эксперимента, на 90-й день сменился снижением до уровня, достоверно не отличающегося от исходного. Уровень T_4 еще оставался повышенным, хотя и в значительно меньшей степени, чем через 50 дней эксперимента (у животных 2-й группы он составил 184%, в 3-й группе — 141% от исходного). Содержание ТГ у животных 3-й группы уменьшилось до 70% от исходного.

В табл. 2 представлены данные по расчету отношения концентрации T_3 к концентрации T_4 в крови и щитовидной железе у животных всех изученных групп. Видно, что в крови, несмотря на отсутствие достоверных изменений в концентрации этих гормонов, отношение T_3/T_4 снижается при продолжительном потреблении увеличенных концентраций

Таблица 2

Отношение T_3/T_4 в крови и ткани щитовидной железы у крыс при увеличенном потреблении йода

Группа животных	Добавки йода (в мг/л) к питьевой воде	Длительность эксперимента, сут	Кровь ($\cdot 10$)	Щитовидная железа ($\cdot 10$)
1-я	—	—	14,9±1,4 ^a	37,5±3,5 ^a
2-я	8	50	15,2±1,4	46,8±3,0 ^a
2-я	8	90	11,5±1,6	21,2±3,7 ^a
3-я	80	50	14,4±1,2 ^a	67,9±5,1 ^a
3-я	80	90	10,3±1,0 ^a	42,3±5,8 ^a
4-я	800	90	11,6±1,6	48,8±7,0
			$P_{2-3,4} < 0,05$	$P_{3-4} < 0,001$
				$P_{3-2} < 0,01$
				$P_{1-2} < 0,01$

йода с водой. Отношение T_3/T_4 в ткани щитовидной железы через 50 дней после начала эксперимента достоверно повышается, а через 90 дней снижается. Можно предположить, что при увеличении потребления йода первоначально усиливается синтез всех йодтиронинов в щитовидной железе, причем на предшествующих стадиях количество продукта выше. Однако при более продолжительном потреблении йода активность процессов биосинтеза гормонов в щитовидной железе снижается, и на этой стадии в крови животных отношение T_3/T_4 уменьшается.

Поскольку мы не изучали функциональное состояние щитовидной железы в первые дни после начала потребления увеличенных доз йода, острый ингибирующий эффект, так называемый эффект Wolff — Chaikoff, мы не регистрировали [11]. Но следующую, отставленную по времени стадию ускользания или адаптации щитовидной железы мы отмечали при приеме животных всех изученных доз йода [8, 11]. Однако повторное снижение синтеза гормонов обнаруживалось только через 90 дней после начала эксперимента. При этом у крыс 4-й группы, потреблявших около 8000 мкг йода в сутки, в щитовидной железе достоверно по сравнению с контрольными животными снижается содержание ТГ (соответственно $24,6 \pm 2,4$ и $35,9 \pm 3,8$ нг на 1 мг белка; $p < 0,05$). Полученные результаты также согласуются с литературными данными, свидетельствующими о том, что при длительном потреблении больших количеств йода нарушаются процессы его органификации в щитовидной железе [11].

Сопоставление наших данных по экскреции неорганического йода с мочой, содержанию гормонов в крови и щитовидной железе позволяет заключить, что при изучаемых концентрациях йода в питьевой воде и указанной продолжительности эксперимента в организме сохраняются механизмы физиологической гомеостатической детоксикации [2]. Об этом свидетельствует также тот факт, что существенного повышения массы щитовидной железы у экспериментальных животных отмечено не было.

Уровень В в крови экспериментальных животных снижается недостоверно, содержание этого гормона в надпочечниках уменьшается в большей степени (табл. 3). Реакция выражена сильнее у крыс, получавших с питьевой водой большую дозу йода. Экскреция неметаболизированного В с мочой у экспериментальных животных также снижена ($3,09 \pm 0,30$ нмоль/сут — у контрольных животных; $2,00 \pm 0,08$

($p < 0,05$), $2,34 \pm 0,42$, $2,34 \pm 0,26$ нмоль/сут — у крыс 2, 3 и 4-й групп соответственно). Можно предположить, что такое снижение глюкокортикоидной функции надпочечников обусловлено изменением не только периферических, но и центральных звеньев гипоталамо-надпочечниковой системы. Из данных литературы известно, что у крыс с измененным тиреоидным статусом меняется реактивность центральных звеньев регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [10].

Из литературы хорошо известно, что поступление в организм большого количества йода может инициировать аутоиммунные процессы в щитовидной железе [8]. Типичным случаем является так называемый бергсховый эндемичный зоб в Японии, который вызывается иными факторами, но развивается на фоне избыточных количеств йода [12]. Показанное в наших экспериментах снижение синтеза глюкокортикоидов при повышенном поступлении йода в организм может являться одним из факторов, способствующих усилению активности аутоиммунных реакций в организме.

Таким образом, несмотря на то что в крови мы не регистрируем существенных сдвигов в уровне гормонов щитовидной железы и надпочечников, в самих железах процессы биосинтеза гормонов уже изменены. Можно предполагать, что при более длительных экспозициях эти процессы приведут к срыву гомеостатической регуляции и развитию патологических процессов.

Выводы

1. Увеличенное потребление йода крысами изменяет функциональное состояние не только щитовидной железы, но и других звеньев эндокринной регуляции.

2. Через 50 сут после начала потребления высоких доз йода в щитовидной железе экспериментальных животных существенно увеличивается содержание тиреоидных гормонов, причем в большей степени T_3 ; через 90 дней уровень T_3 возвращается к исходному, а содержание T_4 остается повышенным.

3. Повышенное потребление йода приводит к снижению глюкокортикоидной функции надпочечников экспериментальных животных, что находит отражение в уменьшении содержания В в надпочечниках, плазме крови и снижении экскреции неметаболизированного гормона с мочой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Данил Дж. Т. // Ликвидация заболеваний, связанных с дефицитом йода: Материалы международного симпозиума. — Ташкент, 1991. — С. 69—74.
2. Дедов И.И., Юденич О.Н., Герасимов Г.А., Смирнов Н.П. // Пробл. эндокринол. — 1992. — Т. 38. № 3. — С. 6—15.
3. Де Мейер Е.М., Лоуенштейн Ф.У., Тийн К.Г. Борьба с эндемическим зобом. — Женева, 1981.
4. Мышкина А.К. Механизмы гомеостатического контроля в щитовидной железе. — Саратов, 1989.
5. Силаева С.В., Самохин В.Т., Башкеев Е.Д., Фомичев Ю.П. // Ветеринария. — 1970. — № 6. — С. 97—98.
6. Сукманский О.И., Барабаш Р.Д., Фомин В.В. // Физиология и патология пищеварения. — Кишинев, 1972. — С. 183—184.
7. Туракулов Я.Х. Обмен йода и тиреоидные гормоны. — Ташкент, 1959.
8. Bravermann L.E. // Acta med. austr. — 1990. — Vol. 17, N 1. — P. 29—33.

Таблица 3

Содержание В в крови и надпочечниках крыс, получавших повышенные количества йода с питьевой водой в течение 50 сут

Группа животных	Добавки йода (в мг/л) к питьевой воде	Кровь, нмоль/л	Надпочечники, нмоль на 1 мг ткани
1-я	—	531 ± 60	$152,6 \pm 15,6$
2-я	8	446 ± 70	$96,0 \pm 14,2$
3-я	80	376 ± 81	$86,9 \pm 9,6$
$p_{1,2} < 0,05$			
$p_{1,3} < 0,01$			

9. Distefano J.J., Sapin V. // Endocrinology. — 1987. — Vol. 121, N 5. — P. 1742—1750.
10. Kamilaris T.C., De Bold C.R., Johnson E.O. et al. // Ibid. — 1991. — Vol. 128, N 3. — P. 2567—2576.
11. Nagataki S., Yokoyama N. // Acta med. austr. — 1990. — Vol. 17, N 1. — P. 4—8.
12. Nagataki S., Morita S. // Asian med. J. — 1991. — Vol. 34, N 2. — P. 77—82.
13. Rutgers M., Heusdens F.A., Bonthuis F. et al. // Endocrinology. — 1989. — Vol. 125, N 6. — P. 2822—2830.
14. Sherer T.T., Thrall K.D., Bull R.J. // J. Toxicol. environm. Hlth. — 1991. — Vol. 32, N 1. — P. 89—101.
15. Wang X., Jan J., Li J. // New Era Global Harmony an Nutrition: Proceedings of the 14-th International Congress Nutrition. — Seoul, 1989. — Vol. 1. — P. 822—825.

Поступила 27.12.93

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 616.831.41-008.6-02:615.844]-092.9-07:616.154

В. И. Николаев, Е. Ю. Горнушкина, А. А. Николаева

О ВЛИЯНИИ МЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ ГИПОТАЛАМУСА НА ГОРМОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КРОВИ КРОЛИКОВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ ЭМОЦИОГЕННЫХ ЗОН ГИПОТАЛАМУСА

Кафедра патологической физиологии (зав. — доц. В.И.Николаев) Санкт-Петербургского государственного санитарно-гигиенического медицинского института

Интегративная функция гипоталамических ядер реализуется при формировании биологической мотивации для целенаправленного адаптивного поведения животных и человека. В настоящее время важное значение в процессе сохранения полезной роли адаптации придается системам, контролирующим активность стрессреализующих систем [8]. Однако нет однозначного ответа на вопрос о влиянии стресс-лимитирующих систем на нейроэндокринную регуляцию и развитие процессов дизадаптации, в патогенезе которых эндокринные изменения играют решающую роль.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния активности ГАМК- и серотонинергических систем гипоталамуса в процессе длительной электростимуляции дорсомедиального отдела гипоталамуса на изменение гормонального спектра крови кроликов.

Материалы и методы

Работа выполнена на 36 кроликах породы шиншилла обоего пола с оперативно вживленными биполярными электродами (нихром, диаметр 100 мкм, расстояние между кончиками электродов 0,5 см) в область дорсомедиального ядра (ДМЯ) гипоталамуса. Расчет координат ДМЯ осуществляли по стереотаксическому атласу И.П.Цветковой [12]. Электростимуляцию области ДМЯ проводили двухнедельными циклами, чередующимися с периодами отдыха той же продолжительности. Всего было проведено 5 циклов опытов. Для подачи импульсов использовали оригинальный автономный стимулятор, подающий круглосуточно пакки прямоугольных импульсов каждые 4-5 мин со следующими параметрами: продолжительность 1 стимула 0,05 мс, продолжительность пакки 0,1 с, частота 100 Гц, сила тока 10 мА. В процессе опыта сила тока стимуляции поддерживалась на постоянном уровне.

В конце каждого периода электростимуляции у животного брали кровь для определения содержания гормонов биохимическими (катехоламины [6], общие 11-оксикортикостерониды (11-

V.G.Selyatitskaya, N.A.Palchikova, S.V. Odintsov — THYROID FUNCTION OF RATS KEPT ON INCREASED IODINE DIET FED WITH DRINKING WATER

S u m m a r y. Thyroid and adrenocortical function was examined in rats fed increasing quantities of iodine with drinking water. No noticeable deviations in thyroid hormone levels were found in the blood of experimental animals. Thyroid hormone levels in thyroid tissue were changing in the same direction in the animals kept on various iodine diets, these changes depending on experiment duration: an increase of thyroxine and more so, of triiodothyronine was observed in 50 days, and reduction thereof in 90 days. In rats fed the maximal iodine dose, 8000 µg daily, the level of thyroglobulin in thyroid tissue decreased. Increased iodine consumption reduced the glucocorticoid function of the adrenals in experimental animals, this manifesting by reduction of corticosterone level in the adrenals, blood plasma, and reduction of nonmetabolized hormone excretion with the urine.

ОКС) [11]) и радиоиммуноизотопными методами. Радиоиммуноизотопные измерения гормонов проводили стандартными наборами: АКТГ, тиреокальцитонин (ТКЦ), паратгормон (ПГ), ренин (ангиотензин I), альдостерон — “CiS biointernational” (Франция), вазопрессин — “Buhlmann Laboratories” (Швейцария), кортизол, тироксин (T₄), трийодтиронин (T₃) — ИБОХ АН Беларуси.

Во все периоды опыта (кроме первого) изучали содержание дофамина (ДА), норадреналина (НА), серотонина (5-ОТ), 5-оксининдолуксусной кислоты (5-ОИУК), γ-аминомасляной кислоты (ГАМК), ГАМК-трансаминазы (ГАМК-Т), глутаматдекарбоксилазы (ГДК) в ткани гипоталамуса кроликов. После забоя животных воздушной эмболией в одно и то же время (11-13 ч) брали навеску ткани гипоталамуса и определяли: 1) ДА и НА по методу [5] с помощью триоксининдольной реакции при построении калибровочной кривой с использованием кристаллического ДА и L-Noradrenaline bitartrate фирмы “Koch-Light Laboratories” (Англия); 2) 5-ОТ и 5-ОИУК с расчетом по калибровочной кривой растворов креатинин-сульфата серотонина (“Reanal”, Венгрия) и 5-ОИУК (“Serva”, Германия); 3) ГАМК по методу [15]; 4) ГДК по методу Lowe в модификации [14]; 5) ГАМК-Т по экспресс-методу [2] с применением для калибровочной кривой инaktivированного препарата параальдегида янтарной кислоты (ЯПА) фирмы “Sigma” (США).

Расчет коэффициента возбудимости гипоталамуса кроликов производили с помощью полуэмпирического уравнения [16]:

$$K_{\text{ГАМК}} = 100 + \frac{\Delta \text{ГДК} + 0,4(\Delta \sqrt{\text{ГАМК}})}{1,4},$$

где ΔГДК — изменение активности фермента; (Δ√ГАМК — изменение содержания ГАМК в гипоталамусе.

Уменьшение K_{ГАМК} менее 100%, принятое за нормальную возбудимость, свидетельствует о повышении возбудимости, увеличение же более 100% — о снижении возбудимости гипоталамуса.

Статистической обработке с использованием параметрического критерия Стьюдента подвергались результаты, полученные от животных только с точной локализацией электродов в области ДМЯ.