

Н. В. Кузнецова, Н. А. Пальчикова

Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН
ул. Академика Тимакова, 2, Новосибирск, 630117, Россия
E-mail: natkuz@ngs.ru

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ

У крыс с аллоксановым диабетом, несмотря на повышенное содержание тироксина в щитовидной железе, выявлено снижение концентрации общих и свободных фракций тиреоидных гормонов в крови. Полученные результаты позволяют высказать предположение, что при сахарном диабете развиваются процессы разобщения синтеза и секреции из щитовидной железы в кровь тиреоидных гормонов.

Ключевые слова: экспериментальный сахарный диабет, тиреоидные гормоны, щитовидная железа.

В настоящее время актуальной для медицины становится проблема сочетания сахарного диабета (СД) и заболеваний щитовидной железы (ЩЖ). Так, по данным литературы, нарушения функции ЩЖ у больных с СД встречаются в 13,4 % случаев, при этом наиболее часто имеет место субклинический и манифестный гипотиреоз [1]. У 13–20 % больных с СД 1 типа обнаруживают в крови повышенный уровень тиреотропного гормона [2]. Следовательно, пациенты с СД 1 типа имеют высокий риск развития нарушений функции ЩЖ, что требует исследования ее функционального состояния даже при отсутствии клинической картины гипотиреоза [3]. Нарушения тиреоидного статуса, в свою очередь, могут приводить к утяжелению патологического процесса при диабете, усиливая гипергликемию [2].

Высокая распространенность дисфункции ЩЖ у людей, страдающих диабетом, определяет важность исследований нарушений функционального состояния щитовидной железы на экспериментальных моделях сахарного диабета. **Цель** исследования: изучение содержания тиреоидных гормонов в крови и ткани щитовидной железы у крыс с аллоксановым диабетом.

Материал и методы

Работу проводили на половозрелых самцах крысы Вистар ($n = 56$), полученных из

питомника Института цитологии и генетики СО РАН. Крыс содержали в отдельных клетках на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Животные были разделены на две группы: опытная и контрольная.

У животных опытной группы сахарный диабет моделировали путем введения аллоксана, обладающего избирательной токсичностью к островкам Лангерганса поджелудочной железы [4]. Аллоксан вводили крысам после 18 ч голода однократно внутривентриально в дозе 17 мг/100 г массы тела в 0,4 мл 0,9 % физиологического раствора. Животным контрольной группы вводили 0,9 % раствор NaCl.

Для оценки степени тяжести диабета прижизненно измеряли массу тела, количество выпиваемой жидкости, диурез, содержание глюкозы в моче.

Животных выводили из эксперимента через 1, 3, 5 нед. после введения аллоксана. На каждом сроке в опытной и контрольной группах было не менее 7 животных. В сыворотке крови определяли содержание глюкозы ферментативным методом («GLU», BioCon); иммунореактивного инсулина (ИРИ), тироксина (Т4), трийодтиронина (Т3) и их свободных фракции (свТ4, свТ3) радиоиммунным методом с использованием наборов рино-ИНС-ПГ-125I («ХОПИБОХ НАНБ», Беларусь); Т4(125J) RIA KIT, Т3(125J) RIA KIT, FT4(125J) RIA KIT,

FT3(125J) RIA KIT («Institute of Izotopes Ltd.», Венгрия). Щитовидную железу очищали от соединительной ткани, взвешивали, гомогенизировали в 1 мл 0,01 М фосфатного буфера (рН 7,4), центрифугировали 20 мин при 3 000 об./мин, в супернатантах определяли радиоиммунным методом содержание Т3 и Т4.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием дисперсионного анализа по Краскелу – Уоллису и непараметрического критерия Манна – Уитни. Рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена. Вероятность справедливости нулевой гипотезы принимали при 5 % уровне значимости [5].

Результаты исследования и обсуждение

Крысы с аллоксановым диабетом вне зависимости от срока заболевания выпивали от 40 до 200 мл воды в сутки (117 ± 11 мл), теряя при этом с мочой от 40 до 210 мл жидкости (129 ± 7 мл). У животных контрольной группы в аналогичных условиях потребление воды и диурез составили 5–10 мл/сут. У крыс с аллоксановым диабетом была отмечена глюкозурия, которая в среднем составила $11,1 \pm 0,55$ г глюкозы в сутки. Потеря массы тела животных с аллоксановым диабетом составляла от 10 до 20 г в неделю. В контрольной группе наблюдали прирост массы тела по 10–15 г в неделю.

Содержание глюкозы в сыворотке крови крыс с аллоксановым диабетом значительно превышало величину этого показателя у крыс из контрольной группы на протяжении всего эксперимента, а содержание ИРИ было значительно ниже (табл. 1). Таким образом, у животных опытной группы уже через одну неделю после введения аллоксана развился диабет, характеризующийся стойкой гипергликемией, вызванной недостаточностью инсулина, тяжесть которой была одинакова на протяжении всего эксперимента.

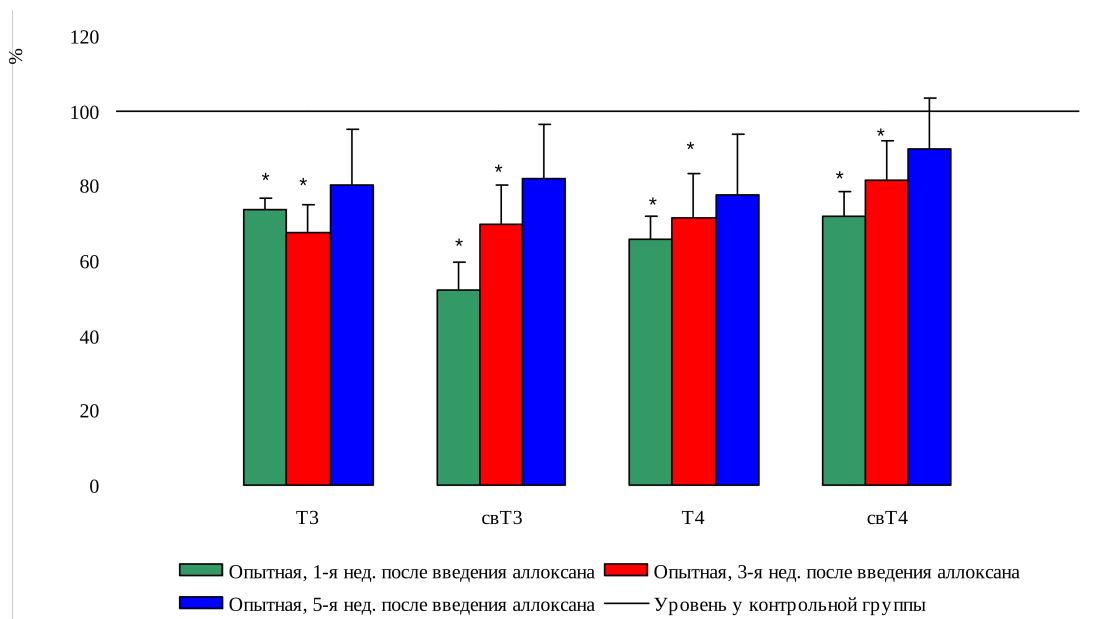
Представлена динамика изменения содержания тироксина, трийодтиронина и их свободных фракций в сыворотке крови опытных животных в процентах от величин соответствующего показателя у крыс

контрольной группы (рис.). У животных контрольной группы в сыворотке крови уровень Т4 составил $58,6 \pm 3,40$ нмоль/л, в ответ на введение аллоксана величина этого показателя снизилась до $38,5 \pm 4,22$ на 1-й нед., а затем постепенно нарастала до $41,8 \pm 6,15$ на 3-й нед., $45,5 \pm 8,64$ нмоль/л на 5 нед. эксперимента. Концентрация Т3 в сыворотке крови с $1,66 \pm 0,114$ нмоль/л у животных контрольной группы снизилась до $1,22 \pm 0,052$ через 1 нед. и $1,12 \pm 0,124$ нмоль/л через 3 нед. после введения аллоксана. Через 5 нед. после начала эксперимента содержание Т3 в сыворотке крыс с аллоксановым СД составило $1,33 \pm 0,25$ нмоль/л.

Содержание свободных фракции Т3 и Т4 в сыворотке крови у животных контрольной группы составило $6,95 \pm 0,28$ и $20,0 \pm 0,64$ пмоль/л соответственно. Содержание свТ3 у крыс с аллоксановым диабетом в динамике эксперимента менялось следующим образом: через 1 нед. после введения аллоксана оно было $3,63 \pm 0,41$ пмоль/л, через 3 нед. – $4,85 \pm 0,84$, через 5 нед. – $5,70 \pm 1,12$ пмоль/л. Для свТ4 также выявлено снижение его содержания на 1 нед. эксперимента до $14,4 \pm 1,28$ пмоль/л и дальнейший рост содержания гормона до $16,3 \pm 2,16$ на 3 нед. и $18,0 \pm 2,79$ пмоль/л на 5 нед. Минимальные величины содержания свТ3, Т4, свТ4 наблюдали на 1 нед. после введения аллоксана. Уровень Т3 продолжал снижаться до 3-й недели эксперимента. Обнаружена отрицательная корреляционная связь (r_s) между содержанием Т3, Т4 и свТ4 в сыворотке крови опытных крыс с уровнем глюкозы в крови: $-0,48$ ($p < 0,05$), $-0,51$ ($p < 0,05$) и $-0,65$ ($p < 0,01$) соответственно. Таким образом, у экспериментальных животных на фоне некомпенсированного сахарного диабета отмечено формирование гипотиреоидного состояния.

В табл. 2 приведены результаты расчета индекса массы ЩЖ, содержания Т3 и Т4 в щитовидной железе крыс, а также расчет отношения содержания Т4 в ЩЖ к уровню Т4 в сыворотке крови крыс. Снижение концентрации всех тиреоидных гормонов в сыворотке крови (см. рис.) не было связано

с гипотрофией ЩЖ либо снижением содержания Т4 в ЩЖ. Так, на 5-й нед. эксперимента содержание Т3 и Т4 в ней даже превышало контрольный уровень. Отношение содержания Т4 в ЩЖ к уровню Т4 в сыворотке крови возрастало на протяжении всего



Содержание тиреоидных гормонов в сыворотке крови крыс.
* – отличия статистически значимы по сравнению с величиной соответствующего показателя у крыс контрольной группы ($p < 0,05$)

Таблица 1. Содержание глюкозы и инсулина в крови крыс

Группа	Глюкоза, ммоль/л	ИРИ, пмоль/л
Контрольная	$6,2 \pm 0,2$	$139,3 \pm 11,4$
Опытная (после введения аллоксана):		
1-я неделя	$29,2 \pm 3,8^*$	$58,0 \pm 9,0^*$
3-я неделя	$25,3 \pm 4,0^*$	$60,4 \pm 8,7^*$
5-я неделя	$25,8 \pm 3,7^*$	$55,3 \pm 12,1^*$

Примечание: * – $p < 0,01$.

Таблица 2. Некоторые функциональные показатели ЩЖ у крыс

Группа	ИМ ЩЖ мг /100 г массы тела	T3, пмоль/мг ткани ЩЖ	T4, пмоль/мг ткани ЩЖ	T4 ЩЖ / T4 крови $\times 100$
Контрольная	$5,30 \pm 0,21$	$0,71 \pm 0,09$	$5,40 \pm 0,59$	$8,70 \pm 0,95$
Опытная (после введения аллоксана):				
1-я неделя	$5,90 \pm 0,59$	$0,62 \pm 0,05$	$6,84 \pm 1,41$	$18,60 \pm 2,86^*$
3-я неделя	$5,20 \pm 0,20$	$0,79 \pm 0,06$	$6,99 \pm 0,87$	$23,20 \pm 8,64^*$
5-я неделя	$5,30 \pm 0,32$	$0,87 \pm 0,11$	$10,71 \pm 1,91^*$	$30,80 \pm 12,83^*$

Примечание: ИМ – индекс массы ЩЖ; * – $p < 0,05$.

эксперимента, значительно превышая при этом величину контрольного уровня.

Полученные данные позволяют предположить, что функциональные резервы ЩЖ у крыс с аллоксановым диабетом не истощаются, но происходит разобщение процессов синтеза тиреоидных гормонов в щитовидной железе и их секреции в кровь, в результате чего формируется состояние гипотиреоза.

Мнения разных авторов о причинах снижения уровня тиреоидных гормонов в крови при диабете не совпадают. В работе J. M. M. Rondeel и соавт. [6] приведены результаты, указывающие на то, что при СД происходит уменьшение содержания циркулирующих в крови ТТГ и тиреоидных гормонов, т. е. развивается состояние, подобное вторичному гипотиреозу. Другие исследователи указывают на повышение у больных с СД уровня ТТГ [2], что свидетельствует о снижении содержания тиреоидных гор-

монов в крови. По мнению В. Baydas и соавт. [7], снижение содержания ТЗ в сыворотке крови происходит в результате ингибирования в периферических тканях фермента, ответственного за конверсию тироксина в трийодтиронин, – 5'-дейодиназы.

Известно, что первые фазы секреции тиреоидных гормонов в кровь – захват фолликулярными эпителиальными клетками коллоидальных капель с синтезированными гормонами, а также захват этих капель лизосомами и протеолиз тиреоглобулина с освобождением ТЗ и Т4, являются энергозависимыми процессами, снижение активности которых при сахарном диабете может способствовать формированию периферического гипотиреоза за счет уменьшения секреции тиреоидных гормонов из ЩЖ в циркуляцию. Известно, что при сахарном диабете в крови повышаются уровни глюкокортикоидов [8; 9], которые при их избытке в тканях ингибируют дейодиназы, снижают продукцию ТТГ в гипофизе, а также нарушают процесс высвобождения тиреоидных гормонов из ЩЖ, приводя, таким образом, к снижению их содержания в крови. Можно предположить, что оба этих механизма играют важную роль в развитии гипотиреоидного состояния как у больных сахарным диабетом, так и у животных с экспериментальным диабетом.

Заключение

У крыс с аллоксановым диабетом выявлено снижение концентрации ТЗ, Т4 и их свободных фракций в крови, при этом в ткани ЩЖ уменьшения содержания тиреоидных гормонов не происходит, а на 5-й неделе заболевания содержание Т4 возрастает относительно величин соответствующих показателей у животных контрольной группы. Полученные результаты позволяют предположить, что состояние гипотиреоза связано не с истощением функциональных резервов

ЩЖ, а с разобщением процессов синтеза гормонов в железе и их секреции в кровь.

Список литературы

1. Perros P., McCrimmon R. J., Shaw G. et al. Frequency of thyroid dysfunction in diabetic patients: value of annual screening // *Diabet Med.* 1995. Vol. 12, № 7. P. 622–627.
2. Mouradian M., Abourizk N. Diabetes mellitus and thyroid disease // *Diabetes Care.* 1983. Vol. 6, № 5. P. 512–520.
3. Митрофанова Н. А. Особенности функционального состояния щитовидной железы у беременных с сахарным диабетом 1 типа и их новорожденных: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2007.
4. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in beta-cells of the rat pancreas // *Physiol. Res.* 2001. Vol. 50. P. 536–546.
5. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М., 1999.
6. Rondeel J. M. M., De Greef W. J., Heide R. et al. Hypothalamo-hypophysial-thyroid axis in streptozotocin-induced diabetes // *Endocrinology.* 1992. Vol. 130, № 1. P. 216–220.
7. Baydas B., Karagoz S., Meral I. Effects of oral zinc and magnesium supplementation on serum thyroid hormone and lipid levels in experimentally induced diabetic rats // *Biol. Trace. Elem. Res.* 2002. Vol. 88, № 3. P. 247–253.
8. Мазурина Н. К. Нарушение гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы при сахарном диабете // *Пробл. эндокринологии.* 2007. Т. 53, № 2. С. 29–34.
9. Селятицкая В. Г., Черкасова О. П., Панькина Т. В. и др. Функциональное состояние адренкортикальной системы у крыс с явной формой аллоксанового диабета // *Бюл. экспер. биол. мед.* 2008. Прил. 1. С. 23–25.

Материал поступил в редколлегию 15.04.2009

N. V. Kuznetsova, N. A. Palchikova

The Functional State of Thyroid Gland at Experimental Animals with Alloxan-Induced Diabetes

Decrease of concentration total and free fractions of thyroid hormones in blood at rats with alloxan-induced diabetes, in spite of high levels of thyroxin in a thyroid gland, is revealed. The

received results allow to make the assumption that processes separating synthesis and secretion of thyroid hormones from a thyroid gland to blood during diabetes mellitus are develop.