

5. *Le thi Bich-Thuy., Samarut S., Rabourdin-Combe C., Revillard J. P.* The suppressive activity of Fc receptor is not related to their T-cell origin // *Cell. Immunol.*—1982.— 68, N 2.— P. 252—260.
6. *March S. S., Parikh I., Cautrecasas P.* A simplified method for cyanogen bromide activation of agarose for affinity chromatography // *Annal. Biochem.*—1974.— 60, N 1.— P. 149—152.
7. *Neauport-Sautes C., Rabourdin-Combe C., Fridman W. H.* T-cell hydrids bear Fc receptors and secrete suppressor immunoglobulin-binding factor // *Nature.*—1979.— 227, N 5698.— P. 656—659.
8. *Simpson M. A., Gozzo J. J.* Spectrofotometric determinations of lymphocyte mediated sheep red blood cells hemolysis in vitro // *J. Immunol. Methods.*—1978.— 21, N 1.— P. 159—161.
9. *Takemori T., Tada T.* Properties of antigen-specific T-cell factor in the regulation of antibody response of the mouse. I. In vivo activity and immunochemical characterization // *J. Exp. Med.*—1975.— 142, N 6.— P. 1241—1253.
10. *Taniguchi M., Hayakawa K., Tada T.* Properties of antigen-specific suppressive T-cell in the regulation of antibody response of the mouse. II. In vivo activity and evidence for the I region gene product // *J. Immunol.*—1976.— 116, N 2.— P. 542—548.
11. *Taussig M. J., Munro A. J.* Antigen-specific T-cell factor in cell cooperation and genetic control of the immune response // *Fed. Proc.*—1976.— 35, N 9.— P. 2061—2066.
12. *Taussig M. S., Coralan R. F., Holliliman A.* Characterization of an antigen-specific factor from a hybrid T-cell line // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*—1979.— 332.— P. 316—335.
13. *Waksman B. H., Tada T.* Specific and nonspecific suppressor T-cell factors derived from thymic lymphocytes // *Cell. Immunol.*—1977.— 30, N 1.— P. 189—191.
14. *Yagello M., Rabourdin-Combe C., Gigbr R., Fridman W. H.* Regulation of antibody synthesis to sheep red cells in cultures of nu/nu spleen cells by T-cell replacity factor (TRF) and immunoglobulinbinding factor (IBF) // *Ann. immunol. (Inst. Pasteur).*—1979.— N 130.— P. 711—720.

Киев, ин-т эндокринологии
и обмена веществ МЗ УССР

Поступила 24.12.85

УДК 615.252.453:612.015.11:612.45—612.35—612.46

С. В. Кандул, М. И. Яцык, В. Я. Кононенко

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ХЛОДИТАНА НА СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОХРОМА Р-450 И АДРЕНОДОКСИНА В НЕКОТОРЫХ ОРГАНАХ СОБАК И КРЫС

Один из эффективных фармакологических препаратов, блокирующий функцию коры надпочечников — хлодитан (*o, n'*-дихлордифенил-дихлорэтан; *o, n'*-ДДД). Препарат оказывает выраженное тормозящее действие на стероидогенез в надпочечниках человека и собаки, но не тормозит его в надпочечниках кролика, морской свинки, крысы и мыши [6]. Тем не менее, в опытах *in vitro* установлено, что он способен ингибировать образование кортикостероидов в ткани надпочечников многих видов животных [10]. Помимо этого известно, что хлодитан ускоряет трансформацию экзогенного гидрокортизона в полярные метаболиты в ткани печени и почек крысы, но не влияет на его обмен в печени собаки [7].

Окислительный метаболизм холестерина, стероидных гормонов, а также многих фармакологических препаратов осуществляется в печени при участии различных изоформ цитохрома Р-450 [14, 15]. Гидроксилирующая система коры надпочечников также содержит цитохром Р-450 и сопряженный с ним негемовый железосерусодержащий белок — адренодоксин, участвующие в биосинтезе кортикостероидов [1, 17].

Можно предположить, что неоднотипность действия хлодитана на синтез и катаболизм кортикостероидов у животных связана с видовыми органами особенностями функционирования гидроксилирующих систем коры надпочечников, печени, почек у собаки и крысы.

В связи с этим цель настоящего исследования — сравнительное изучение влияния хлодитана на содержание низкоспиновой окислен-

ной формы цитохрома Р-450 в печени, почках и надпочечниках, а также сопряженного с ним адrenoдоксина в надпочечниках собак и крыс.

Методика

Эксперименты проведены на 18 беспородных собаках массой 5—9 кг и на 42 белых крысах-самцах линии Вистар массой 130—190 г. Собакам хлоридитан (50 мг/кг) вводили путем скармливания его в виде порошка, прибавленного к мясному фаршу один раз в сутки. В опыт их брали через 24 ч после одно-, пяти- и 10—12-кратного введения препарата. Крысам хлоридитан (100 мг/кг) вводили перорально в виде 5 %-ного его раствора в подсолнечном масле также один раз в сутки. Контрольные крысы получали эквивалентный объем подсолнечного масла. Декапитуировали крыс через 24 ч после одно-, семи- и 21-кратного введения препарата.

В экспериментах применяли препарат *o,n'*-ДДД, синтезированный Бальоном и Шульман [2] в лаборатории органического синтеза и химреактивов Киевского НИИ эндокринологии и обмена веществ МЗ УССР.

Органы и ткани убитых животных быстро извлекали и замораживали в жидком азоте с помощью специально изготовленной пресс-формы. Содержание низкоспиновой окисленной формы цитохрома Р-450 и адrenoдоксина определяли методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). При температуре кипения жидкого азота низкоспиновая окисленная форма цитохрома Р-450 характеризуется спектром ЭПР с *g*-факторами 2,42; 2,25 и 1,91, а восстановленный адrenoдоксин — 2,01 и 1,94 [16]. Спектры ЭПР печени, почек и надпочечников регистрировали на радиоспектрометре «Вариан Е-109» (США) при следующих условиях: рабочая частота спектрометра 9060—9090 МГц, магнитная индукция 265—365 мТл, разворотка магнитного потока — 25 мТл/мин, частота высокочастотной (ВЧ) модуляции — 100 кГц, амплитуда ВЧ модуляции магнитного поля 0,8 мТл, мощность микроволновой частоты — 5 мВт, температура регистрируемого образца — 77 К.

Измеряли амплитуду наиболее интенсивных сигналов ЭПР с *g*-факторами 2,25 и 1,94, значения которых пропорциональны концентрации низкоспиновой формы цитохрома Р-450 и восстановленного адrenoдоксина соответственно. В качестве эталона сравнения интенсивностей сигналов ЭПР использовали монокристаллы рубина, помещенный в рабочий объем резонатора. Сигнал эталона записывали одновременно со спектром образца. Интенсивность сигналов ЭПР контрольных и опытных животных измерена относительно амплитуды сигнала эталона. Концентрация парамагнитных центров (ПМЦ) органов собак и крыс (за исключением надпочечников крыс), приведенная к одинаковому объему образцов массой (460±10) мг, выражалась в относительных единицах (отн. ед.). Ввиду малого объема надпочечников крыс, концентрация ПМЦ пересчитывалась на 1 мг ткани железы.

Изменение содержания низкоспиновой формы цитохрома Р-450 и адrenoдоксина

Показатель	Продолжительность введения					
	собакам (n=4—6)					
	1-е		5-е		10—12-е	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Цитохром Р-450 (<i>g</i> =2,25)						
Надпочечники	2,4±0,1	1,9±0,1 <i>P</i> <0,02	2,4±0,1	0,2±0,02 <i>P</i> <0,001	2,4±0,1	— <i>P</i> <0,001
Печень	2,3±0,1	2,4±0,3	2,3±0,1	2,7±0,4	2,3±0,1	4,2±0,3 <i>P</i> <0,001
Почки	1,1±0,03	0,6±0,07 <i>P</i> <0,001	1,1±0,03	0,8±0,10 <i>P</i> <0,02	1,1±0,03	0,6±0,06 <i>P</i> <0,001
Адrenoдоксин (<i>g</i> =1,94)						
Надпочечники	52,6±1,2	32,0±2,5 <i>P</i> <0,001	52,6±1,2	1,0±0,2 <i>P</i> <0,001	52,6±1,2	0,9±0,2 <i>P</i> <0,001

Результаты и их обсуждение

Установлено (см. таблицу), что интенсивность сигнала ЭПР низкоспиновой окисленной формы цитохрома Р-450 (в дальнейшем цитохрома Р-450) не изменяется в ткани печени собак, спустя 24 ч после однократного введения хлодитана. В это же время отмечается уменьшение интенсивности данного сигнала в почках и надпочечниках соответственно на 45 и 21 %. Амплитуда сигнала ЭПР адренодоксина в надпочечниках собак снижается на 39 %.

При пятикратном введении хлодитана интенсивность сигнала ЭПР цитохрома Р-450 в печени остается без изменений, в почках незначительно увеличивается, но при этом находится ниже контрольных значений на 21 %, а в надпочечниках резко падает (на 94 %). Также значительно (на 98 %) снижается и интенсивность сигнала ЭПР адренодоксина.

Через 10—12 сут после многократного введения хлодитана отмечается увеличение интенсивности сигнала ЭПР цитохрома Р-450 на 83 % в печени и снижение на 41 % в почках, а также полное его исчезновение в надпочечниках. У амплитуды сигнала ЭПР адренодоксина остается то же значение, которое было после пятикратного введения препарата.

Ранее было показано [4], что снижение сигнала ЭПР адренодоксина с g -фактором 1,94 в надпочечниках собак сопровождается появлением сигнала ЭПР с g -фактором 4,26 который, вероятно, принадлежит иону высокоспинового окисленного железа в молекуле адренодоксина [16]. Полученные результаты согласуются с результатами других авторов, которые показали снижение интенсивности сигналов ЭПР цитохрома Р-450 и адренодоксина в надпочечниках собак при введении o, n' -ДДД (100 мг/кг) [11].

Изменения интенсивности сигналов ЭПР цитохрома Р-450 и адренодоксина в органах крыс при воздействии хлодитана отличаются от изменений аналогичных показателей, наблюдаемых в органах собак. Как видно из таблицы, однократное введение хлодитана крысам сопровождается увеличением интенсивности сигнала ЭПР цитохрома Р-450 в печени на 29 % уже спустя 24 ч после скормливания. В отличие от собак интенсивность данного сигнала в почках и надпочечниках у крыс не изменяется. Через 7 сут после ежедневного введения хлодитана амплитуда сигнала ЭПР цитохрома Р-450 увеличивается в печени, почках и надпочечниках соответственно на 120, 33 и 105 %. Интенсивность сигнала ЭПР адренодоксина остается без существенных

в некоторых органах собак и крыс после введения хлодитана ($M \pm m$), отн. ед.

хлодитана, сут

крысам ($n=5-8$)					
1-е		7-е		21-е	
Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
$6,8 \pm 0,5$	$6,5 \pm 0,8$	$7,0 \pm 0,2$	$14,4 \pm 1,6$	$5,9 \pm 0,5$	$4,6 \pm 0,2$
		$P < 0,01$		$P < 0,05$	
$3,4 \pm 0,2$	$4,4 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,1$	$6,4 \pm 0,7$	$4,0 \pm 0,3$	$8,4 \pm 0,3$
$P < 0,01$		$P < 0,001$		$P < 0,001$	
$0,7 \pm 0,10$	$0,7 \pm 0,10$	$0,4 \pm 0,04$	$0,6 \pm 0,03$	$0,7 \pm 0,02$	$0,8 \pm 0,04$
		$P < 0,05$			
$62,1 \pm 4,1$	$60,8 \pm 6,3$	$58,6 \pm 4,6$	$64,7 \pm 9,6$	$78,3 \pm 5,0$	$66,8 \pm 7,7$

изменений во все изученные сроки. Дальнейшее введение препарата сопровождается падением интенсивности сигнала ЭПР цитохрома Р-450 в надпочечниках, значение которой после 21-кратного введения хлодитана на 22 % ниже значения аналогичного показателя у контрольных животных. В печени амплитуда сигнала ЭПР цитохрома Р-450 продолжает оставаться высокой, а в почках умеренно снижается, приближаясь к нормальным значениям.

Результаты проведенных исследований показали, что хлодитан оказывает различное действие на отдельные звенья гидроксилирующих систем печени и почек крыс и собак. Ранее было установлено, что введение хлодитана в течение 12—14 сут не изменяет метаболизм экзогенного гидрокортизона в печени собак [7]. Содержание холестерина в печени возрастает [9]. Обращает на себя внимание тот факт, что препарат накапливается в органах и тканях собак, причем максимум кумуляции наблюдается на 12-е сутки, однако потом происходит снижение концентрации хлодитана в тканях, несмотря на продолжающееся его введение [8]. Это явление коррелирует с наблюдаемым в наших исследованиях увеличением интенсивности сигнала ЭПР цитохрома Р-450 в печени собак.

Вероятно, в печени собак хлодитан индуцирует ту изоформу цитохрома Р-450, которая осуществляет его метаболизм, не влияет на гемопротеид, гидроксилирующий кортикостероиды и подавляет активность цитохрома Р-450, окисляющего холестерин. Не исключается также и то, что хлодитан может блокировать ферменты окислительного метаболизма холестерина, тормозя при этом биосинтез желчных кислот.

У крыс индукция микросомальных ферментов ускоряет элиминацию стероидных гормонов из тканей животных [12]. Ускоряется метаболизм и экзогенных стероидов, на что указывают данные [7] об увеличении превращения гидрокортизона в полярные метаболиты в печени и почках крыс под влиянием *о, n'*-ДДД. Снижение содержания глюкокортикоидов в крови крыс должно привести к повышенному синтезу кортикостероидов в надпочечниках по механизму обратной связи через систему гипоталамус — гипофиз — кора надпочечников, как это происходит при недостатке в организме гормонов коры надпочечников. Вероятно, с этим связано обнаруженное нами 2-кратное увеличение интенсивности сигнала ЭПР цитохрома Р-450 в надпочечниках, свидетельствующее об индукции фермента, участвующего в биосинтезе кортикостероидов (см. таблицу).

Однако длительное функциональное напряжение гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, как известно, вызывает ряд изменений в гипоталамо-гипофизарной системе [3, 5]. Вероятно, что наблюдаемое через 21 сут снижение интенсивности сигнала ЭПР цитохрома Р-450 в надпочечниках крыс при введении хлодитана связано с истощением функциональных возможностей аденогипофиза. Безусловно, что уменьшение содержания цитохрома Р-450 в надпочечниках крыс не связано с адренокортиколитическим действием хлодитана, поскольку показано [8], что при введении (300 мг/кг) его крысам в течение 28 сут он практически не обнаруживается в надпочечниках и других органах крыс, за исключением жировой ткани и печени. Это связано, возможно, с усиленным метаболизмом и выведением хлодитана из организма в результате гипериндукции микросомальных ферментов главным образом в печени.

Отчетливое влияние хлодитана на цитохром Р-450 наблюдается в почках и особенно в надпочечниках собак. Вероятно, причина снижения уровня цитохрома Р-450 в почках — связывание хлодитана гемопротеином, а также невысокая скорость метаболизма препарата в микросомах, поскольку известно, что активность микросомальных систем детоксикации в почках на несколько порядков ниже, чем в гепатоцитах [13].

В надпочечниках собак длительное введение хлодитана приводит

к полному исчезновению сигнала ЭПР цитохрома P-450 и снижению до минимальных значений амплитуды сигнала ЭПР восстановленного адrenoдоксина. При этом обнаружено появление сигнала ЭПР с g 4,26. Близкий по значению сигнал с g 4,27 наблюдается в спектре ЭПР окисленного адrenoдоксина [16]. Это должно свидетельствовать о том, что в цепи переноса электронов от НАДФН₂ к цитохрому P-450 происходит разобщение транспорта электронов в месте сопряжения двух-электронного (НАДФН₂-адrenoдоксинредуктаза) и одноэлектронного (адrenoдоксин) участков электронтранспортной цепи митохондрий коры надпочечников.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что хлодитан оказывает разнонаправленное влияние на монооксигеназные системы коры надпочечников, печени и почек собак и крыс, что, вероятно, обусловлено видовыми и органами особенностями строения и функционирования этих систем.

S. V. Kandul, M. I. Yatsyk, V. Ya. Kononenko

A COMPARATIVE STUDY OF THE CHLODITANE EFFECT ON THE CYTOCHROME P-450 AND ADRENODOXIN CONTENT IN CERTAIN ORGANS OF DOGS AND RATS

The effect of *o,p'*-DDD on certain components of the hydroxylating systems of the adrenal, hepatic and renal cortex has been studied. It is found that *o,p'*-DDD exerts a different-directed influence on monooxygenase systems in the adrenal, hepatic and renal cortex of dogs and rats, which is, probably, induced by the species and organ peculiarities of the structure and functioning of these systems.

Institute of Endocrinology and Metabolism, Kiev

1. Ахрем А. А., Шкуматов В. М., Чащин В. А. Выделение отдельных компонентов стероидгидроксилирующей системы из митохондрий коры надпочечников быка // Биоорган. химия.— 1977.— 3, № 6.— С. 780—781.
2. Бальон Я. Г., Шульман М. Д. Синтез 2-*o*-хлорфенил-2-*n*-хлорфенил-1,1-дихлорэтана // Хим.-фармацевт. журн.— 1975, № 2.— С. 36—38.
3. Гордиенко В. М., Козырицкий В. Г., Дроздович И. И. Реакция гипоталамо-гипофизарной системы в динамике развития гипокортицизма // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии.— 1973.— 65, № 10.— С. 62—68.
4. Кандул С. В. О влиянии *o*-, *n'*-ДДД на активность парамагнитных металлоферментных центров в органах собак // Гигиена применения, токсикология, пестицидов и полимерных материалов.— Киев, 1983.— С. 198.
5. Козырицкий В. Г. Ультраструктурные изменения в клетках передней доли гипофиза собак при действии *o*-, *n'*-ДДД // Вопр. эндокринологии и обмена веществ.— 1970.— Вып. 2.— С. 52—56.
6. Комиссаренко В. П., Резников А. Г. Ингибиторы функции коры надпочечных желез.— Киев: Здоров'я, 1972.— 374 с.
7. Комисаренко В. П., Тронько М. Д. Вплив *o*-, *n'*-ДДД на обмін гідрокортизону у щурів і собак // Фізіол. журн.— 1973.— 19, № 6.— С. 765—768.
8. Корпачев В. В. Распределение *o*-, *n'*-ДДД в организме: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Ужгород, 1973.— 18 с.
9. Кравцова Л. В. Влияние ингибитора функции коры надпочечников хлодитана на содержание холестерина и фосфолипидов в головном мозге, печени и надпочечниках собак // Докл. АН УССР. Сер. Б.— 1982.— № 4.— С. 59—62.
10. Кравченко В. И. Влияние *o*-, *n'*-ДДД на образование кортикостероидов надпочечниковой ткани in vitro // Пробл. эндокринологии.— 1973.— 19, № 5.— С. 76—79.
11. Микоша А. С., Береговская Н. Н. Снижение интенсивности сигнала ЭПР цитохрома P-450, адrenoдоксина и свободных радикалов под воздействием *o*-, *n'*-дихлордифенилдихлорэтана в коре надпочечных желез собак // Там же.— 1983.— 24, № 5.— С. 62—65.
12. Салганик Р. И., Неделькина С. В., Ареутинская С. В., Кусмарцева Л. П. Элиминация стероидных гормонов из организма животных как следствие гипериндукции микросомальных ферментов при длительном введении фенобарбитала // Вопр. мед. химии.— 1974.— 20, № 6.— С. 135—141.
13. Тиунов Л. А. Основные механизмы метаболизма ксенобиотиков в организме человека и животных // Итоги науки и техники. Сер. Токсикология.— 1981.— Т. 12.— С. 5—20.
14. Boobis A. R., Davies D. S. Multiple forms of human cytochrome P-450 // Biochem. Soc. Trans.— 1984.— 12, N 1.— P. 78—80.

15. Guengerich F. P. Factors involved in the regulation of the levels and activities of rat liver cytochromes P-450 // *Ibid.*— P. 68—70.
16. Ichikawa Y., Yamano T. Preparation and physicochemical properties of functional hemoprotein P-450 from mammalian tissue microsomes // *Biochim. et Biophys. acta.*— 1970.— 200, N 2.— P. 220—240.
17. Omura T., Sanders E., Estabrook R. W. et al. Isolation from adrenal cortex of a non-heme iron protein and a flavoprotein functionally associated with a reduced triphosphopyridine nucleotide-cytochrome P-450-reductase // *Arch. Biochem. and Biophys.*— 1966.— 117, P. 660—673.

Киев. ин-т эндокринологии
и обмена веществ МЗ УССР

Поступила 19.07.85

УДК 612.018

Л. Л. Аргунова

СОСТОЯНИЕ НЕКОТОРЫХ АДРЕНЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПЕРТИРЕОЗЕ

Изучение проблемы взаимоотношений тиреоидных гормонов (ТГ) и катехоламинов (КА) представляет существенный интерес для физиологии и медицины. Известно, что избыточное содержание ТГ в организме вызывает гипертиреоз и одну из его клинических форм — тиреотоксикоз. Внешние проявления тиреотоксикоза сходны с симптомами, возникающими при передозировке адренергических веществ или при усилении симпатических влияний. Немало литературных данных свидетельствует об участии симпатических влияний в регуляции системы гипоталамус — гипофиз — щитовидная железа [2, 3]. Показано также, что при различных заболеваниях щитовидной железы существует зависимость между ее активностью и экскрецией КА, отражающей функциональное состояние симпато-адреналовой системы [1]. Это определило интерес исследователей к проблеме взаимоотношений данных гормональных агентов.

В настоящее время большинство авторов разделяет точку зрения о снижении активности симпато-адреналовой системы при гипертиреозе и усилении, таким образом, эффектов экзогенных КА [3, 4]. Однако до сих пор не может считаться решенным вопрос об изменении чувствительности адренорецепторов организма, в частности специфических адренорецепторов сердца, при гипертиреозе. Данные различных авторов по этому вопросу противоречивы. Нет единого мнения об изменении положительной хронотропной реакции сердца при гипертиреозе: в одних случаях наблюдали возрастание выраженности β_1 адренергической реакции, в других — полученные результаты не отличались от контрольных, некоторые исследователи отмечали даже угнетение данного эффекта [3, 5, 6].

В связи с этим цель нашей работы — изучение характера изменений адренергических реакций в сердечно-сосудистой системе при экспериментальном гипертиреозе, а также проведение сравнительной оценки влияния блокады β -рецепторов при различном тиреоидном статусе.

Методика

Эксперименты проведены на 97 беспородных белых крысах-самцах массой 200—300 г. Для получения экспериментального гипертиреоза опытной группе вводили подкожно 40 мкг трийодтиронина ежедневно в течение 7—8 сут. Необходимую степень гипертиреоза определяли по ректальной температуре и массе: в опыт отбирали животных, ректальная температура которых составляла не менее 39—39,5°C, а потеря массы — 20—30 г.