

Юло ВАХЕР, Уно КАНАРИК,
Тийа МЯНД, Тийу ПЯРН

О КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ БРОЙЛЕРОВ И ПОГЛОЩЕНИЕМ КИСЛОРОДА ЭРИТРОЦИТАМИ *IN VITRO*

Гормоны щитовидной железы оказывают значительное влияние на интенсивность тканевого метаболизма и вследствие этого на скорость роста организма (Тапаве, 1965). В связи с этим нахождение удобных методов определения функциональной активности щитовидной железы цыплят, в частности бройлеров, представляет не только теоретический, но и значительный практический интерес. В последние годы в клинической диагностике заболеваний щитовидной железы широкое применение получил метод, основанный на определении коэффициента связывания эритроцитами меченого йодом-131 трийодтиронина *in vitro* (Namolsky и др., 1957, 1959). Однако М. О. Хачинс (Hutchins, 1965) сомневается в пригодности этого метода для определения активности щитовидной железы цыплят, поскольку он не обнаружил достоверных изменений в поглощении трийодтиронина эритроцитами в опытах с добавлением к корму цыплят сушеной щитовидной железы или пропильтиоурацила. Нам (Вахер, Канарик, 1971) удалось показать, что степень поглощения эритроцитами йод-131-тироксина *in vitro* у кур породы нью-гемпшир достоверно выше, чем у кур породы белый леггорн, что коррелирует с функциональной активностью щитовидной железы этих пород. Несмотря на свои достоинства, этот метод вряд ли может быть широко применен в птицеводстве, так как предполагает наличие специальной изотопной лаборатории с дорогостоящей аппаратурой. В связи с этим представляет интерес предложение В. Винкельмана (Winkelmann, 1963) использовать в качестве показателя функциональной активности щитовидной железы у кур интенсивность поглощения кислорода эритроцитами *in vitro*. В пользу этого метода говорят и наши данные (Вахер, Кёэп, 1974), показывающие, что поглощение кислорода эритроцитами *in vitro* увеличивается как при добавлении тироксина к инкубационной среде, так и при введении его в организм кур.

Целью настоящей работы явилось определение корреляции между двумя показателями активности щитовидной железы, т. е. между поглощением эритроцитами *in vitro* йод-131-тироксина (T_4), с одной стороны, и кислорода, с другой.

Материал и методика

Опыты проводились с цыплятами-бройлерами (петушками), полученными из совхоза «Ранна». Условия их содержания соответствовали зоотехническим нормам. Цыплят кормили комбикормом, предназначен-

ным для бройлеров, с добавками витамина D₃. Цыплята были разделены на 4 группы, по 50 в каждой. I группа получала комбикорм, изготовленный на комбинате (контроль), II группа — комбикорм, смешанный из тех же компонентов в нашей лаборатории, III группа получала вместе с комбикормом пантотеновую кислоту (10 мг на 1 кг корма), а IV — трийодтиронин (100 мг на 1 кг корма).

Кровь для анализов брали у цыплят в 4- и 8-недельном возрасте. Связывание йод-131-T₄ определяли по методике, описанной ранее (Вахер, Канарик, 1971). К 1 мл крови добавляли 1—3 капли раствора йод-131-T₄ с удельной активностью 4 нкюри/мл и инкубировали в течение 1 ч при 41,3°C. Затем с помощью радиометра ПП-12 с датчиком УСД-1 и со спектрометрическим кристаллом NaJ (Tl) измеряли общую радиоактивность крови (Ак) и радиоактивность пятикратно отмытых эритроцитов (Аэ). Коэффициент связывания йод-131-T₄ вычисляли по формуле

$$K = \frac{A_{\text{э}} \cdot 100}{A_{\text{к}} \cdot \Gamma},$$

где Γ — показатель гематокрита, определенный в результате центрифугирования пробы на центрифуге МЦГ-8, %. В параллельно взятых пробах крови измеряли поглощение кислорода эритроцитами манометрическим способом на аппарате Варбурга (производство ГДР). В сосудики вводили 2 мл крови, а в боковой росток — 0,3 мл 20%-ного раствора КОН для связывания CO₂ (температура инкубации 41,3°). Измерение поглощения кислорода начинали после 15-минутного выравнивания температур проб в сосудиках и воды в ванне и проводили через 15, 30 и 60 мин от начала инкубации. Характерной закономерностью поглощения кислорода эритроцитами кур является то, что оно падает со временем по экспоненциальной кривой. Поэтому абсолютные значения этого показателя зависят от длительности времени, прошедшего от начала измерения (инкубации). Интенсивность поглощения кислорода выражали в микролитрах кислорода, поглощенного в минуту миллилитром эритроцитов.

Результаты и их обсуждение

Полученные данные свидетельствуют о том, что добавка трийодтиронина к корму цыплят приводит к значительному повышению степени поглощения йод-131-T₄ эритроцитами (табл. 1). Так, если в I (контрольной) группе коэффициент поглощения равняется в среднем 32,6 ± 2,7, то в IV группе он увеличивается на 39% по сравнению с контролем ($P < 0,05$). Некоторое увеличение наблюдается и в III группе цыплят, получавших пантотеновую кислоту, однако оно статистически не достоверно. Экзогенный трийодтиронин приводит также в среднем к 13%-ному увеличению поглощения кислорода эритроцитами (табл. 2), что хорошо согласуется с нашими данными об увеличении дыхания эритроцитов кур при внутримышечном введении тироксина (Вахер, Кёэп, 1974). В начале инкубации эритроциты цыплят, получавших пантотеновую кислоту, потребляют значительно больше кислорода, однако в ходе инкубации этот показатель быстро падает до нормы.

Коэффициенты линейной корреляции между коэффициентом поглощения йод-131-T₄ и показателем интенсивности поглощения кислорода эритроцитами *in vitro*, вычисленные в каждой группе по индивидуальным показателям, также свидетельствуют о существенной связи между ними, хотя между отдельными подгруппами наблюдаются и значитель-

Таблица 1

Коэффициент поглощения йод-131-тироксина эритроцитами цыплят

Возраст цыплят	Серия опытов	Количество цыплят	Группа			
			I	II	III	IV
4 недели		<i>n</i>	9 30,7±2,0	—	10 27,8±0,9	—
8 недель	I	<i>n</i>	6 25,9±1,7	6 28,3±1,5	5 37,7±5,2	6 41,3±4,2
	II	<i>n</i>	6 39,3±3,4	6 23,4±1,1	5 33,7±1,6	4 51,5±3,5
	I+II	<i>n</i>	12 32,6±2,7	12 25,9±1,2	10 35,7±2,7	10 45,4±3,3

Таблица 2

Интенсивность поглощения кислорода эритроцитами цыплят, мкл O₂/мин/мл эритроцитов

Возраст цыплят	Серия опытов	Группа				
		I	II	III	IV	
4 недели	A	2,78±0,21	—	2,06±0,18	—	
	B	2,30±0,19	—	1,46±0,15	—	
8 недель	I	A	1,77±0,17	1,74±0,12	2,17±0,17	2,32±0,22
		B	1,08±0,14	1,34±0,13	0,81±0,16	1,54±0,17
	II	A	2,08±0,21	2,34±0,19	3,55±0,24	2,04±0,19
		B	1,63±0,16	1,75±0,16	1,76±0,19	0,93±0,18
	I+II	A	1,93±0,14	2,04±0,13	2,86±0,11	2,18±0,17
		B	1,36±0,11	1,55±0,11	1,28±0,12	1,24±0,12

Примечание. A — поглощение O₂ за первые 15 мин инкубации, B — то же за последующие 15 мин инкубации.

ные различия. При этом обращает на себя внимание то, что коэффициент поглощения йод-131-T₄ коррелирует с показателем интенсивности поглощения кислорода эритроцитами именно во второй 15-минутный период инкубации. По-видимому, в течение первого 15-минутного периода инкубации в эритроцитах происходят некоторые процессы стабилизации и адаптации метаболизма к условиям инкубации *in vitro*. Поэтому при оценке гормональной активности щитовидной железы по дыханию эритроцитов *in vitro* следует пользоваться соответствующими показателями, полученными не за начальный, а за последующий период инкубации. Коэффициент корреляции во второй 15-минутный период превышает 0,6 и статистически достоверен ($P < 0,05$) как в контрольных группах (I и II), так и в группе цыплят, получавших гормон щитовидной железы (IV). Однако коррелятивная связь между коэффициентом поглощения йод-131-T₄ и показателем интенсивности поглощения эритроцитами *in vitro* кислорода не является абсолютной и в некоторых физиологических условиях может быть нарушена. Так, добавка панто-

Таблица 3

Коэффициенты корреляции между показателем интенсивности поглощения кислорода эритроцитами *in vitro* и коэффициентом поглощения йод-131-тироксина

Возраст цыплят	Серия опытов	Показатель	Группа				Совместно		
			I	II	III	IV			
4 недели	A	<i>n</i>	9		10		19		
		<i>r</i>	0,075	—	-0,582	—	-0,238		
		<i>P</i>	>0,1		<0,05		>0,1		
	B	<i>n</i>	9		10		19		
		<i>r</i>	0,558	—	0,402	—	0,502		
		<i>P</i>	<0,1		>0,1		<0,05		
8 недель	I	A	<i>n</i>	6	5	5	6	22	
			<i>r</i>	-0,558	0,000	0,057	0,019	0,038	
			<i>P</i>	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	
		B	<i>n</i>	5	5	5	5	20	
			<i>r</i>	-0,660	-0,558	0,105	-0,476	0,109	
			<i>P</i>	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	
		II	A	<i>n</i>	6	6	5	4	21
				<i>r</i>	-0,317	0,259	0,717	-0,519	0,020
			<i>P</i>	<0,1	>0,1	<0,1	>0,1	>0,1	
		B	<i>n</i>	6	5	4	4	19	
			<i>r</i>	0,173	-0,393	0,094	-0,589	-0,419	
			<i>P</i>	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	<0,05	
	I+II	A	<i>n</i>	12	11	10	10	43	
			<i>r</i>	0,364	-0,240	0,123	-0,156	0,066	
		<i>P</i>	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1		
	B	<i>n</i>	11	10	9	9	39		
		<i>r</i>	0,626	-0,612	0,097	-0,612	-0,111		
		<i>P</i>	<0,05	<0,05	>0,1	<0,05	>0,1		

теновой кислоты к комбикорму снижала коэффициент корреляции между этими показателями до 0,1. Кроме того, наши данные свидетельствуют о том, что эта связь претерпевает изменения и в ходе онтогенеза.

В настоящее время трудно судить, на каких физиолого-биохимических механизмах основывается коррелятивная связь между изученными показателями эритроцитов и функциональной активностью щитовидной железы. Действие гормонов щитовидной железы на тканевое дыхание можно считать в основном прямым (Wong и др., 1975) (путем изменения проницаемости мембран для метаболитов или активацией окислительных процессов в митохондриях), а влияние их на поглощение йод-131-Т₄ эритроцитами, по-видимому, непрямым. Причиной нарушения коррелятивных связей между гормональной активностью щитовидной железы и интенсивностью дыхания эритроцитов могут служить многие факторы, в том числе и другие гормоны (Nirmalan, George, 1971; Kolataj, Skulmowski, 1971; Kolataj и др., 1971). Таким образом, учитывая особенности гормональной активности щитовидной железы и транспорта ее гормонов в крови у птиц по сравнению с особенностями таковых у млекопитающих (Astier, 1975), а также в связи с отрицательными данными М. О. Хачинса (Hutchins, 1965), необходимы более прямые

доказательства и точное выяснение механизмов связи между поглощением йод- $^{131}\text{T}_4$ эритроцитами и функцией щитовидной железы у кур.

На основании полученных нами данных можно сделать вывод, что практическому применению показателя интенсивности поглощения эритроцитами кислорода *in vitro* в качестве оценки функциональной активности щитовидной железы цыплят-бройлеров должно предшествовать тщательное изучение корреляции его с другими показателями функциональной активности щитовидной железы.

ЛИТЕРАТУРА

- Вахер Ю., Канарик У. Поглощение эритроцитами ^{131}I -трийодтиронина как метод определения гормональной активности щитовидной железы у кур. — В кн.: Некоторые вопросы гомеостаза в хирургии. Таллин, 1971, с. 76—88.
- Вахер Ю., Кёэп Т. Влияние тироксина на дыхание эритроцитов и их ядер у кур. — В кн.: Регуляция ферментных систем гормонами щитовидной железы и надпочечников. Мат. симпоз. 23 дек. 1974 г. Таллин, 1974, с. 19—26.
- Astier, H. A comparative study of avian and rat patterns in thyroid function. II. Plasma protein-bound iodine and thyroid hormone secretion. — *Comp. Biochem. Physiol.*, 1975, v. 52B, p. 9—17.
- Hamolsky, M. W., Stein, M., Freedberg, A. S. The thyroid hormone-plasma protein complex in man. II. A new *in vitro* method for study of «uptake» of labelled hormonal components by human erythrocytes. — *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1957, v. 17, p. 33—39.
- Hamolsky, M. W., Stein, M., Freedberg, A. S. The plasma protein-thyroid hormone complex in man. III. Further studies on the use of the *in vitro* red blood cell uptake of ^{131}I -triiodthyronine as a diagnostic test of thyroid function. — *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1959, v. 19, p. 103—108.
- Hutchins, M. O. Examination of erythrocyte $^{131}\text{T}_4$ and $^{131}\text{T}_3$ uptake test for thyroid function in chickens. — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 1965, v. 120, p. 581—584.
- Kolataj, A., Majewska, H., Skulmowski, J. P. Rate of oxygen uptake by erythrocytes in pure and crossbred chickens. — *Genetica Polonica*, 1971, v. 12, p. 493—494.
- Kolataj, A., Skulmowski, J. P. Effect of adrenaline and histamine on erythrocyte respiration of purebred and hybrid chickens. — *Genetica Polonica*, 1971, v. 12, p. 495—498.
- Nirmalan, G. P., George, J. C. The influence of exogenous oestrogen and androgen on the respiratory activity and total lipid of the whole blood of the Japanese quail. — *Comp. Biochem. Physiol.*, 1972, v. 42B, p. 237—244.
- Tanabe, Y. Relation of thyroxine secretion rate to age and growth rate in the cockerel. — *Poultry Science*, 1965, v. 44, p. 591—596.
- Winkelmann, W. Einfluss von Thyroxin auf die Atmung von Hühnererythrocyten *in vivo*. — *Med. Exptl.*, 1963, v. 9, p. 25—30.
- Wong, K. L., Chiu, K. W., Wong, C. C. The effect of thyroid hormones on the oxygen consumption of the liver in the squamate reptiles. — *Comp. Biochem. Physiol.*, 1975, v. 52B, p. 9—17.

Ulo VAHER, Uno KANARIK,
Tiia MÄND, Tiiu PÄRN

**BROILERITE KILPNÄÄRME FUNKTSIONAALSE AKTIIVSUSE
JA ERÜTROTSÜÜTIDE *IN VITRO* HAPNIKUNEELAMISVÕIME
KORRELATSIOONIST**

Resümee

Artiklis kirjeldatud katsetes määrati Warburgi meetodil hapniku neeldumine 4- ja 8-nädalaste broilerite erütrotsüütides *in vitro* ja radiomeetrilisel meetodil I-131-türoksiini neeldumise koefitsient ning arutati nende lineaarse korrelatsiooni koefitsient. Selgus, et korrelatsioonikoefitsiendi suurus on üle 0,6 ning see on statistiliselt usaldatav broilerite kontrollrühmas ja söödalisisandina trijodtüroniini (100 mg 1 kg sööda kohta) saanud rühmas. Arutelu on käsitletud uuritud näitajate kasutamise võimalikkust broilerite kilpnäärme funktsionaalse aktiivsuse hindamisel.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Toimetusse saabunud
31. I 1978

Ulo VAHER, Uno KANARIK,
Tiia MÄND, Tiiu PÄRN

**THE CORRELATION BETWEEN THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF THYROID
GLAND AND THE OXYGEN CONSUMPTION BY ERYTHROCYTES *IN VITRO*
IN BROILER CHICKS**

Summary

The oxygen consumption by erythrocytes *in vitro* by the method of Warburg and the coefficient of consumption of I-131-thyroxine by radiometric method in 4- and 8-week old broiler-chicks were measured. The correlation coefficient between these two characteristics were calculated. The results of this study suggest that the rate of correlation coefficient was over 0.6 which in the control group of broilers and in the supplemental triiodothyronine-fed (100 mg per 1 kg of food) chicks was statistically significant. The application of these characteristics for determining the functional activity of the thyroid gland of broilers was discussed.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology

Received
Jan. 31, 1978