

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 577.175.44:[616.127:612.017.2]

ЕВДОКИМОВА
Ольга Владимировна

**РОЛЬ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
В СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭКСПРЕССИИ
РАННИХ ГЕНОВ В МИОКАРДЕ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 03.03.01 – физиология

Минск, 2015

Научная работа выполнена в учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Научный руководитель: **Городецкая Ирина Владимировна,**
доктор медицинских наук, профессор,
декан лечебного факультета учреждения
образования «Витебский государственный
ордена Дружбы народов медицинский
университет»

Официальные оппоненты: **Переверзев Владимир Алексеевич,**
доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой нормальной
физиологии учреждения образования
«Белорусский государственный медицинский
университет»

Досин Юрий Михайлович,
доктор медицинских наук, доцент,
профессор кафедры медико-биологических
основ физического воспитания учреждения
образования «Белорусский государственный
педагогический университет имени Максима
Танка»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Защита состоится «18» декабря 2015 г. в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.02 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Держинского, 83. e-mail: uchsovet@bsmu.by, телефон ученого секретаря: 272-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан « » ноября 2015 г.

Ученый секретарь
совета по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук, доцент

А.И. Герасимович

ВВЕДЕНИЕ

Значительная часть факторов, ежедневно воздействующих на человека, вызывает стрессовые реакции, приводящие к развитию множества болезней, которые стали «эпидемией» XXI века [Ю.Е. Демидчик, И.К. Луцкая, Е.А. Демьяненко, 2013]. Существенное значение в защите клеток от стресс-индуцированных повреждений играет неспецифический ответ генов раннего реагирования, развивающийся уже в первые минуты после действия стрессоров [A. Arlt, H. Schafer, 2011] и приводящий к стимуляции синтеза различных белков, в том числе, и обладающих стресс-протекторными свойствами [M. Gustems et al., 2013]. В его реализации доказано значение некоторых гормонов, преимущественно катехоламинов [T. Singal, N.S. Dhalla, P.S. Tapp, 2010] и глюкокортикоидов [F. Luca et al., 2013]. Роль йодсодержащих тиреоидных гормонов в этом процессе ранее не обсуждалась. Вместе с тем, на такую возможность указывает их геномное действие, опосредованное связыванием с ядерными рецепторами [S. Rohit, P.M. Yen, 2014]. Актуальность исследования определяется и тем, что изучение регуляции экспрессии генов раннего ответа будет способствовать установлению молекулярных механизмов появления и развития множества «болезней стресса», а также предложению способов направленной коррекции этого процесса, что представляет собой важную проблему не только физиологии, но и медицины.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами и темами

Диссертация выполнена в рамках темы научно-исследовательской работы кафедры нормальной физиологии учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» (УО «ВГМУ») «Выяснить механизмы защитного эффекта йодсодержащих тиреоидных гормонов, связанные с их воздействием на экспрессию ранних генов и систему протеолиза при стрессе» (сроки исполнения 01.01.2013 г.– 31.12.2015 г., № госрегистрации 20130898 от 11.06.2013 г.).

Цель и задачи исследования

Целью исследования являлось выяснение роли йодсодержащих гормонов щитовидной железы в стресс-индуцированной экспрессии генов раннего ответа c-fos и c-jun в миокарде.

Задачи:

1. Выяснить особенности изменения уровня йодсодержащих тиреоидных гормонов в крови, экспрессии генов раннего ответа (c-fos и c-jun) в миокарде у крыс при эмоциональном и химическом стрессе и их взаимосвязь с показателями развития стресса.

2. Изучить обмен йодсодержащих тиреоидных гормонов и экспрессию генов c-fos и c-jun в миокарде и проанализировать взаимосвязь между ними и

параметрами стресс-реакции, вызванной факторами различной природы, у гипотиреоидных крыс.

3. Изучить влияние введения экзогенного L-тироксина на тиреоидный статус и экспрессию генов раннего ответа в миокарде и выяснить их значимость для устойчивости организма животных к стрессорным воздействиям различной природы.

4. Оценить взаимосвязь между уровнем йодсодержащих тиреоидных гормонов, экспрессией генов c-fos и c-jun и состоянием показателей про- и антиоксидантных систем в миокарде и крови крыс при стрессе различного происхождения.

Объектом исследования явились сердца, кровь, надпочечники, селезенка, тимус, слизистая оболочка желудка крыс.

Предмет исследования – значимость йодсодержащих тиреоидных гормонов в экспрессии генов раннего реагирования c-fos и c-jun при стрессе различного происхождения.

Научная новизна

Выявлен ранее неизвестный механизм реализации влияния йодсодержащих гормонов щитовидной железы на активность антистресс-системы – их стимулирующее влияние на стресс-индуцированную экспрессию генов раннего ответа c-fos и c-jun в миокарде, приводящее к ограничению чрезмерной интенсификации перекисного окисления липидов и повышению устойчивости организма к действию стрессоров различной природы.

Положения, выносимые на защиту

1. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы оказывают стимулирующее влияние на стресс-индуцированную экспрессию генов раннего ответа c-fos и c-jun в миокарде, приводя к ограничению интенсивности процессов перекисного окисления липидов, что способствует повышению устойчивости организма к стрессу различной природы. Воздействие химического и, особенно, эмоционального стресса приводит к снижению уровня йодсодержащих тиреоидных гормонов в крови, используемых для запуска стресс-индуцированного синтеза мРНК генов раннего ответа c-fos и c-jun в миокарде, повышение экспрессии которых приводит к минимизации возникающих стрессорных повреждений.

2. Уровень йодсодержащих тиреоидных гормонов в крови влияет на выраженность экспрессии генов раннего ответа c-fos и c-jun в миокарде при эмоциональном и химическом стрессорных воздействиях. Стресс, развивающийся у гипотиреоидных крыс, вызываемый факторами различной природы, сопровождается более выраженным снижением уровня йодсодержащих тиреоидных гормонов в крови и усугублением сдвига про-/антиоксидантного баланса (большей активацией липопероксидации, падением

активности супероксиддисмутазы и каталазы, уровня восстановленного глутатиона в миокарде, снижением содержания витаминов А, Е и С, большей активностью аминотрансфераз и гаммаглутамилтрансферазы в крови) вследствие нарушения экспрессии генов раннего ответа c-fos и c-jun в миокарде и характеризуется меньшей резистентностью организма к действующим факторам.

3. Уровень йодсодержащих тиреоидных гормонов в крови является важным фактором стресс-индуцированной экспрессии генов раннего реагирования c-fos и c-jun в миокарде, приводящей к повышению устойчивости организма к действию стрессоров. Введение экзогенного L-тироксина, ограничивающее изменение тиреоидпродуцирующей функции щитовидной железы в условиях эмоционального стресса и обеспечивающее ее сохранение после химического, способствует повышению устойчивости организма к указанным воздействиям, что сочетается с ограничением активации перекисного окисления липидов, меньшими изменениями состояния ферментативного и неферментативного компонентов антиоксидантной системы в результате большей активации синтеза мРНК c-fos и c-jun в миокарде ввиду отсутствия функционального дефицита йодсодержащих тиреоидных гормонов и достаточного их количества для индукции экспрессии генов раннего реагирования, адекватной возникшей стрессорной альтерации.

Личный вклад соискателя ученой степени

Соискателем самостоятельно выполнены все этапы диссертационного исследования. Научным руководителем оказана консультативная помощь в выборе темы, определении цели, задач, методов исследования, формулировке положений, выносимых на защиту, и заключения. Физиологические исследования проведены на кафедре нормальной физиологии и в научно-исследовательской лаборатории, радиоиммунологические – в радиоизотопной лаборатории УО «ВГМУ», биохимические – в отделе клинической биохимии животных научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», молекулярно-генетические – в лаборатории воспроизводства, трансплантации эмбрионов и трансгенеза животных Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». Основные научные результаты диссертации изложены в публикациях: влияние тиреоидного статуса на вызванное стрессом изменение экспрессии генов раннего ответа в миокарде – в статьях [6-8], материалах конференций [17, 18, 21], тезисах докладов [26]; напряженности общего адаптационного синдрома – в статьях [4], материалах конференций [14, 20], тезисах докладов [24, 27]; про-/антиоксидантной систем – в статьях [1-5], материалах конференций [9-13, 15,

16, 19, 22], тезисах докладов [23, 25] – вклад диссертанта 95%. Публикации [8, 9, 11, 13, 14, 16, 17, 21, 23-27] написаны соискателем без соавторов. Результаты исследований и выводы, сделанные на их основе, внедрены в учебный и научный процесс.

Апробация результатов диссертации и информация об использовании ее результатов

Основные положения диссертации доложены на Всероссийских конференциях с международным участием «Актуальные вопросы медицинской науки» (Ярославль, 2013), «Молодые ученые – медицине» (Самара, 2013); Всеукраинской конференции с международным участием «Современные аспекты медицины и фармации» (Запорожье, 2013); на международных научно-практических конференциях «Фундаментальные и прикладные проблемы стресса» (Витебск, 2013), «Фундаментальные науки – медицине» (Минск, 2013); Всероссийских медико-биологических конференциях с международным участием «Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2013, 2014); научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы современной медицины и фармации» (Минск, 2014); республиканской научно-практической конференции «Кислород и свободные радикалы» (Гродно, 2014), а также на научных конференциях молодых ученых и итоговых научных сессиях УО «ВГМУ» (2013–2015).

Результаты исследований и выводы, сделанные на их основе, используются в учебном процессе на кафедрах нормальной и патологической физиологии, общей и клинической биохимии УО «ВГМУ», кафедрах нормальной и патологической физиологии сельскохозяйственных животных, химии УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», кафедрах патологической физиологии, биологической и биоорганической химии Смоленской государственной медицинской академии, кафедрах нормальной и патологической физиологии Гомельского, Гродненского и Саратовского государственных медицинских университетов, кафедрах патологической физиологии, кафедре анатомии и физиологии УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова», кафедре патологической физиологии Пермской государственной медицинской академии, а также в научном процессе научно-исследовательской лаборатории УО «ВГМУ» [31 акт внедрения].

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано 27 научных работ. Из них 22 статьи (8 – в изданиях, входящих в перечень ВАК Республики Беларусь, 14 – в журналах и сборниках материалов конференций) и 5 тезисов докладов на международных и республиканских конференциях. Количество публикаций, написанных без

соавторов, – 13. Объем публикаций, соответствующих пункту 18 «Положения о присуждении учёных степеней и присвоении учёных званий в Республике Беларусь», – 56 страниц (5,2 авторских листа), объем статей в журналах и материалах конференций – 34 страницы (2,9 авторских листа), тезисов – 4 страницы (0,32 авторского листа). Объем публикаций, написанных без соавторов, – 25 страниц (2,5 авторских листа). Суммарный объем публикаций составил 94 страницы (8,4 авторских листа).

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из оглавления, перечня условных обозначений, введения, общей характеристики работы, основной части (5 глав), заключения, списка использованных источников (248: 79 отечественных и 169 иностранных), 27 публикаций соискателя и приложения. Работа изложена на 166 страницах текста (без библиографического списка и приложений – 84 страницы), отпечатанного на принтере. Диссертация проиллюстрирована 24 рисунками и 47 таблицами (47 страниц), 2 приложениями (68 страниц).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена в осенне-зимний период на 400 беспородных половозрелых белых крысах-самцах массой 220-260 г, разделенных на 10 групп: 1 – интактные; 2 – контроль (введение 1% крахмального клейстера); 3, 4 – крысы, подвергнутые химическому (ХС) и эмоциональному (ЭС) стрессу; 5 – животные, получавшие тиреостатик мерказолил (М) (ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Украина) (25 мг/кг 20 дней); 6, 7 – крысы, получавшие М, и затем подвергнутые ХС и ЭС; 8 – животные, получавшие близкие к физиологическим дозы L-тироксина (L-T4) (Berlin-Chemie AG, «Менарини Групп», Германия) (1,5–3,0 мкг/кг 28 дней); 9, 10 – крысы, получавшие L-T4, затем подвергнутые ХС и ЭС. Все препараты вводились внутривентрикулярно в 1% крахмальном клейстере. ХС вызывали внутривентрикулярным введением 25% раствора этанола (3,5 г/кг) [R.Z. Thomas, 1994]; ЭС моделировали «свободным плаванием в клетке» (ЭС) [С.Н. Бондаренко, Н.А. Бондаренко, Е.Б. Манухина, 1999], для чего крыс по 5 особей помещали в стандартную пластиковую клетку (50x30x20 см), заполненную водой (t 22°C) на высоту 15 см и закрытую сверху сеткой.

Тиреоидный статус оценивали по изменению уровня йодсодержащих тиреоидных гормонов (ЙТГ) в крови, массы тела (путем взвешивания животных на весах «РН-10Ц13У») и частоты сердечных сокращений (ЧСС) (с помощью электрокардиографа «Поли-Спектр-8Е/8В»).

Интенсивность стресс-синдрома определяли по изменениям относительной массы надпочечников (ОМН), селезенки (ОМС), тимуса (ОМТ) и по поражению слизистой оболочки желудка (СОЖ) (по тяжести (ТП): 1 балл

– площадь кровоизлияний 0–1,9 мм², 2 балла – 2–3,9 мм², 3 балла – 4–5,9 мм², 4 балла – 6–8 мм²; частоте (ЧП) – отношению числа животных, имевших дефекты слизистой, к общему количеству крыс в группе, выраженному в процентах; множественности (МП) – отношению числа повреждений у всех крыс к числу животных в группе [Л.М. Тарасенко и др., 2001]; индексу поражения (ИП) – сумме ТП, ЧП и МП [В.А. Виноградов, В.М. Полонский, 1983]). Общую устойчивость организма характеризовали по времени плавания (ВП) в воде комнатной температуры с прикрепленным к основанию хвоста грузом массой 5% от массы тела до опускания на дно. Температуру тела измеряли в прямой кишке термометром медицинским электрическим «ТПЭМ-1».

Экспрессию генов *c-fos* и *c-jun* в миокарде изучали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием системы для ПЦР-амплификации «CFX-96» (Bio-Rad, США). В качестве гена-нормализатора был выбран ген *BMP4* (*bone morphogenetic protein 4 gene*), показывающий стабильный уровень экспрессии в сердце млекопитающих при воздействии различных факторов. Специфичные праймеры для участков внутри генов *c-fos*, *c-jun* и *BMP4*, а также условия реакции для ПЦР-амплификации подбирали с помощью специализированного программного обеспечения («Primer Primer6», «Primer3») (таблица 1).

Таблица 1. – Последовательности праймеров, подобранных к целевым генам *c-fos* и *c-jun*, а также к гену-нормализатору *BMP4*

| Целевой ген | Размер амплифицируемого фрагмента | Температура отжига, °С | Последовательность праймеров 5'--->3' |
|--------------|-----------------------------------|------------------------|---------------------------------------|
| <i>c-fos</i> | 118 пар нуклеотидов | 58,5 | S-CGGTCAAGAACATTAGCAACAT |
| | | | AS-AGGTCCACATCTGGCACAG |
| <i>c-jun</i> | 154 пар нуклеотидов | 62,5 | S-GGGGTGCGGAGCCAGCTTCA |
| | | | AS-CGGAGGGCTTGGGTGGGAG |
| <i>BMP4</i> | 112 пар нуклеотидов | 62,5 | S-CGGGAGCAGGTGGACCAGGGG |
| | | | AS-GTGTCCAGTAGTCGTGTGATGAGGTG |

Примечание – S (sense) - прямой праймер, AS (antisense) - обратный.

Количественную оценку экспрессии генов проводили с использованием значений пороговых циклов C_t , рассчитанных для генов интереса пробы (*c-fos* и *c-jun*), генов-калибраторов (*c-fos* и *c-jun* в образцах контрольной группы животных) и гена-нормализатора с учетом эффективностей реакции ПЦР-амплификации участков вышеназванных генов с помощью пакета программ «CFX Manager Software» (Bio-Rad, США). Количество копий мРНК в каждом образце крыс контрольной группы принимали за 1. Статистическую обработку проводили с использованием метода $\Delta\Delta C_t$ [K.J. Livak, 2008].

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) в миокарде изучали по концентрации диеновых конъюгатов (ДК) [И.Д. Стальная, 1977], малонового диальдегида (МДА) [И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили, 1977], а также скорости этого процесса. Содержание белка исследовали по Lowry [О.Н. Lowry et al., 1951], уровень общих липидов – сульфофосфованилиновой реакцией. Состояние ферментативного компонента антиоксидантной системы миокарда определяли по активности супероксиддисмутазы (СОД) [R. Fried, 1975] и каталазы (КАТ) [С.Д. Балаховский, 1953]. Неферментативный компонент антиоксидантной системы оценивали по содержанию восстановленного глутатиона (GSH) в миокарде [J. Sedlak, 1968] и по уровню витаминов-антиоксидантов А, Е и С в плазме [А.И. Карпищенко, 2002], а также по показателям, отражающим состояние «структурного» антиоксиданта – определенным образом упорядоченной «архитектуры» мембраны – активности аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ), а также гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ), которая является основным ферментом, регулирующим уровень GSH в клетке и вовлеченным в его катализ (с помощью кинетического метода на автоматическом анализаторе «Eyrolaser»).

Концентрацию ЙТГ (общих трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4), их свободных фракций (Т3св и Т4св)), тиреотропного гормона (ТТГ), инсулина (И) и кортизола (К) в сыворотке крови определяли с помощью наборов реактивов РИА-Т3-СТ, РИА-Т4-СТ, ИРМА-ТТГ-СТ (Институт биоорганической химии НАН Беларуси), RIA FT3, RIA FT4 (IMMUNOTECH, A Beckman Coulter Company, Чехия) и Insulin(e) IRMA KIT (IMMUNOTECH, A Beckman Coulter Company, Чехия), РИА-КОРТИЗОЛ-СТ (Институт биоорганической химии НАН Беларуси). Все исследования осуществляли утром в одно и то же время. Животных декапитировали под уретановым наркозом (г/кг массы тела).

Статистическую обработку результатов проводили с применением программы «STATISTICA 6.0» (StatSoft inc.), лицензия № 10996172. При межгрупповом сравнении использовали непараметрический критерий Манна-Уитни для попарного сравнения групп. Для определения силы и характера связи между двумя количественными параметрами рассчитывали коэффициент линейной корреляции Пирсона (r), между тремя – коэффициент парциальной корреляции (R). Критическим уровнем значимости был принят $p < 0,05$.

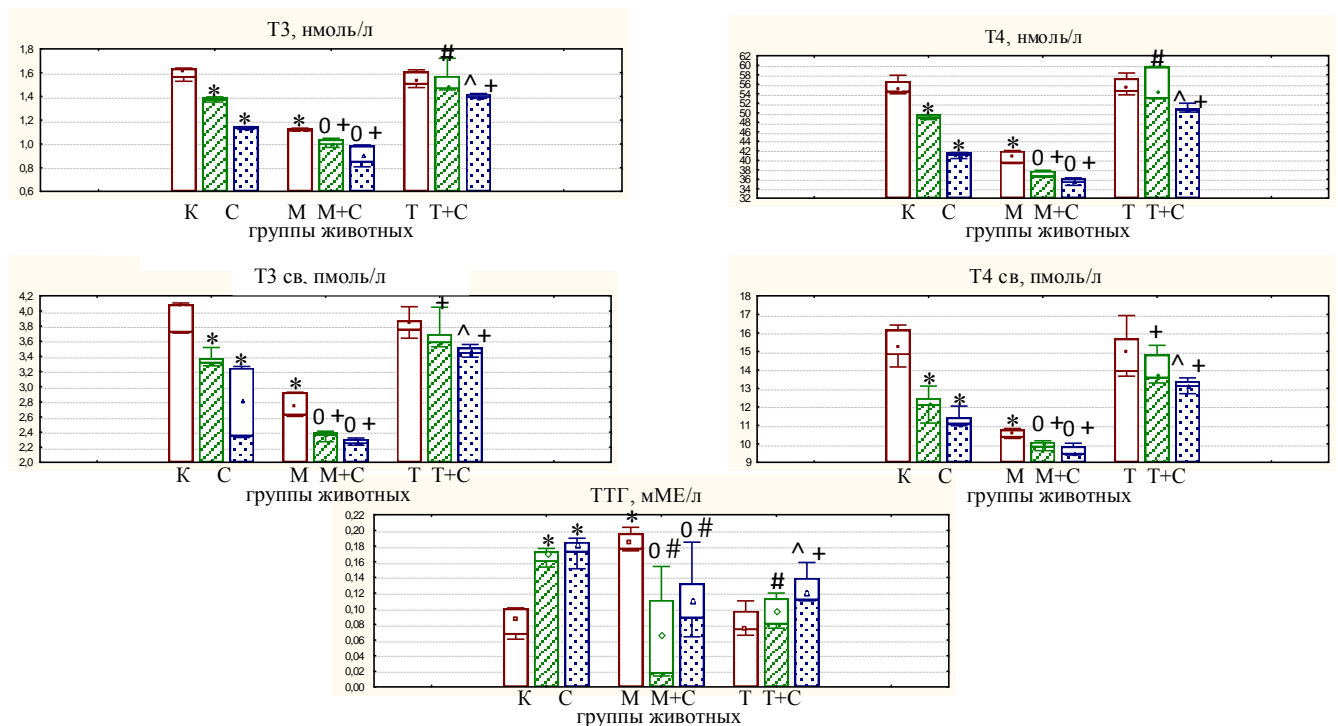
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Взаимосвязь уровня йодсодержащих тиреоидных гормонов и экспрессии генов раннего ответа в миокарде при воздействии факторов различной природы и их значение в развитии стресс-реакции

У интактных крыс содержание Т3 в крови составило 1,509 (1,483; 1,605) нмоль/л, Т4 54,210 (52,997; 57,598) нмоль/л, Т3 св 3,796 (3,664; 3,932) пмоль/л, Т4 св 15,201 (13,130; 17,749) пмоль/л, ТТГ 0,072 (0,068; 0,075) мМЕ/л; величина

ОМН 0,20 (0,15; 0,22) мг/г, ОМС 3,09 (2,98; 3,22) мг/г, ОМТ 1,86 (1,76; 1,89) мг/г, содержание в крови К 30,25 (28,45; 31,03) нмоль/л, И 1,53 (1,34; 1,70) мкМЕ/мл, ВП 11,47 (10,36; 11,91) минут, температура тела 37,5 (36,6; 38,0) °С; содержание ДК в миокарде составило 11,94 (10,73; 13,03) нмоль/мг липидов, МДА 0,075 (0,063; 0,086) нмоль/мг белка, скорость ПОЛ 34,50 (31,72; 35,72) нмоль МДА/г·час, активность СОД 67,23 (64,85; 71,77) усл. ед./г, КАТ 11,83 (10,79; 12,21) мкмоль Н₂О₂/г·мин, уровень GSH 40,38 (38,76; 42,26) ммоль/г белка; концентрация витаминов А, Е и С в крови 0,270 (0,230; 0,340), 2,158 (1,903; 2,413) и 32,655 (30,050; 34,190) мкг/мл, активность АСТ 152,31 (66,12; 281,23) U/L, АЛТ 52,92 (21,78; 58,24) U/L, ГГТ 2,57 (1,36; 3,99) U/L.

ХС и, особенно, ЭС приводили к уменьшению уровня ЙТГ в крови: Т3 на 14 и 29%, Т4 на 10 и 25%, Т3 св на 18 и 30%, Т4 св на 20 и 27% (p<0,01), в ответ на что сывороточное содержание ТТГ увеличивалось на 101 и 113% (p<0,01) (рисунок 1).



□, ◇, Δ, - медианы;

Здесь и на рисунке 2: □ – LQ; UQ, ⊔ – минимальное и максимальное значения показателя; группы животных (в каждой по 6 особей): К – «Контроль», С – «Стресс», М – «М», М+С – «М+стресс», Т – «L-T4», Т+С – «L-T4+стресс»; вид стрессора: ▨ - ХС, ▩ - ЭС; обозначение достоверности различий (p< 0,05) по отношению: * - к контролю, # - к соответствующему стрессу, + - к контролю и соответствующему стрессу, ° - к группе «М», ^ - к группе «L-T4»

Рисунок 1. – Уровень йодсодержащих тиреоидных и тиреотропного гормонов в крови крыс при стрессе без и на фоне модуляции тиреоидного статуса

В этих условиях имело место возрастание экспрессии *c-fos* и *c-jun* в миокарде: на 44 и 36% после ХС и на 59 и 52% после ЭС ($p < 0,05$) (рисунок 2). Между концентрацией ЙТГ в крови и уровнем мРНК указанных генов корреляция была обратной ($r = -0,67 - -0,95$, $p < 0,05$).

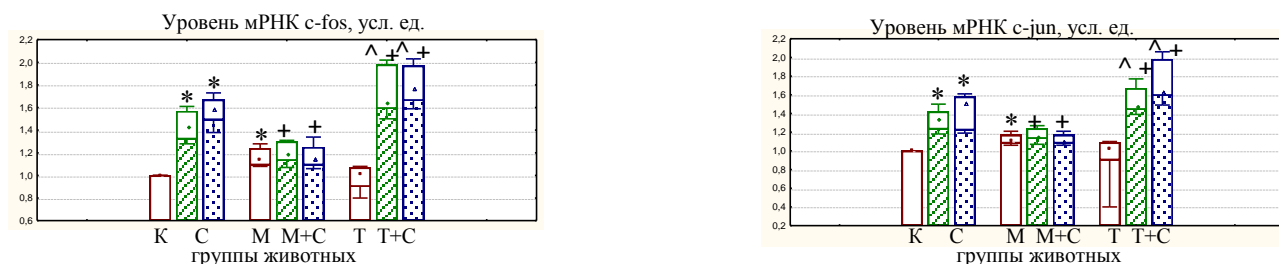


Рисунок 2. – Уровень мРНК *c-fos* и *c-jun* в миокарде при стрессе у животных с интактным и измененным тиреоидным статусом

Доля объясняемой дисперсии доказывает, что изменение уровня мРНК *c-fos* и *c-jun* на 71–90% объясняется сдвигом содержания общих форм ЙТГ в крови и на 45–79% – концентрации их свободных фракций.

ХС и ЭС вызвали изменение относительной массы стресс-сенситивных органов: ОМН повышалась на 14% ($p < 0,05$) и 31% ($p < 0,01$), ОМС и ОМТ снижались на 8% ($p < 0,001$) и 10% ($p < 0,001$) и на 14% ($p < 0,001$) и 17% ($p < 0,001$). Поражение СОЖ было меньшим после ХС – у 60% крыс ($p < 0,05$) с ТП 1 балл у 40% животных, 2 балла у 20% ($p < 0,05$); МП 1 или 2 кровоизлияния на крысу у 40 и 20% животных ($p < 0,05$); ИП составил 2,2. После ЭС оно наблюдалось у 70% крыс ($p < 0,01$) с ТП 3 балла ($p < 0,01$); МП 3 или 4 кровоизлияния на животное у 30 и 40% крыс ($p < 0,01$); ИП 5,3. Сывороточное содержание К повышалось, а И, напротив, уменьшалось: на 65 и 27%, и на 117 и 40% после ХС и ЭС ($p < 0,01$ во всех случаях). К/И коэффициент после указанных воздействий возрастал в 2,3 и 3,6 раза. После ЭС ВП крыс увеличивалось на 35% ($p < 0,001$), а температура их тела уменьшалась на $0,9^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,01$). После ХС указанные показатели не изменялись ($p > 0,05$). Между показателями, характеризующими резистентность организма к стрессу, и содержанием ЙТГ в крови в группах «Контроль» и «Стресс» установлено наличие корреляционной связи после ХС и ЭС (более выраженной после ЭС): прямой – с ОМС ($r = 0,78 - 0,91$, $p < 0,01$), ОМТ ($r = 0,78 - 0,94$, $p < 0,01$), концентрацией И в крови ($r = 0,69 - 0,96$, $p < 0,05$), температурой тела крыс ($r = 0,62 - 0,77$, $p < 0,05$) и обратной – с ОМН ($r = -0,65 - -0,67$, $p < 0,05$), ТП СОЖ ($r = -0,63 - -0,98$, $p < 0,05$), МП ($r = -0,63 - -0,95$, $p < 0,01$), сывороточным уровнем К ($r = -0,81 - -0,96$, $p < 0,001$) и ВП ($r = -0,69 - -0,86$, $p < 0,05$). При этом установлена взаимосвязь большинства вышеуказанных показателей стресс-реакции с содержанием ЙТГ в крови и уровнем мРНК *c-fos*, *c-jun* в миокарде после воздействия обоих факторов: наибольшее количество корреляций с уровнем мРНК *c-jun* – 17 ($R = 0,61 - 0,96$, $p < 0,05$), количество

корреляций с уровнем мРНК *c-fos* – 10 ($R=0,63 - 0,96$, $p<0,05$). Оба примененных стрессора вызывали активацию ПОЛ в миокарде, однако в различной степени: концентрация ДК, МДА и скорость ПОЛ повышались на 24, 20 и 29% ($p<0,01$) после ХС; на 32, 37 и 42% ($p<0,01$) после ЭС. Прямая связь показателей, характеризующих процессы ПОЛ, с уровнем мРНК ранних генов в миокарде установлена после всех примененных воздействий ($R=0,61-0,95$, $p<0,05$), содержания ДК и МДА с концентрацией ТЗ св в крови – после ХС ($R=0,83$ и $0,60$, $p<0,05$); обратная – между скоростью ПОЛ и сывороточным уровнем ЙТГ после ЭС ($R=-0,74$ для Т4 св и $-0,76$ для Т3 и Т4 ($p<0,05$)). Активность СОД и КАТ в миокарде, а также АЛТ и ГГТ в плазме крови увеличивалась после всех стрессов: на 10% ($p<0,05$), 15% ($p<0,05$), 28% ($p<0,001$) и на 176% ($p<0,01$) после ХС; на 12% ($p<0,01$), 18% ($p<0,01$), 44% ($p<0,001$) и на 98% ($p<0,01$) после ЭС. Уровень GSH в миокарде и содержание витамина Е снижались также после воздействия и ХС, и ЭС: на 31 и 23% ($p<0,01$ в обоих случаях) и на 43% ($p<0,001$) и 38% ($p<0,05$). Кроме того, после ЭС повышалась активность АСТ и уменьшалась концентрация витаминов А и С в крови: на 128% ($p<0,001$), 41% ($p<0,01$) и 7% ($p<0,001$). Величина коэффициента парциальной корреляции в группах «Контроль» и «ХС» указывает на взаимосвязь активности СОД, КАТ в миокарде с содержанием ЙТГ в крови (за исключением концентрации Т4 св) ($R=0,61-0,79$, $p<0,05$) и уровнем мРНК *c-fos*, *c-jun* в миокарде ($R=0,80-0,93$, $p<0,01$). После ЭС активность указанных ферментов коррелировала лишь с уровнем мРНК генов раннего ответа ($R=0,62-0,82$, $p<0,05$). Концентрация GSH сильно прямо коррелировала с содержанием ЙТГ после всех примененных воздействий ($R=0,83-0,99$, $p<0,001$), а также с уровнем мРНК *c-fos* и *c-jun* в миокарде (при исключении влияния общих форм ЙТГ) после ЭС ($R=0,79-0,87$, $p<0,01$). Концентрация витаминов-антиоксидантов в плазме крови прямо, а активность АСТ, АЛТ и ГГТ в ней, напротив, обратно коррелировали с содержанием большинства форм ЙТГ в крови (после ХС $r=0,62-0,72$ ($p<0,05$) для витамина Е и $r=-0,64 - -0,73$ для АЛТ ($p<0,05$); после ЭС $r=0,60-0,73$ ($p<0,05$) для витамина А и С и $r=-0,58 - -0,79$ ($p<0,05$) для АСТ, АЛТ и ГГТ).

**Влияние экспериментального гипотиреоза
на сывороточный уровень йодсодержащих тиреоидных гормонов
и экспрессию генов раннего ответа *c-fos* и *c-jun* в миокарде при стрессе
различного происхождения и корреляция между ними
и показателями общего адаптационного синдрома**

У крыс, получавших М, наблюдалось увеличение массы тела (на 19%, $p<0,01$), уменьшение ЧСС (на 23%, $p<0,001$) и сывороточного уровня ЙТГ (Т3 на 31%, Т4 на 25%, Т3 св на 33%, Т4 св на 30% ($p<0,01$)), сопровождавшееся возрастанием концентрации ТТГ на 116% ($p<0,01$). Вместе с тем, наблюдалось

незначительное увеличение уровня мРНК исследованных генов в миокарде, в несколько большей мере *c-fos* – на 14% ($p < 0,05$) (*c-jun* на 11% ($p < 0,05$)).

ХС и ЭС у гипотиреоидных крыс вызывал дальнейшее снижение сывороточного содержания ЙТГ: Т3 на 6 и 12%, Т4 на 8 и 10%, Т3 св на 8 и 11%, Т4 св на 4 и 8% ($p < 0,01$ во всех случаях). При этом уровень ТТГ в крови не возрастал, а падал – на 137% ($p < 0,01$) после ХС, на 87% ($p < 0,05$) после ЭС.

После воздействия всех примененных нами стрессоров на гипотиреоидных крыс в отличие от эутиреоидных не происходило повышения экспрессии *c-fos* и *c-jun* в миокарде ($p > 0,05$). Поэтому уровень мРНК обоих генов по отношению к его значению после аналогичных видов стресса у животных, не получавших мерказолил, был меньшим: *c-fos* на 25 и 43% ($p < 0,01$ в обоих случаях), *c-jun* на 20 и 39% ($p < 0,05$ в обоих случаях) после ХС и ЭС. Между сывороточной концентрацией ЙТГ и содержанием мРНК указанных генов в миокарде в группах «Стресс» и «М+стресс» выявлена прямая корреляция в условиях обоих примененных воздействий ($r = 0,79–0,96$ ($p < 0,01$) для *c-fos*, $r = 0,71–0,88$ ($p < 0,01$) для *c-jun*). После стресса у крыс, получавших М, в отличие от стрессированных эутиреоидных животных ОМН и сывороточная концентрация К не возрастали ($p > 0,05$ по отношению к группе «М»), а ОМС и ОМТ снижались, как и у них: по сравнению с группой «М» после ХС на 3 и 6% ($p < 0,05$ в обоих случаях), после ЭС на 8 и 12% ($p < 0,001$ в обоих случаях). Однако, учитывая их падение, вызванное самим введением М, величина ОМН, ОМС и ОМТ была меньше, чем у эутиреоидных крыс, подвергнутых аналогичным видам стресса. Уровень И в крови уменьшался на 15 и 19% ($p < 0,01$ в обоих случаях). К/И коэффициент возрастал менее существенно: в 1,3 раза после ХС, в 1,6 раза после ЭС.

Введение М усугубляло поражение СОЖ в условиях всех воздействий, вследствие чего по отношению к стрессированным эутиреоидным животным были большими ТП (после действия всех изученных факторов) и МП (после ХС) ($p < 0,05$). ВП в отличие от перенесших стресс эутиреоидных животных уменьшалось: более существенно после ЭС – на 24% ($p < 0,001$). После ХС оно снижалось на 19% ($p < 0,001$). Температура тела гипотиреоидных животных падала в условиях всех воздействий: по сравнению с группой «М» на 1,3°C после ЭС ($p < 0,05$) и менее значительно – на 0,6°C после ХС ($p < 0,05$). В группах «М» и «М+стресс» после воздействия обоих изученных факторов сывороточное содержание ЙТГ прямо коррелировало с ОМС ($r = 0,72–0,91$, $p < 0,01$), ОМТ ($r = 0,64–0,85$, $p < 0,05$), концентрацией И в крови ($r = 0,79–0,96$, $p < 0,01$), ВП ($r = 0,84–0,91$, $p < 0,001$) и температурой тела животных ($r = 0,66–0,85$, $p < 0,05$), и, напротив, обратно с ТП ($r = -0,64 – -0,86$, $p < 0,05$) и МП СОЖ ($r = -0,61 – -0,80$, $p < 0,05$). Величина коэффициента парциальной корреляции свидетельствует о том, что в указанных группах сравнения относительная масса стресс-

сенситивных органов прямо и приблизительно в равной степени зависит как от сывороточного содержания ЙТГ ($R=0,61-0,97$, $p<0,05$), так и от уровня мРНК ранних генов в миокарде ($R=0,64-0,99$, $p<0,05$); ТП и МП СОЖ – обратно от концентрации ЙТГ ($R=-0,64 - -0,94$, $p<0,05$) и прямо от уровня мРНК *c-fos*, *c-jun* ($R=0,62-0,83$, $p<0,05$). После ЭС у гипотиреоидных животных установлено наличие взаимосвязи сывороточного содержания К с концентрацией ЙТГ в крови ($R=-0,75 - -0,86$, $p<0,01$) и уровнем мРНК ранних генов ($R=0,87-0,93$, $p<0,001$). Линейная связь установлена также и между сывороточным содержанием И и концентрацией ЙТГ в крови после воздействия обоих примененных факторов у животных, получавших М ($R=0,80-0,95$, $p<0,01$).

Введение М *per se* приводило к снижению интенсивности ПОЛ в миокарде (содержание ДК падало на 20% ($p<0,05$), МДА на 22% ($p<0,05$), скорость ПОЛ на 25% ($p<0,01$)), что было обусловлено падением активности СОД, КАТ (на 23% ($p<0,01$) и 15% ($p<0,05$)) и уровня GSH (на 10%, $p<0,01$), а также уменьшало концентрацию витаминов А, Е и С в плазме крови (на 42% ($p<0,01$), 36% ($p<0,05$) и 7% ($p<0,01$)) и, напротив, повышало активность АСТ, АЛТ и ГГТ в ней (на 76% ($p<0,01$), 32% ($p<0,001$) и 58% ($p<0,05$)). Однако, несмотря на это, после всех примененных воздействий у гипотиреоидных животных развивалась более выраженная по сравнению с таковой после стресса у эутиреоидных крыс активация ПОЛ в миокарде: по отношению к группе «М» уровень ДК в сердце увеличивался на 37 и 47% ($p<0,01$), МДА на 23% ($p<0,05$) и 42% ($p<0,01$), скорость ПОЛ на 39 и 55% ($p<0,01$) после ХС и ЭС. Активность СОД и КАТ не возрастала в отличие от стрессированных эутиреоидных крыс, а уменьшалась: по отношению к группе «М» после ХС на 16% ($p<0,01$) и 15% ($p<0,05$); после ЭС на 24% ($p<0,01$) и 14% ($p<0,05$). После ХС происходило большее по сравнению с крысами, перенесшими его без М, повышение активности АЛТ, ГГТ в плазме и уменьшение содержания GSH в миокарде (на 67, 381 и 34%, $p<0,01$) и в отличие от них развивалось увеличение активности АСТ (на 45%, $p<0,001$) и снижение уровня витаминов А и С в плазме крови (на 19 и 22%, $p<0,001$). После ЭС активность АЛТ и ГГТ увеличивалась, а концентрация витамина С в плазме и содержание GSH в миокарде падали в большей степени, чем у подвергнутых такому же воздействию эутиреоидных животных, – на 93% ($p<0,001$), 232% ($p<0,01$), 31% ($p<0,001$) и 27% ($p<0,01$). Величина коэффициента парциальной корреляции в группах «М» и «М+стресс» указывает на наличие взаимосвязи параметров, отражающих состояние ПОЛ, а также активности КАТ в миокарде с сывороточным содержанием ЙТГ ($R=-0,72 - -0,99$ ($p<0,05$) для показателей ПОЛ; $R=0,90-0,98$ ($p<0,001$) для КАТ) и уровнем мРНК генов раннего ответа в миокарде ($R=0,64-0,98$ ($p<0,05$) для параметров ПОЛ; $R=0,74-0,93$ ($p<0,01$) для КАТ) после всех примененных воздействий. Активность СОД и концентрация GSH в миокарде сильно прямо

коррелировали с сывороточным содержанием ЙТГ ($R=0,92-0,99$, $p<0,001$). Линейная связь отмечалась также между уровнем ЙТГ и концентрацией витаминов-антиоксидантов ($r=0,70-0,97$, $p<0,01$), активностью АСТ (после ХС и ЭС) и АЛТ в крови (после СПК) ($r=-0,69 - -0,85$, $p<0,05$).

Влияние введения L-тироксина на тиреоидпродуцирующую функцию щитовидной железы и уровень мРНК c-fos и c-jun в миокарде в условиях стресса и взаимосвязь указанных показателей с параметрами стресс-реакции

Введение L-T4 в избранных нами дозах не влияло на сывороточный уровень ЙТГ и ТТГ, прирост массы тела, ЧСС ($p>0,05$), что позволило классифицировать их как близкие к физиологическим. ХС у животных, которым вводили L-T4, не вызывал изменения концентрации ЙТГ и ТТГ в крови ($p>0,05$), а ЭС сопровождался ее менее выраженным изменением: концентрация Т3 падала на 8%, Т4 и Т3 св на 9%, Т4 св на 14%, а ТТГ – увеличивалась на 54% ($p<0,01$ во всех случаях). Введение L-T4 само по себе не приводило к изменению экспрессии генов раннего ответа в миокарде ($p>0,05$), однако стимулировало ее при всех последующих стрессах: после ХС уровень мРНК c-fos возрастал на 64%, c-jun на 46% ($p<0,01$ в обоих случаях). Поэтому по сравнению с его величиной после аналогичного стресса у животных, не получавших L-тироксин, он был выше: c-fos на 21%, c-jun на 13% ($p<0,05$ в обоих случаях). В группах «ХС» и «L-T4+ХС» обнаружена сильная прямая корреляция уровня мРНК c-fos, c-jun в миокарде и сывороточного содержания Т3 ($r=0,88$ и $r=0,87$ ($p<0,001$ в обоих случаях)) и, особенно, его свободной фракции ($r=0,91$ и $r=0,92$ ($p<0,001$ в обоих случаях)). После ЭС у крыс, получавших L-T4, уровень мРНК c-fos увеличивался на 77% ($p<0,01$), c-jun на 61% ($p<0,01$), в результате чего он был больше по сравнению с его значением у животных, перенесших ЭС без L-T4: c-fos на 19% ($p<0,05$), c-jun на 12% ($p<0,05$). В группах «L-T4» и «L-T4+стресс» после всех примененных воздействий выявлена обратная корреляция между концентрацией всех форм ЙТГ в крови и уровнем мРНК c-fos в миокарде ($r=-0,67 - -0,77$, $p<0,05$), а также между сывороточным содержанием Т4, Т3 св и уровнем мРНК c-jun ($r=-0,65$ и $-0,66$ ($p<0,05$)). В группах «ЭС» и «L-T4+ЭС» установлена корреляционная связь между уровнем мРНК генов раннего ответа в миокарде и концентрацией ЙТГ в крови ($r=0,65-0,74$, $p<0,05$).

Введение L-T4 предупреждало изменение относительной массы стресс-сенситивных органов после ХС ($p>0,05$). После ЭС ОМН возрастала в меньшей степени, чем после такого же воздействия без L-T4, – на 25% ($p<0,05$). ОМС и ОМТ также снижались менее существенно – на 4 и 5% ($p<0,01$). ЧП СОЖ по сравнению с таковой после ХС без L-T4 была в 6 раз ниже ($p<0,05$). МП была меньше после СПК ($p<0,05$), а ТП и ИП – в условиях обоих воздействий.

Концентрация К в крови возрастала в меньшей степени, чем после стресса у эутиреоидных животных, вследствие чего была ниже по сравнению с ними на 38% ($p < 0,01$) после ХС и на 83% ($p < 0,01$) после ЭС. Уровень И после ЭС, напротив, был выше – на 11% ($p < 0,01$). К/И коэффициент возрастал менее значительно – в 1,5 и 1,9 раза после ХС и ЭС. Введение L-T4 само по себе увеличивало ВП (на 17%, $p < 0,01$), ограничивало его изменение после ЭС (на 26%, $p < 0,001$). Относительная масса стресс-сенситивных органов, а также ВП в группах «L-T4» и «L-T4+ХС» коррелировали с уровнем Т3 в крови ($r = 0,75–0,88$, $p < 0,01$). ОМС и сывороточное содержание И в указанных группах сравнения коррелировали с концентрацией Т3 св в крови ($r = 0,71$ и $0,64$, $p < 0,05$). В группах «L-T4» и «L-T4+ЭС» с уровнем ЙТГ коррелировали ОМС и ОМТ ($r = 0,63–0,86$, $p < 0,05$), МП СОЖ ($r = -0,61$ для Т3; $-0,64$ для Т4 и Т3 св, $p < 0,05$), содержание К в крови ($r = -0,61 – -0,75$, $p < 0,05$), сывороточная концентрация И ($r = 0,83–0,99$, $p < 0,001$) и температура тела животных ($r = 0,67$ и $0,64$ для Т3 и Т4, $p < 0,05$). В группах «L-T4» и «L-T4+стресс» обнаружена взаимосвязь ОМН, ОМС и ОМТ с большинством форм ЙТГ в крови и уровнем мРНК ранних генов после ЭС ($R = 0,71–0,94$ ($p < 0,05$) для ЙТГ и $R = 0,64–0,97$ ($p < 0,05$) для c-fos, c-jun). Содержание К коррелировало с уровнем мРНК генов c-fos и c-jun после обоих примененных воздействий ($R = 0,93–0,99$, $p < 0,001$); сывороточная концентрация И после ЭС – с содержанием всех форм ЙТГ ($R = 0,67–0,97$, $p < 0,05$), после ХС – с содержанием Т3 и Т3 св ($R = 0,65–0,78$, $p < 0,05$), а также с уровнем мРНК c-fos, c-jun (при исключении влияния Т3) ($R = -0,80$ и $-0,66$, $p < 0,05$). Введение L-T4 незначительно снизило скорость ПОЛ (на 14%, $p < 0,05$) и, напротив, повысило активность СОД, КАТ и уровень GSH в миокарде (на 9% ($p < 0,05$), 12% ($p < 0,05$) и 10% ($p < 0,01$)). L-T4 ограничил интенсификацию ПОЛ после ХС и ЭС, в условиях которых содержание ДК увеличивалось лишь на 10 и 16% ($p < 0,01$ в обоих случаях), МДА на 17% ($p < 0,05$) и 22% ($p < 0,01$), скорость ПОЛ на 12 и 26% ($p < 0,01$ в обоих случаях). Данный эффект был связан со стимуляцией ферментативного и неферментативного компонентов антиоксидантной системы (по отношению к их значениям у подвергнутых стрессу эутиреоидных крыс были большими: активность СОД после ХС и ЭС (на 9 и 8% ($p < 0,01$ в обоих случаях)), КАТ, концентрация витаминов А и С после ЭС (на 7% ($p < 0,05$), 44 и 11% ($p < 0,001$)), уровень витамина Е после ХС (на 20%, $p < 0,001$), содержание GSH после ХС и ЭС (на 25 и 24% ($p < 0,01$ в обоих случаях)) и, напротив, меньшими активностью АСТ после ЭС (на 92%, $p < 0,01$), АЛТ и ГГТ после ХС и ЭС (на 16 и 34% и на 104 и 49% ($p < 0,05$ во всех случаях)). В группах «L-T4» и «L-T4+стресс» между показателями интенсивности ПОЛ, а также активностью СОД, КАТ и концентрацией GSH в миокарде, с одной стороны, и сывороточным содержанием большинства форм ЙТГ и уровнем мРНК ранних генов в миокарде (преимущественно c-fos), с

другой, установлена взаимосвязь, более выраженная после ЭС (18 корреляций) ($R=0,59-0,99$, $p<0,05$). После ХС количество корреляционных связей – 7 ($R=0,65-0,98$, $p<0,05$). Уровень витамина Е в указанных группах сравнения прямо коррелировал с концентрацией Т3 св ($r=0,71$, $p<0,01$), а активность АСТ в крови, напротив, обратно с содержанием общих форм ЙТГ и Т3 св ($r=-0,60$ – $-0,68$, $p<0,05$), как и плазменная активность АЛТ с уровнем Т4 и Т3 св в крови ($r=-0,62$ и $-0,67$, $p<0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Химический (3,5 г этанола/кг) и эмоциональный (свободное плавание крыс в клетке) стрессоры вызывают снижение сывороточной концентрации йодсодержащих тиреоидных гормонов (на 10–30%, $p<0,01$), одной из основных причин которого является их повышенное использование для организации защитного действия – запуска синтеза мРНК генов раннего ответа в миокарде, что доказывается наличием корреляционной связи между указанными показателями ($r=-0,67$ – $-0,95$), а также величиной доли объясняемой дисперсии, свидетельствующей о том, что изменение уровня мРНК *c-fos* и *c-jun* (возрастание на 44 и 36% ($p<0,05$) после химического стресса и на 59 и 52% ($p<0,05$) после эмоционального) на 71 – 90% объясняются различиями содержания общих форм йодсодержащих тиреоидных гормонов в крови и на 45 – 79% – концентрации их свободных фракций [6, 17, 18, 21, 26].

2. Экспериментальный гипотиреоз (25 мг мерказолила/кг 20 дней) сам по себе незначительно увеличивает уровень мРНК *c-fos* и *c-jun* миокарде (на 14 и 11%, $p<0,05$), однако при последующих стрессах предотвращает повышение их экспрессии из-за более низкого уровня йодсодержащих тиреоидных гормонов в крови после химического (на 14–23%, $p<0,01$) и эмоционального (на 10–14%, $p<0,01$) стресса. Этому сопутствует уменьшение резистентности организма гипотиреоидных животных ко всем изученным видам стресса (более низкие показатели относительной массы надпочечников, селезенки и тимуса, содержания кортизола в крови, физической выносливости; более существенное поражение слизистой оболочки желудка). Выраженная корреляционная связь между содержанием Т3 и Т4 в крови и уровнем мРНК *c-fos* и *c-jun* в миокарде гипотиреоидных крыс после эмоционального и химического стресса ($r=0,79$ – $0,98$, $p<0,001$) свидетельствует о важной роли йодсодержащих гормонов щитовидной железы в качестве триггерного фактора (вклад 62 – 69%, $p<0,001$), запускающего стресс-индуцированную экспрессию генов раннего ответа [6, 8, 17, 18, 20, 24].

3. L-тироксин (1,5–3 мкг/кг 28 дней) *per se* не влияет на экспрессию *c-fos* и *c-jun* в миокарде, однако способствует большему возрастанию уровня их мРНК после эмоционального (на 18 и 9%, $p<0,05$) или химического (на 20 и

10%, $p < 0,05$) стресса в результате ограничения снижения или нормализации концентрации йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови. Указанный эффект сочетается с повышением устойчивости организма получавших L-тироксин животных к воздействию всех примененных стрессоров (меньшим изменением показателей относительной массы надпочечников, селезенки и тимуса, содержания кортизола в крови, физической выносливости; незначительным поражением слизистой оболочки желудка) [7, 14, 27].

4. Более низкий уровень мРНК c-fos и c-jun у гипотиреоидных животных, подвергнутых стрессу, сочетается с более значительным возрастанием содержания продуктов и скорости перекисного окисления липидов в миокарде (на 5–19%, $p < 0,05$). Стресс-индуцированная экспрессия c-fos и c-jun в миокарде под влиянием L-тироксина сопровождается ограничением степени возрастания концентрации продуктов и скорости перекисного окисления липидов после химического (на 6–31%, $p < 0,05$) и эмоционального (на 15–30%, $p < 0,01$) стресса и обусловлено активацией ферментативного и неферментативного компонентов антиоксидантной системы. Наличие сильной прямой корреляционной связи между уровнем мРНК c-fos и c-jun и активностью супероксиддисмутазы и каталазы, содержанием восстановленного глутатиона в миокарде, витаминов А, Е и С в плазме крови при химическом и эмоциональном стрессе ($r = 0,78–0,99$, $p < 0,001$) свидетельствует об активации антиоксидантной системы йодсодержащими гормонами щитовидной железы вследствие индукции ими ответа ранних генов [1-5, 9-13, 15, 16, 19, 22, 23, 25].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Полученные в процессе выполнения диссертации данные о снижении концентрации йодсодержащих тиреоидных гормонов в крови после введения алкоголя и эмоционального воздействия могут найти применение в практической медицине с целью обоснования необходимости контроля и коррекции уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы у пациентов, подвергающихся воздействию указанных факторов.

2. Выявленная в работе значимость активации экспрессии генов раннего ответа в миокарде под влиянием йодсодержащих тиреоидных гормонов в формировании резистентности организма к стрессу является научным обоснованием для разработки нового эффективного подхода к повышению его устойчивости в этих условиях.

3. Полученные данные о стимулирующем воздействии йодсодержащих гормонов щитовидной железы на активность ферментативного и неферментативного компонентов антиоксидантной системы обосновывают возможность их применения для ограничения стрессорного повреждения миокарда.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в научных журналах

1. Городецкая, И. В. Влияние изменения тиреоидного статуса на ферментативный и неферментативный компоненты антиоксидантной системы организма при действии стрессоров различной природы / И. В. Городецкая, О. В. Евдокимова // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2013. – № 43. – С. 80–83.

2. Городецкая, И. В. Влияние йодсодержащих тиреоидных гормонов на перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему миокарда при кратковременных стрессах в эксперименте / И. В. Городецкая, О. В. Евдокимова // Вести НАН Беларуси. Сер. мед. наук. – 2013. – № 3. – С. 46–52.

3. Городецкая, И. В. Зависимость состояния перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы миокарда при кратковременных стрессах от тиреоидного статуса / И. В. Городецкая, О. В. Евдокимова // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2013. – Т. 99, № 11. – С. 1285–1293.

4. Евдокимова, О. В. Реализация протекторного эффекта йодсодержащих тиреоидных гормонов при кратковременном воздействии стрессоров различной этиологии / О. В. Евдокимова, И. В. Городецкая // Вестн. ВГМУ. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 43–49.

5. Евдокимова, О. В. Влияние экспериментального гипотиреоза и малых доз L-тироксина на активность аминотрансфераз и гаммаглутамилтрансферазы в крови при действии стрессоров различного происхождения / О. В. Евдокимова, И. В. Городецкая // Вестн. ВГМУ. – 2013. – Т. 12, № 4. – С. 34–43.

6. Городецкая, И. В. Влияние йодсодержащих тиреоидных гормонов на экспрессию ранних генов c-fos и c-jun в миокарде крыс при стрессе / И. В. Городецкая, О. В. Евдокимова // Вести НАН Беларуси. Сер. мед. наук. – 2014. – № 2. – С. 42–47.

7. Евдокимова, О. В. Влияние тиреоидного статуса на вызванное стрессом изменение экспрессии ранних генов c-fos и c-jun в миокарде крыс / О. В. Евдокимова, И. В. Городецкая // Молекуляр. и приклад. генетика. – 2014. – Т. 17. – С. 38–46.

8. Евдокимова, О. В. Зависимость изменения экспрессии ранних генов c-fos и c-jun в миокарде крыс при кратковременном действии стрессоров от тиреоидного статуса организма / О. В. Евдокимова // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2014. – № 46. – С. 32–35.

Статьи в сборниках и материалах конференций

9. Евдокимова, О. В. Изменение сывороточного уровня витаминов-антиоксидантов при стрессе у животных с интактным и измененным тиреоидным статусом / О. В. Евдокимова // Фундаментальные и прикладные проблемы стресса : материалы III междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 16–17

апр. 2013 г. / Витеб. гос. ун-т ; редкол.: А. П. Солодков (гл. ред.) [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 258–260.

10. Евдокимова, О. В. Изменение сывороточной активности аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы при стрессе у животных с интактным и измененным тиреоидным статусом / О. В. Евдокимова, И. В. Городецкая // *Фундаментальные и прикладные проблемы стресса : материалы III междунар. науч.-практ. конф.*, Витебск, 16–17 апр. 2013 г. / Витеб. гос. ун-т ; редкол.: А. П. Солодков (гл. ред.) [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 261–263.

11. Евдокимова, О. В. Влияние изменения тиреоидного статуса на сывороточный уровень витаминов А, Е и С при кратковременном воздействии стрессоров различной природы / О. В. Евдокимова // *Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 65 науч.-практ. конф. студентов и молод. ученых ун-та*, Витебск, 24–25 апр. 2013 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 169–170.

12. Евдокимова, О. В. Влияние изменения тиреоидного статуса на активность гамма-глутамил- и аминотрансфераз в крови при стрессе / О. В. Евдокимова, И. В. Городецкая // *Фундаментальные науки – медицине : материалы междунар. науч.-практ. конф.*, Минск, 17 мая 2013 г. / Ин-т физиол. ; редкол.: И. В. Залуцкий (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2013 г. – С. 244–247.

13. Евдокимова, О. В. Влияние стресса различной этиологии на уровень витаминов-антиоксидантов в крови при изменении тиреоидного статуса организма / О. В. Евдокимова // *Фундаментальные науки – медицине : материалы междунар. науч.-практ. конф.*, Минск, 17 мая 2013 г. / Ин-т физиол. ; редкол.: И. В. Залуцкий (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2013 г. – С. 239–246.

14. Евдокимова, О. В. Влияние малых доз L-тироксина на изменение устойчивости организма и активности гамма-глутамилтрансферазы в условиях действия стрессоров различной природы / О. В. Евдокимова // *Молодые ученые – медицине : материалы Всерос. конф. с междунар. участием*, Самара, 23 окт. 2013 г. / Самар. гос. мед. ун-т ; редкол.: Г. П. Котельников (гл. ред.) [и др.]. – Самара, 2013. – С. 151–154.

15. Влияние введения малых доз L-тироксина на сывороточную активность гамма-глутамилтрансферазы и уровень восстановленного глутатиона в крови животных при стрессе / О. В. Евдокимова, Л. М. Дударева, М. А. Кротов, Т. В. Аксенова // *Студенческая медицинская наука XXI века : материалы 13 междунар. науч.-практ. конф.*, Витебск, 14–15 нояб. 2013 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 91–93.

16. Евдокимова, О. В. Особенности изменения активности антиоксидантных ферментов в миокарде крыс при стрессе в условиях

экспериментального гипотиреоза / О. В. Евдокимова // Студенческая медицинская наука XXI века : материалы 13 междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 14–15 нояб. 2013 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 90–91.

17. Евдокимова, О. В. Кореляционный анализ связи между показателями, характеризующими экспрессию ранних генов *c-fos* и *c-jun* в миокарде, и тиреоидным статусом организма при стрессе / О. В. Евдокимова // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 66 итог. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых ун-та, посвящ. 65-летию Великой Победы, Витебск, 17–18 апр. 2014 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2014. – С. 471–473.

18. Экспрессия ранних генов *c-fos* и *c-jun* в миокарде при стрессе у животных с интактным и измененным тиреоидным статусом / О. В. Евдокимова, Е. А. Качеровский, С. К. Либузэр, Т. В. Аксенова, М. А. Кротов // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 66 итог. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых ун-та, посвящ. 65-летию Великой Победы, Витебск, 17–18 апр. 2014 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2014. – С. 473–475.

19. Евдокимова, О. В. Антиоксидантная система миокарда и перекисное окисление липидов у животных с интактным и измененным тиреоидным статусом при стрессе / О. В. Евдокимова, И. В. Городецкая // Кислород и свободные радикалы : материалы респ. науч.-практ. конф., Гродно, 14 мая 2014 г. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. В. Зинчук [и др.]. – Гродно, 2014. – С. 61–63.

20. Евдокимова, О. В. Влияние йодсодержащих гормонов щитовидной железы на напряженность общего адаптационного синдрома, вызванного действием стрессоров различной природы / О. В. Евдокимова, И. В. Городецкая // Вопросы экспериментальной и клинической физиологии : сб. науч. трудов, посвящ. 100-летию со дня рождения Н. И. Аринчина / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. В. Зинчук [и др.]. – Гродно, 2014. – С. 112–116.

21. Евдокимова, О. В. Влияние йодсодержащих тиреоидных гормонов на экспрессию ранних генов *c-fos* и *c-jun* в миокарде крыс при стрессе / О. В. Евдокимова // Вопросы экспериментальной и клинической физиологии : сб. науч. тр., посвящ. 100-летию со дня рождения Н. И. Аринчина / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. В. Зинчук [и др.]. – Гродно, 2014. – С. 116–118.

22. Евдокимова, О. В. Анализ корреляции между показателями про-/антиоксидантного баланса и содержанием йодсодержащих тиреоидных гормонов / О. В. Евдокимова, И. В. Городецкая // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 70 науч.

сессии сотруду. ун-та, Витебск, 28–29 янв. 2015 г. / Витеб. гос. мед. ун-т : редкол.: В. П. Дейкало (гл. ред.) [и др.]. – Витебск, 2015. – С. 193–194.

Тезисы докладов

23. Евдокимова, О. В. Влияние малых доз L-тироксина на уровень витаминов-антиоксидантов и активность гамма-глутамилтрансферазы при стрессе различной этиологии / О. В. Евдокимова // *Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье : материалы XVI Всерос. мед.-биол. конф. молодых исследователей*, Санкт-Петербург, 20 апр. 2013 г. / СПб. гос. ун-т. ; редкол.: П. К. Яблонский (гл. ред.) [и др.]. – СПб., 2013. – С. 148–149.

24. Евдокимова, О. В. Влияние экспериментального гипотиреоза на устойчивость организма к химическому стрессу / О. В. Евдокимова // *Актуальные вопросы медицинской науки : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посв. 85-летию проф. Е. Н. Дормидонтова*, Ярославль, 24–26 апр. 2013 г. / Ярославс. гос. мед. акад. ; редкол.: А. А. Баранов (гл. ред.) [и др.]. – Ярославль, 2013. – С. 30–31.

25. Евдокимова, О. В. Влияние экспериментального гипотиреоза на уровень витаминов А, Е и С и на активность гамма-глутамилтрансферазы при стрессе / О. В. Евдокимова // *Современные аспекты медицины и фармации : материалы 73 Всеукр. науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов с междунар. участием, посвящ. Дню науки*, Запорожье, 16–17 мая 2013 г. / Запорож. гос. мед. ун-т ; редкол.: И. А. Мазур (гл. ред.) [и др.]. – Запорожье, 2013. – С. 18.

26. Евдокимова, О. В. Влияние экспериментального гипотиреоза и малых доз L-тироксина на экспрессию ранних генов c-fos и c-jun в миокарде при стрессе / О. В. Евдокимова // *Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2014 : тез. докл. 68 науч.-практ. конф. студентов и молод. ученых с междунар. участием*, Минск, 16–18 апр. 2014 г. / Белорус. гос. мед. ун-т ; редкол.: О. К. Кулага, Е. В. Барковский. – Минск, 2014. – С. 667.

27. Евдокимова, О. В. Влияние тиреоидного статуса на напряженность общего адаптационного синдрома, вызванного кратковременным действием стрессоров / О. В. Евдокимова // *Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье : материалы XVII Всерос. мед.-биол. конф.*, Санкт-Петербург, 19 апр. 2014 г. / СПб. гос. ун-т. ; редкол.: П. К. Яблонский (гл. ред.) [и др.]. – СПб., 2014. – С. 147–148.

РЭЗІЮМЭ

Еўдакімава Вольга Уладзіміраўна

Роля гармонаў шчытападобнай залозы, якія змяшчаюць ед, у стрэс-індуцыраванай экспрэсіі ранніх генаў у міякардзе

Ключавыя словы: тырэоідныя гармоны, якія змяшчаюць ед, стрэс, гены ранняга адказу.

Мэта даследавання: высвятленне ролі гармонаў шчытападобнай залозы, якія змяшчаюць ед, у стрэс-індуцыраванай экспрэсіі генаў ранняга адказу c-fos і c-jun у міякардзе.

Метады даследавання: фізіялагічныя, малекулярна-генетычныя, біяхімічныя, радыёімуналагічныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: тырэоідныя гармоны, якія змяшчаюць ед, з'яўляюцца пусковым фактарам для стрэс-індуцыраванага сінтэзу мРНК c-fos і c-jun у міякардзе, павышэнне якога прыводзіць да абмежавання стрэсорнага пашкоджання. Дэфіцыт гармонаў шчытападобнай залозы, якія змяшчаюць ед, выкліканы ўвядзеннем тырыястатыка мерказаліла, перашкаджае рэалізацыі ахоўнага адказу генаў c-fos і c-jun пры ўздзеянні хімічнага і эмацыйнага стрэсараў, што суправаджаецца зніжэннем стрэс-ўстойлівасці арганізма за кошт большага зруху пра-/антыаксідантнай раўнавагі. Адсутнасць функцыянальнага дэфіцыту тырэоідных гармонаў, якія змяшчаюць ед, пры стрэсе, выкліканая ўвядзеннем экзагеннага L-тыраксіну, вызначае большую, чым у жывёл, якія былі стрэсіраваны без дадзенага прэпарату, ўстойлівасць арганізма да фактараў, якія ўздзейнічалі, за кошт абмежавання працэсаў перакіснага акіслення ліпідаў у міякардзе і меншага падаўлення антыаксідантнай абароны ў гэтых умовах.

Рэкамендацыі па выкарыстанні. Практычнае значэнне атрыманых у рабоце дадзеных заключаецца ў іх выкарыстанні ў вучэбным, даследчым працэсах, а таксама ў якасці асновы для распрацоўкі новага спосабу павышэння ўстойлівасці да стрэсу і мінімізацыі стрэсарнага пашкоджання міякарда шляхам уплыву на тырэоідны статус арганізма.

Вобласць ужывання: нармальная і паталагічная фізіялогія, біяхімія, эндакрыналогія.

РЕЗЮМЕ

Евдокимова Ольга Владимировна

Роль йодсодержащих гормонов щитовидной железы в стресс-индуцированной экспрессии ранних генов в миокарде

Ключевые слова: йодсодержащие тиреоидные гормоны, стресс, гены раннего ответа.

Цель исследования: выяснение роли йодсодержащих гормонов щитовидной железы в стресс-индуцированной экспрессии генов раннего ответа c-fos и c-jun в миокарде.

Методы исследования: физиологические, молекулярно-генетические, биохимические, радиоиммунологические, статистические.

Полученные результаты и их новизна: йодсодержащие тиреоидные гормоны являются пусковым фактором для стресс-индуцированного синтеза мРНК c-fos и c-jun в миокарде, повышение которого приводит к ограничению стрессорного повреждения. Дефицит йодсодержащих гормонов щитовидной железы, вызванный введением тиреостатика мерказолила, препятствует реализации защитного ответа генов c-fos и c-jun при воздействии химического и эмоционального стрессоров, что сопровождается снижением стресс-устойчивости организма за счет усугубления сдвига про-/антиоксидантного равновесия. Отсутствие функционального дефицита йодсодержащих тиреоидных гормонов при стрессе, вызванное введением экзогенного L-тироксина, определяет большую, чем у животных, стрессированных без данного препарата, устойчивость организма к воздействующим факторам за счет ограничения процессов перекисного окисления липидов в миокарде и меньшего угнетения антиоксидантной защиты в этих условиях.

Рекомендации по использованию. Практическое значение полученных в работе данных заключается в их использовании в учебном, научно-исследовательском процессах, а также в качестве основы для разработки нового способа повышения резистентности к стрессу и минимизации стрессорного повреждения миокарда путем влияния на тиреоидный статус организма.

Область применения: нормальная и патологическая физиология, биохимия, эндокринология.

SUMMARY

Yeudakimava Volha Uladzimirauna

The role of iodine-containing thyroid hormones in the stress-induced expression of the early genes in the myocardium

Keywords: iodine-containing thyroid hormones, stress, early response genes.

The purpose of research: to set the role of the iodine-containing thyroid hormones in the stress-induced expression of the early genes c-fos and c-jun in the myocardium.

Methods of research: physiological, molecular-genetic, biochemical, radioimmunoassay, statistics.

Received results and their novelty: iodine-containing thyroid hormones are triggering factor for stress-induced mRNA synthesis of c-fos and c-jun in the myocardium, which leads to a limitation of stress myocardial damage. Deficiency of iodine-containing thyroid hormones, caused by the administration of thyreostatic mercazolil, prevents the realization of the defense response of genes c-fos and c-jun under the influence of chemical and emotional stressors which is accompanied by reduction in stress resistance of the organism due to the worsening of the shear of the pro-/antioxidant balance. The absence of a functional deficiency of iodine-containing thyroid hormones under stress, caused by the administration of exogenous L-thyroxine, determines greater, than in animals, which was stressed without that drug, the body's resistance to the influencing factors by limiting of the lipid peroxidation in myocardium and less suppression of antioxidant defense in these conditions.

Recommendations on use. The practical significance of the data is their use in the educational, scientific and research process, as well as the basis for developing a new method for increasing resistance to stress and minimize stress-induced myocardial damage by affecting the body's thyroid status.

Scope: normal and pathological physiology, biochemistry, endocrinology.

Подписано в печать 16.11.2015 г. Формат бумаги 64×84 1/16.
Бумага типографская № 2. Гарнитура Times. Усл. печ. листов 1,51.

Уч.-изд. л. 1,63. Тираж 60 экз. Заказ № 1051.

Издатель и полиграфическое исполнение:

УО «Витебский государственный медицинский университет».

ЛП № 02330/453 от 30.12.2013

Пр-т Фрунзе, 27, 210023, Витебск