

Состояние процессов перекисного окисления липидов мозга животных с экспериментальным гипотиреозом при введении комплекса аминокислот (селенометионин, метионин, серин) и левотироксина

Белорусский государственный медицинский университет, кафедра биорганической химии

Исследовано влияние введения комплекса аминокислот (селенометионин, метионин, серин) на прооксидантно-антиоксидантный статус мозга, уровень тироксина и трийодтиронина в сыворотке крови крыс с экспериментальным гипотиреозом. Установлено, что применение для коррекции гипотиреоза у крыс левотироксина в дозе 1,5 мкг/кг не приводит к нормализации гормонального статуса. При использовании комплекса аминокислот (селенометионин – 30 мкг/кг, метионин – 25 мкг/кг, серин – 16 мкг/кг) и левотироксина как в дозе 1,5 мкг/кг, так и в дозе 1,0 мкг/кг уровни гормонов щитовидной железы достигают значений у контрольных животных. Использование вышеуказанных комплексов препаратов приводит к нормализации активности ферментов антиоксидантной защиты в мозге крыс.

Ключевые слова: комплекс аминокислот, экспериментальный гипотиреоз, прооксидантно-антиоксидантный статус, тироксин, трийодтиронин.

Одной из геохимических особенностей нашей Республики является дефицит микроэлемента селена в почве и воде, что ведет к снижению его содержания в сельскохозяйственных культурах, выращенных в нашей стране. Хронический селенодефицит может приводить к развитию различных заболеваний и, в частности, такой патологии щитовидной железы как гипотиреоз. В нашем исследовании мы решили проверить гипотезу, заключающуюся в том, что введение в организм животных с экспериментальным гипотиреозом наряду с левотироксином комплекса аминокислот (селенометионин, метионин, серин) позволит более полно устранить дисбаланс гормонов щитовидной железы, и будет способствовать повышению резерва антиоксидантных систем организма. Данная гипотеза сформировалась на полученных в последние годы данных о роли селена в функционировании дейодиназ и участии в окислительно-восстановительных процессах. Серин и метионин были внесены в этот комплекс как аминокислоты, способствующие включению селена в состав селеноспецифических протеинов, к которым относятся дейодиназы и глутатионпероксидазы [3,5].

Цель работы: изучение влияния введения комплекса аминокислот (селенометионин, метионин, серин) и левотироксина на формирование прооксидантно-антиоксидантного статуса мозга животных и уровень тиреоидных гормонов в условиях экспериментального гипотиреоза.

Материалы и методы исследования

Исследования были проведены на белых нелинейных крысах-самцах массой 180-250г. Каждая экспериментальная группа включала 8 животных. Экспериментальный гипотиреоз (ЭГ) у крыс формировался при употреблении в качестве питья 0,02 % раствора пропилтиоурацила (ПТУ). На протяжении всего срока эксперимента (14 суток) животные имели свободный и постоянный доступ к поилкам. Коррекция ЭГ была осуществлена в трех сериях экспериментов. Каждая серия опытов длилась 14 суток. Были использованы следующие препараты: левотироксин натрия (L-тироксин), в составе фармакологического препарата «Эутирокс» (Euthyrox: Nyscomed, Германия) в таблетках по 25 мкг; селенометионин, в составе селеносодержащего органического препарата (Alltech,

Ирландия; 1 г препарата содержал 1 мг Se-аминокислот: 50% – Se-метионина и 25% – Se-цистеина); аминокислоты метионин и серин (Sigma, Германия). L-тироксин, селенометионин, метионин и серин, а также воду контрольной группе крыс вводили ежедневно, эндогастрально, утром, в виде водных растворов необходимых концентраций:

1 серия: 1 группа (ЭГ + Т4 1,5 мкг/кг) – крысы с ЭГ, которые ежедневно получали левотироксин в дозе 1,5 мкг/кг; 2 группа (контроль введения препарата) – эутиреоидные крысы, получавшие на протяжении эксперимента адекватную водную нагрузку; 3 группа (гипотиреоз) – крысы с ЭГ;

2 серия: 1 группа (ЭГ + Т4 1,5 мкг/кг + АМК) – крысы с ЭГ, которые ежедневно получали левотироксин в дозе 1,5 мкг/кг и одновременно комплекс аминокислот (селенометионин – 30 мкг/кг, метионин – 25 мкг/кг, серин – 16 мкг/кг); 2 группа (контроль введения препарата) – эутиреоидные крысы, получавшие на протяжении эксперимента адекватную водную нагрузку; 3 группа (гипотиреоз) – крысы с ЭГ;

3 серия: 1 группа (ЭГ + Т4 1,0 мкг/кг + АМК) – крысы ЭГ, которые ежедневно получали левотироксин в дозе 1,0 мкг/кг и одновременно комплекс аминокислот (селенометионин – 30 мкг/кг, метионин – 25 мкг/кг, серин – 16 мкг/кг); 2 группа (контроль введения препарата) – эутиреоидные крысы, получавшие на протяжении эксперимента адекватную водную нагрузку; 3 группа (гипотиреоз) – крысы с ЭГ.

Животных снимали с эксперимента под тиопенталовым наркозом (60 – 80 мг/кг) с помощью забора крови из сонной артерии. Прооксидантно-антиоксидантный статус мозга оценивали по интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ): по уровню диеновых конъюгатов (ДК) (по методу В.А. Костюка и соавторов [1]) и наработке малонового диальдегида (МДА) (по методу Т. Asakawa и S. Matsushita [7]), а также активности глутатионредуктазы (ГР) (по модифицированному нами методу P.Z. Wendell [9]), супероксиддисмутазы (СОД) (по методу M.N. Nishikimi [8], модифицированному В.Н. Чумаковым и Л.Ф. Осинской [6]), каталазы (КАТ) (по методу М.А. Королюка и соавт. [2]), глутатионпероксидазы (ГП) (по методу В.И. Моина [4]). Содержание в сыворотке крови тироксина (Т4), трийодтиронина (Т3), кортизола и инсулина определяли методом радиоиммунологического анализа с использованием стандартных наборов производства ИБОХ НАН Беларуси. Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью пакетов программ «Microsoft Excel 2000» и «Statistica 6.0». Для оценки достоверности различий между группами использовали тест Манна-Уитни. Достоверными считались различия при $p < 0,05$. Все данные представлены как медиана и 50% интерквартильный размах (медиана: 25%-й перцентиль – 75%-й перцентиль), а также в виде относительных величин.

Результаты

Развитие ЭГ к 14-м суткам приема 0,02%-ного водного раствора ПТУ подтверждалось достоверным ($p < 0,05$) повышением уровня тиреотропина в сыворотке крови экспериментальных животных на 61%, снижением уровня Т4 на 79% и уровня Т3 – на 54% по сравнению с группой эутиреоидных крыс. Развитие первичного ЭГ подтверждалось также достоверным увеличением весового коэффициента щитовидной железы у крыс в 1,8 раза: с $0,10 \pm 0,01$ мг/кг (группа «контроль») до $0,18 \pm 0,02$ мг/кг (группа с ЭГ).

Введение левотироксина в дозе 1,5 мкг/кг животным с экспериментальным гипотиреозом сопровождалось увеличением на 90% уровня трийодтиронина и в 5,3 раза уровня тироксина в сыворотке крови крыс по сравнению с группой «гипотиреоз» ($p < 0,05$) (рис. 1, рис. 2). Однако уровень данных гормонов был достоверно ниже уровня Т3 и Т4 в группе «контроль» (рис. 1, рис. 2). Использование наряду с левотироксином (в дозе 1,5

мкг/кг) комплекса аминокислот (селенометионин – 30 мкг/кг, метионин – 25 мкг/кг, серин – 16 мкг/кг) приводило к еще большему увеличению уровня Т3 в сыворотке крови крыс, который составил 1,63 нмоль/л, что превышало уровень данного гормона у крыс с неизменным тиреοидным статусом (группа «контроль») (рис. 1, рис. 2).

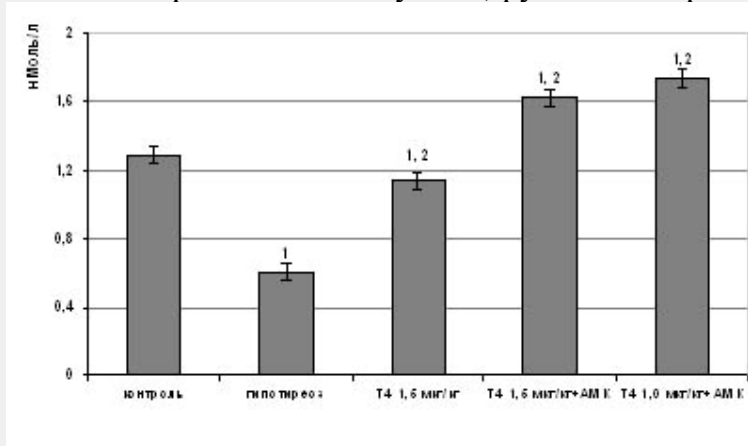


Рис. 1. Содержание трийодтиронина (нМоль/л) в сыворотке крови крыс с экспериментальным гипотиреозом в зависимости от схемы введения препаратов (1- $p < 0,05$ по сравнению с группой контроль; 2- $p < 0,05$ по сравнению с группой «гипотиреоз»; АМК-комплекс аминокислот).

Содержание Т4 снизилось на 7,3% по сравнению с группой животных, которым левотироксин вводился в дозе 1,5 мкг/кг, что, вероятно, связано с повышением активности периферических тканевых дейодиназ при введении в организм селеносодержащих аминокислот и превращением Т4 в более активный Т3 (рис. 1, рис. 2).

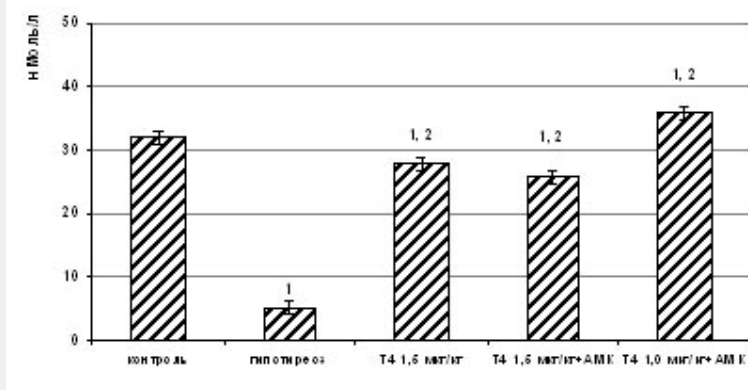


Рис. 2. Содержание тироксина (нМоль/л) в сыворотке крови крыс с экспериментальным гипотиреозом в зависимости от схемы введения препаратов (1- $p < 0,05$ по сравнению с группой контроль; 2- $p < 0,05$ по сравнению с группой «гипотиреоз»).

Далее, доза левотироксина вводимая гипотиреοидным животным была снижена с 1,5 мкг/кг до 1,0 мкг/кг при одновременном введении комплекса аминокислот (селенометионин – 30 мкг/кг, метионин – 25 мкг/кг, серин – 16 мкг/кг). Полученные результаты (рис. 1, рис. 2) указывают на то, что при использовании левотироксина в дозе 1,0 мкг/кг и комплекса аминокислот произошло наиболее полное восстановление содержания в сыворотке крови гипотиреοидных крыс тиреοидных гормонов: уровень Т3 достоверно не отличался от такового в группе животных, которым аминокислоты вводились с левотироксином в дозе 1,5 мкг/кг, а содержание Т4 достигло уровня данного показателя в группе «контроль» (животных с эутиреозом).

Со стороны прооксидантно-антиоксидантного состояния мозга экспериментальных животных при введении им левотироксина в дозе 1,5 мкг/кг отмечалась интенсификация процессов ПОЛ (таблица).

Таблица

Состояние процессов ПОЛ и активность ферментов антиоксидантой защиты в мозге крыс с экспериментальным гипотиреозом в зависимости от схемы введения препаратов

Группа животных	Показатель					
	ДК, мкмоль/г ткани	МДА, мкмоль/г ткани	СОД, ед./мг белка	КАТ, мкмоль H ₂ O ₂ /мг белка · мин	ГР, мкмоль НАДФН · Н ⁺ /мг белка · ч	ГП, мкмоль воспт. ГSH/белка · мин
ЭГ+Т ₄ 1,5 мкг/кг	0,56: 0,54–0,57	0,82: 0,81–0,85 ***	3,42: 3,18–4,02	2,93: 1,46–3,10	37,76: 34,26–42,93 *,**	7,63: 7,01–11,36
ЭГ+Т ₄ 1,5 мкг/кг+АМК	0,58: 0,53–0,64	0,75: 0,72–0,78 **	3,11: 3,04–4,02	4,58: 4,37–7,26 *,**	59,10: 55,90–67,90	11,70: 11,25–12,10 **
ЭГ+Т ₄ 1,0 мкг/кг+АМК	0,66: 0,63–0,68	0,78: 0,75–0,83 **	2,42: 2,40–2,46 *,**	2,41: 2,24–2,62	60,68: 58,11–63,29	9,40: 9,02–12,36
гипотиреоз	0,55: 0,47–0,65	0,52: 0,49–0,55	3,65: 3,40–3,68	2,68: 2,14–2,70	70,20: 62,90–71,10	9,30: 8,80–9,51
контроль	0,59: 0,50–0,67	0,71: 0,54–0,80	3,47: 2,90–4,17	2,78: 2,75–2,83	64,20: 63,10–74,10	11,27: 10,39–12,02

Примечание –* - $p < 0,05$ по сравнению с группой «контроль»; ** - $p < 0,05$ по сравнению с группой «гипотиреоз»; ЭГ – экспериментальный гипотиреоз; АМК – комплекс аминокислот.

Так, содержание МДА в мозге превышало на 58% уровень данного показателя в группе «гипотиреоз» и на 15% уровень МДА в группе «контроль» (таблица). Следует отметить, что указанные изменения не сопровождались адекватной активацией антиоксидантных ферментов мозга крыс (таблица). При использовании для коррекции экспериментального гипотиреоза комплекса аминокислот вместе с левотироксином как в дозе 1,5 мкг/кг, так и в дозе 1,0 мкг/кг также наблюдалось увеличение содержания МДА в мозге по сравнению с уровнем данного показателя у животных с ЭГ (группа «гипотиреоз»), однако, оно не превышало значений группы «контроль». Со стороны изученных антиоксидантных ферментов мозга в группе животных получавших комплекс аминокислот и левотироксин в дозе 1,5 мкг/кг отмечалось увеличение активности каталазы и глутатионпероксидазы (на 71% и 26% соответственно) по сравнению с группой «гипотиреоз» (таблица). Применение для коррекции тиреоидной гипофункции у крыс комплекса аминокислот и левотироксина в дозе 1,0 мкг/кг сопровождалось восстановлением активности всех исследованных ферментов антиоксидантной защиты мозга экспериментальных животных (таблица) до уровней близких к значениям группы «контроль».

Выводы:

1. Введение животным с экспериментальным гипотиреозом левотироксина в дозе 1,5 мкг/кг не приводит к нормализации гормонального статуса. Уровни изученных тиреоидных гормонов достигают значений у контрольных животных при использовании комплекса аминокислот (селенометионин – 30 мкг/кг, метионин – 25 мкг/кг, серин – 16 мкг/кг) и левотироксина как в дозе 1,5 мкг/кг, так и в дозе 1,0 мкг/кг.

2. Использование для коррекции экспериментального гипотиреоза указанных выше комплексов препаратов у животных сопровождается нормализацией активности ферментов антиоксидантной защиты мозга.

3. Применение для коррекции экспериментального гипотиреоза у крыс левотироксина в комплексе с аминокислотами (селенометионин – 30 мкг/кг, метионин – 25 мкг/кг, серин – 16 мкг/кг) позволяет снизить дозу левотироксина на 33,3% (с 1,5 мкг/кг, так до 1,0 мкг/кг).

Литература

1. Костюк, В. А. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Е. Ф. Лунец // Вопросы мед. химии. 1984. № 4. С. 125–127.

2. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк [и др.] // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–19.

3. Микроэлемент селен: роль в процессах жизнедеятельности / И. В. Гмошинский [и др.] // Экология моря. 2000. № 54. С. 5–19.

4. Моин, В. И. Простой и чувствительный метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. И. Моин // Лаб. дело. 1986. № 12. С. 724–727.

5. Фадеев, В. В. Гипотиреоз: руководство для врачей / В. В. Фадеев, Г. А. Мельниченко. М.: РКИ Северо-пресс, 2002. 64 с.

6. Чумаков, В. Н. Количественный метод определения активности цинк-медь-зависимой супероксиддисмутазы в биологическом материале / В. Н. Чумаков, Л. Ф. Осинская // Вопросы медицинской химии. 1977. Т. 23, № 5. С. 712–716.

7. Asakawa, T. Coloring conditions of thiobarbituric acid test, for detecting lipid hydroperoxides / T. Asakawa, S. Matsushita // Lipids. 1980. Vol. 15. P. 137–140.

8. Nishikimi, M.N. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen / M.N. Nishikimi, R. Appaji, K. Yagi // Biochim. Biophys. Reseach. Commun. 1972. Vol. 46, № 2. P. 849–854.

9. Wendell, P.Z. Distribution of glutathione reductase and detection of glutathione-cystine transhydrogenase in rat tissues / P.Z. Wendell // Biochim. Biophys. Acta. 1968. Vol. 159, № 1. P. 179–181