

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПОТИРЕОЗА

Коноплянко В.А., Клебанов Р.Д.

Республиканское унитарное предприятие «Научно – практический центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь.

Резюме. Изучение особенностей функционирования оксидантно-антиоксидантной системы организма при гипотиреозе в эксперименте выявило дистрофические нарушения, сопровождающиеся снижением функциональных резервов кислородзависимой биоксидности нейтрофилов, снижение уровня глутатиона, формирование эндотоксикоза.

Ключевые слова: гипотиреоз, оксидантно-антиоксидантная система.

Summary: Study of the functioning of the oxidant-antioxidant system in hypothyroidism in the experiment revealed degenerative disorders associated with decreased functional reserves dependence of oxygen biocidity neutrophils, decreased levels of glutathione, the formation of endotoxemia.

Keywords: hypothyroidism, oxidant-antioxidant system.

Введение. По современным представлениям, регуляторные структуры, которые ранее рассматривали отдельно, как нервная, гуморальная и иммунная системы, на самом деле неразрывно связаны между собой в единый нейроиммунноэндокринный комплекс, в котором любые изменения одного элемента, неминуемо приведут к перестройкам всей системы. Ключевым звеном, связывающим эти структуры между собой и регулирующим функциональную активность, согласовывая изменения регуляторных контуров между собой и с действием внешних факторов, является гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная ось [1]. Взаимодействие между рилизинг факторами гипоталамуса, тропными гормонами гипофиза и тиреоидными щитовидной железы проявляется не только на уровне нервной или гуморальной систем. Существуют исследования, показывающие увеличение иммунных нарушений как при физиологических, так и при патологических колебаниях уровней тиреоидных гормонов [2]. Есть предположение о существовании рецепторов для тиреотропного и тиреоидных гормонов на лимфоцитах. При экспериментальном гипотиреозе, индуцированном введением 1-метил-2-меркаптоимидазола, активность синтеза дифтерийных и столбнячных антитоксинов существенно ниже таковой интактных организмов. Активность специфического антителогенеза положительно связана с сывороточным уровнем тиреоидных гормонов и отрицательно – с сывороточным уровнем глюкокортикоидных гормонов до вакцинации [1]. С другой стороны, полученные на разных экспериментальных моделях данные, показали, что гипотиреоидные крысы более устойчивы к оксидативному стрессу и тканевому повреждению, чем

эутиреоидные животные [3, 4]. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что тиреоидный статус оказывает влияние не только на продукцию активных метаболитов кислорода в организме, но и на активность антиоксидантной системы. В свою очередь нарушения окислительно-восстановительных процессов усугубляют тяжесть гипотиреоза, формируют состояние оксидативного стресса [5,6]. Целью исследований было изучение особенностей функционирования оксидантно-антиоксидантной системы организма при формировании экспериментального гипотиреоза.

Материал и методы. Экспериментальная часть работы выполнена на крысах самцах породы Вистар-Кайота (№30), которым была выполнена тиреоидэктомия. Оперативные вмешательства проводили в условиях общего наркоза, путем интродуперитонеального введения калипсола и ксилазина в дозах 60 мг/кг и 7,5 мг/кг соответственно. Медикаментозный сон при правильном введении наступал через 2-3 минуты после введения и продолжался 110 ± 5 минут.

Тиреоидэктомия была выполнена по следующей методике. Визуальный контроль оперативного вмешательства проводили с помощью дополнительной оптики $\times 10$. Доступ к щитовидной железе осуществлялся через разрез кожи в области шеи длиной до 3 см. Обнажалась щитовидная железа, обе ее доли отпрепаровывались, после чего на артерии накладывались зажимы типа «Москит» и через 2 минуты наступал тромбоз щитовидных артерий. Далее с помощью ножниц доли отсекались. Рана послойно зашивалась.

Для подтверждения правильности выполнения методики удаленные препараты отправляли на срочное гистологическое исследование. В дальнейшем в динамике изучали концентрацию Т3, Т4 и ТТГ в периферической крови. Кислородзависимую биоцидность нейтрофилов оценивали с помощью спонтанного НСТ-теста (сНСТ-тест) в модификации Д. Н. Маянского. Результат выражали в процентах диформаза-положительных нейтрофилов от общего числа подсчитанных клеток. Для определения функционального резерва нейтрофилов использовали индуцированный НСТ-тест (зНСТ-тест). В среду инкубации дополнительно добавляли суспензию зимозана (конечное разведение 10 мкг/100 мкл). Результат выражали в процентах диформаза-положительных нейтрофилов на 100 нейтрофилов и в единицах индекса стимуляции, который рассчитывали отношением значений зНСТ-теста к сНСТ-тесту. Об интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) *in vivo* судили по параллельному определению концентраций гидроперекисей липидов (диеновых конъюгат, ДК) и одного из вторичных продуктов

липопероксидации – малонового диальдегида (МДА). Антиоксидантную активность неферментного компонента антиоксидантной системы α -токоферола проводили с помощью фотометрирования хромогенного комплексного соединения Fe^{2+} , образующегося при взаимодействии α -токоферола с $FeCl_3$ и ортофенотролина. Антиоксидантную активность, обусловленную наличием ферментативных систем обезвреживания перекисей и свободных радикалов, определяли по уровню активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы.

В качестве контроля использовались интактные крысы (№10).

Статистическую обработку выполняли с помощью пакета программ Statistica 6.0. Для проверки распределения данных на нормальность использовали тест Шапиро-Уилка (W), для небольшой выборки ($n < 30$). Для выявления существенных различий между средними значениями различных совокупностей сопоставимых групп применяли парный критерий Стьюдента для независимых выборок, данные считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Для функционального подтверждения корректности проведения тиреоидэктомии были выполнены исследования содержания тиреоидных гормонов в периферической крови у крыс экспериментальной группы (Табл.1). Выявлено снижение концентрации Т3 с $1,85 \pm 0,15$ до $1,1 \pm 0,18$ нмоль/л ($p < 0,05$), и Т4 с $71,2 \pm 7,6$ до $13,1 \pm 1,3$ нмоль/л ($p < 0,001$) у тиреоидэктомированных животных по сравнению с интактными.

Таблица 1 - Показатели Т3, Т4 и ТТГ у крыс в норме и при гипотиреозе

Показатель	Т3, нмоль/л	Т4, нмоль/л	ТТГ, мМЕ/л
Интактные	$1,85 \pm 0,15$	$71,2 \pm 7,6$	$8,4 \pm 0,14$
Гипотиреоз	$1,1 \pm 0,18$	$13,1 \pm 1,3$	$15,2 \pm 2,2$

Снижение содержания тиреоидных гормонов в крови экспериментальной группы животных закономерно сопровождается практически двукратным увеличением концентрации ТТГ с $8,4 \pm 0,14$ до $15,2 \pm 2,2$ мМЕ/л при $t=6,5$; $p < 0,001$. Полученные нами данные, в целом, согласуются с данными литературы [6]. Таким образом, изменение гормонального статуса у крыс после тиреоидэктомии соответствуют клиническому протеканию гипотиреоза и может служить критерием, показывающим правильность выполнения хирургического вмешательства.

Формирование гипотиреоидного статуса у экспериментальной группы крыс (табл.2), сопровождалось значительным повышением интенсивности процессов перекисного окисления липидов. Так, ДК увеличился с $1,56 \pm 0,21$ до $8,46 \pm 0,74$ Е/мл при $p < 0,001$; МДА с $5,36 \pm 0,15$ до $8,33 \pm 0,11$ мкмоль/г при $p < 0,001$. В свою очередь, параллельно происходило снижение активности антиоксидантных ферментов - СОД снизилась с $0,12 \pm 0,15$ до $0,03 \pm 0,004$ Е/мг

при $p < 0,001$; активность каталазы снизилась с $28,7 \pm 1,8$ до $19,6 \pm 1,5$ мкат/л при $p < 0,05$; α -токоферол с $3,25 \pm 0,29$ до $2,02 \pm 0,11$ мкмоль/л при $p < 0,01$; восстановленный глутатион с $9,6 \pm 0,15$ до $6,67 \pm 0,22$ мг% при $p < 0,001$.

Таблица 2 - Показатели окисидантно-антиоксидантной системы у крыс в норме и при гипотиреозе

Показатель	ДК, Е/мл	МДА, мкмоль/г белка	СОД, Е/мг белка	Каталаза, мкат/л	Альфа-токоферол, мкмоль/л	Глутатион в гемолизате эритроцитов, мг%
Интактные	$1,56 \pm 0,21$	$5,36 \pm 0,15$	$0,12 \pm 0,005$	$28,7 \pm 1,8$	$3,25 \pm 0,29$	$9,6 \pm 0,15$
Гипотиреоз	$8,46 \pm 0,74$ *	$3,33 \pm 0,11$ *	$0,03 \pm 0,004$ *	$19,6 \pm 1,5$ *	$2,02 \pm 0,11$ *	$6,67 \pm 0,22$ *

Примечание. * - разница между исходным и исследуемым показателем достоверна ($p < 0,05$).

Иначе говоря, развитие гипотиреоидного статуса сопряжено с процессами расходования резервов антиоксидантной системы, которое происходит на фоне вторичной активации перекисного окисления липидов [4,5]. При этом значительно повышаются маркеры эндогенной интоксикации. Так, например, МСМ повысились с $0,21 \pm 0,01$ до $0,36 \pm 0,03$ Е/мл при $p < 0,01$ (табл.3).

Таблица 3 - Показатели НСТ-тесты и МСМ у крыс в норме и при гипотиреозе

Показатель	сНСТ-тест	зНСТ-тест	Индекс стимуляции	МСМ, Е/мл
Интактные	$13,87 \pm 1,35$	$25,92 \pm 2,44$	$1,8 \pm 0,08$	$0,21 \pm 0,01$
Гипотиреоз	$17,9 \pm 2,97$ *	$28,43 \pm 1,97$	$1,59 \pm 0,09$ *	$0,36 \pm 0,03$ *

Примечание. * - разница между исходным и исследуемым показателем достоверна ($p < 0,05$).

Развитие гипотиреоза сопровождалось увеличением содержания активных нейтрофилов в периферической крови. Так показатели сНСТ-теста повысились с $13,87 \pm 0,35$ до $17,9 \pm 2,97$ ($p < 0,05$). В меньшей степени изменился показатель индуцированного НСТ-теста ($p < 0,05$), при этом индекс стимуляции снизился с $1,8 \pm 0,08$ до $1,59 \pm 0,09$ ($p < 0,05$), что, возможно, связано со снижением функционального резерва нейтрофилов.

Выводы. Метаболические изменения в организме при гипотиреозе, приводят к дистрофическим нарушениям, сопровождающимся общей дисфункцией. Развивается снижение функциональных резервов

кислородзависимой биоцидности нейтрофилов, на фоне повышения метаболических оксидативных процессов (ДК, МДА), сопровождающийся снижением уровня глутатиона. Формируются процессы эндотоксикоза, сопровождающиеся повышением МСМ. Все вышеперечисленные процессы происходят на фоне повышения концентрации ТТГ и снижения ТЗ, Т4.

Литература

1. Оськина И.Н. Изменения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и иммунной систем при отборе животных на доместикационное поведение / Оськина И.Н., Гербек Ю.Э., Шихевич С.Г. и др. // Вестник ВОГиС. – 2008. – Т.12, №1 — С. 39–49.
2. Chandel A.S. Immunomodulatory role of thyroid hormones: effect on humoral immune response to *Salmonella typhi* antigen, Indian / A.S. Chandel, S. Chatterjee // J. Exp. Biol. – 1989. – Vol. 27. – P. 1013–1016.
3. Гринь В.К. Патологические аспекты сократительной функции сердца после различных вариантов клеточной кардиомиопластики при инфаркте миокарда в эксперименте / В.К. Гринь, В.Ю.Михайличенко, В.А. Коноплянко // Вестник неотложной и восстановительной медицины. -2009.-Т.10.-№4.-С.464-468.
4. Вохминцева Л.В. Кислородзависимая биоцидность нейтрофилов у крыс с воспалением в пародонте, протекающим на фоне гипотиреоза / Л.В. Вохминцева, С.С. Рымарь // Вестник ВолГМУ. -2009.-Вып.3.-С.63-66.
5. Шакенов Д.И. Динамика морфологических изменений, показателей антиоксидантной защиты и активности процессов перекисного окисления липидов при экспериментальном гипотиреозе / Д.И. Шакенов, Г.И. Яковенко, А.Д. Шакенов [и др.] // Вестник Южно-казахстанской медицинской академии. – Шымкент, 2005. – №3. – С. 74–76.
6. Ю.Я. Крюк. Особенности проявления оксидативного стресса при гипотиреозе разной степени тяжести в эксперименте / Ю.Я. Крюк, А.В. Махнева, С.Е. Золотухин, Д.С. Битюков // Патологія – 2011.- Т.8, №2. - С.62-65.