

СТАН ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ КРОВІ Й ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГІПОТИРЕОЗІ

О.А. Оленович, М.Д. Перепелюк

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Досліджено особливості процесів пероксидного окиснення ліпідів, пероксидної модифікації білків та стан системи антиоксидантного захисту крові й щитоподібної залози за умов експериментального гіпотиреозу. Встановлено, що при мерказоліловому гіпотиреозі підвищення рівня малонового діальдегіду в плазмі крові зумовлене пригніченням активності глутатіонпероксидази і каталази та недостатньою протирадикальною ємністю церулоплазміну. Дефіцит антиоксидантних систем на клітинному рівні проявляється накопиченням вторинних продуктів ліпопероксидації в еритроцитах. У тканині щитоподібної залози ліпопероксидація компенсована підвищенням активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази, однак пероксидна модифікація білків набуває максимальної інтенсивності.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпотиреоз, пероксидне окиснення ліпідів, пероксидна модифікація білків, антиоксидантний захист.

ВСТУП. Тривожна тенденція збільшення частоти випадків гіпотиреозу [1] обґрунтовує доцільність проведення експериментальних досліджень для деталізації механізмів захворювання, вимагає подальшого вивчення впливу дефіциту тиреоїдних гормонів, які займають ключові позиції у цілому ряді метаболічних процесів, на стан багатьох органів та обмінних процесів в організмі.

Поліпотентний вплив і універсальність біологічних ефектів гормонів щитоподібної залози (ЩЗ) визначають існування певного зв'язку між рівнем тиреоїдних гормонів в організмі й процесами вільнорадикального окиснення (ВРО), пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та пероксидної модифікації білків (ПМБ), утворення активних форм кисню (АФК) – процесами, котрі виконують чисельні регуляторні функції і, водночас, є неспецифічними маркерами патологічного стану внутрішніх органів. Наявні дані щодо впливу дефіциту тиреоїдних гормонів на зазначені процеси часто не однозначні й суперечливі, причому це стосується як клінічних, так і експериментальних досліджень. Гіпер- та дисліпопротеїнемії, виявлені у хворих на гіпотиреоз [1], призводять до підвищення концентрації субстрату окиснення і створюють передумови для інтенсифікації реакцій ПОЛ, чому сприяє дисбаланс в антиоксидантній системі (АОС) організму. Разом із тим, існують

відомості як про гальмування процесу ПОЛ та зростання активності деяких ферментів антиоксидантної системи у гомогенатах печінки, серця, бурій жировій тканині за умов дефіциту тиреоїдних гормонів *in vivo*, так і про підвищення інтенсивності ПОЛ та зниження активності системи антиоксидантного захисту (АОЗ) в сироватці крові й нервовій тканині ссавців, як це встановлено при гіпертиреозі [11].

Припущення О.В. Сомової [11] стосовно того, що за умов надлишку або дефіциту тиреоїдних гормонів мобілізуються різні механізми їх дії на процеси ПОЛ та стан системи АОЗ, визначило мету нашого дослідження – вивчити особливості процесів ПОЛ, ПМБ і стан системи АОЗ крові та ЩЗ при експериментальному гіпотиреозі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 28 статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях, яких утримували в стандартних умовах віварію. Експериментальний гіпотиреоз моделювали шляхом внутрішньошлункового введення 18 тваринам мерказолілу в дозі 10 мг/кг маси тіла [8]. Через 14 днів від початку формування патології проводили евтаназію експериментальних тварин і тварин контрольної групи (10) шляхом декапітації під легкою ефірною анестезією. Об'єктами дослідження у щурів були плазма крові, еритроцити і тканина ЩЗ, яка безпосередньо відповідала за перебіг

© О.А. Оленович, М.Д. Перепелюк, 2007.

процесів, що вивчались. Кров стабілізували гепарином, центрифугували 15 хв при 3000 об./хв, відокремлювали плазму від формених елементів. Суспензію еритроцитів отримували шляхом триразового промивання фізіологічним розчином натрію хлориду в співвідношенні 1:10. Тканину ЦЗ забирали одразу після декапітації щурів, відмивали від домішок крові й гомогенізували для подальшого аналізу.

Стан ПОЛ оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) [12] та дієнових кон'югат (ДК) [2], системи АОЗ – за рівнем супероксиддисмутази (СОД) [13], каталази (КТ) [6], глутатіонпероксидази (ГПО) [3], а також церулоплазміну (ЦП) [10], інтенсивність ПМБ – за рівнем динітрофенілгідрозонів (ДФГ) [5, 7].

Одержані дані опрацьовували методами варіаційного статистичного аналізу з визначенням критерію Стьюдента [4].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать дані таблиці 1, у гіпотиреоїдних щурів вміст МДА у плазмі крові перевищував контроль на 23,0 %, тоді як рівень ДК, навпаки, був на 26,3 % меншим за відповідний показник у тварин контрольної групи. Водночас спостерігалось зниження активності ГПО на 46,3 % при майже дворазовому зменшенні активності КТ. Разом з тим, активність СОД значно збільшувалася (на 96,2 %), а рівень ЦП у плазмі практично не змінювався. Таким чином, у гіпотиреоїдних

тварин послабилась друга ланка ферментативного протирадикального захисту внаслідок глибокого пригнічення глутатіонпероксидазної і каталазної реакцій та недостатності протирадикальної ємності основного антиоксиданта плазми крові – ЦП. Неспроможність АОС на початкових етапах патологічного процесу призводила до підвищення плазматичного вмісту вторинних продуктів ПОЛ. Навіть компенсаторної активації СОД недостатньо для гальмування надмірного підвищення рівня ПОЛ.

На клітинному рівні при експериментальному гіпотиреозі також спостерігався зрив компенсаторної діяльності антиоксидантних ферментів: при збільшенні вмісту в еритроцитах МДА на 60,9 % активність такого індукцйбельного ферменту, як КТ, достовірно не змінювалась (табл. 2).

У тканині щитоподібної залози гіпотиреоїдних щурів достовірних змін вмісту МДА та ДК не спостерігалось (табл. 3). Однак підвищення активності протирадикальних ферментів СОД та ГПО (відповідно, на 67,6 та 41,7 %) є непрямою ознакою інтенсифікації процесів утворення вільних радикалів кисню, особливо у поєднанні з різким збільшенням тканинного вмісту похідних ПМБ: рівень нейтральних ДФГ зростає у 2,4 раза при чотириразовому підвищенні вмісту ДФГ основного характеру.

Узагальнюючи результати вивчення показників прооксидантно-антиоксидантного гомео-

Таблиця 1 – Характеристика змін пероксидного окиснення ліпідів та активності ферментів протирадикального захисту в плазмі крові щурів з експериментальним гіпотиреозом ($X \pm Sx$)

Показник	Група, кількість тварин	
	Контроль, n=10	Гіпотиреоз, n=18
Малоновий діальдегід, нмоль/мг білка	0,87±0,02	1,07±0,03 p<0,001
Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка	1,37±0,04	1,01±0,01 p<0,001
Супероксиддисмутаза, од./хв/мг білка	0,52±0,03	1,02±0,07 p<0,001
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH/хв/мг білка	0,41±0,04	0,22±0,02 p<0,001
Каталаза, мкмоль/хв/мг білка	24,30±0,99	13,03±0,66 p<0,001
Церулоплазмін, ΔЕ/г білка	82,37±1,27	89,11±2,23 p<0,05

Примітка. Тут і в наступних таблицях: p – ступінь вірогідності відмінностей показників відносно контролю; n – кількість тварин.

Таблиця 2 – Характеристика змін вмісту малонового діальдегіду й активності каталази в еритроцитах щурів з експериментальним гіпотиреозом ($X \pm Sx$)

Показник	Група, кількість тварин	
	Контроль, n=10	Гіпотиреоз, n=18
Малоновий діальдегід, мкмоль/мл еритроцитів	9,59±0,36	15,43±0,52 p<0,001
Каталаза, мкмоль/мл еритроцитів на 1 хв	165,68±6,11	171,57±2,36 p>0,3

Таблиця 3 – Характеристика змін пероксидного окиснення ліпідів і білків та активності ферментів протирадикального захисту в тканині щитоподібної залози щурів з експериментальним гіпотиреозом ($X \pm Sx$)

Показник	Група, кількість тварин	
	Контроль, n=8	Гіпотиреоз, n=18
Малоновий діальдегід, нмоль/мг білка	1,46±0,05	1,33±0,07 p>0,2
Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка	3,15±0,14	3,40±0,20 p>0,4
Супероксиддисмутаза, од./хв/мг білка	0,68±0,05	1,14±0,08 p<0,01
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH/хв/мг білка	1,32±0,09	1,87±0,13 p<0,02
Динітрофенілгідрозони нейтральні, ммоль/г білка, 370 нм	3,24±0,33	7,93±0,48 p<0,001
Динітрофенілгідрозони основні, о.о.г./г білка, 430 нм	12,80±1,01	52,10±2,98 p<0,001

стазу у тварин з експериментальним гіпотиреозом, варто зазначити, що у разі нестачі тиреоїдних гормонів накопичення продуктів ПОЛ у плазмі крові, ймовірно, пов'язане з декомпенсованими змінами плазмових факторів другої лінії ферментативного протирадикального захисту на тлі сповільнення перетворення та утилізації продуктів і субстратів ВРО [11]. Отримані нами дані узгоджуються з результатами інших дослідників [9, 11]. Дефіцит антиоксидантних систем на клітинному рівні проявляється накопиченням вторинних продуктів ліпопероксидації в еритроцитах. У тканині ЩЗ висока антиоксидантна активність (СОД та ГПО) стримує і компенсує вільнорадикальні процеси, однак втрата специфічності субстратів окиснення спричиняє залучення до реакцій оксидативного стресу не лише ліпідів, а й білків, на що вказує максимальна інтенсивність ПМБ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аметов А.С., Белоножкіна Е.С., Павлюченко І.І. і др. Про- і антиоксидантна система у больных гіпотиреозом и ее изменения под влиянием препаратов липоевой кислоты // Пробл. эндокринол. – 2007. – 53, № 2. – С. 49-54.
2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.І. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперексидов липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-36.
3. Геруш І.В., Мецишен І.Ф. Стан глутатіонової системи за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настойки ехінацеї пурпурової // Вісник проблем біології і медицини. – 1998. – № 7. – С. 10-15.
4. Гланц С. Медико-биологическая статисти-

Отже, дефіцит тиреоїдних гормонів при гіпотиреозі може слугувати одним з факторів ініціації неконтрольованих процесів ВРО, що на тлі виснаження резервної потужності антиоксидантних ферментів погіршує перебіг даної патології. З іншого боку, накопичення продуктів ПОЛ і ПМБ, які чинять необоротну токсичну дію, негативно впливає на функціонування тироцитів.

ВИСНОВКИ. 1. Експериментальний гіпотиреоз у щурів викликає істотні зміни у прооксидантно-антиоксидантному балансі крові та ЩЗ зі значним переважанням першої ланки.

2. Зрив компенсаторної діяльності антиоксидантних ферментів, їх недостатня протирадикальна ємність зумовлюють накопичення продуктів ПОЛ чи пероксидномодифікованих білків у плазмі крові, еритроцитах і тканині щитоподібної залози.

ка. – М.: Практика, 1999. – 459 с.

5. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А. и др. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопр. мед. химии. – 1995. – 41, № 1. – С. 24-26.
6. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
7. Мецишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Бук. мед. вісник. – 1998. – 2, № 1. – С. 156-158.
8. Пат. 2165648, МКИ G 09 B 23/28, А61К 31/4164. Способ моделирования гипотиреоза / Л.Г. Чугунова, А.Н. Рябков, К.В. Савилов (RU). – Опубл. 20.04.2001. – Бюл. № 7. – 2 с.

9. Ром-Бугославская Е.С., Сомова Е.В., Гринченко Т.С. и др. Перекисное окисление липидов у больных диффузным токсическим зобом и гипотиреозом // Лік. справа. – 1998. – № 1. – С. 88-91.

10. Санина О.Л., Бердинских Н.К. Биологическая роль церулоплазмينا и возможности его клинического применения (обзор литературы) // Вопр. мед. химии. – 1986. – 32, вып. 5. – С. 7-14.

11. Сомова О.В. Взаємозв'язок тиреоїдного стану організму та процесів пероксидного окислення

ліпідів: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Харків, 1999. – 11 с.

12. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

13. Чевари С., Чаба И., Секкей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения её в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.

СОСТОЯНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ КРОВИ И ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОТИРЕОЗЕ

О.А. Оленович, М.Д. Перепелюк
БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Исследованы особенности процессов пероксидного окисления липидов, пероксидной модификации белков и состояние системы антиоксидантной защиты крови и щитовидной железы в условиях экспериментального гипотиреоза. Установлено, что при мерказолиловом гипотиреозе повышение уровня малонового диальдегида в плазме крови обусловлено угнетением активности глутатионпероксидазы и каталазы и недостаточной противорадикальной емкостью церулоплазмينا. Дефицит антиоксидантных систем на клеточном уровне проявляется накоплением вторичных продуктов липопероксидации в эритроцитах. В ткани щитовидной железы липопероксидация компенсирована повышением активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, однако перекисная модификация белков приобретает максимальную интенсивность.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипотиреоз, пероксидное окисление липидов, пероксидная модификация белков, антиоксидантная защита.

THE STATE OF OXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE SYSTEM OF BLOOD AND THYROID GLAND IN CASE OF EXPERIMENTAL HYPOTHYROIDISM

O.A. Olenovych, M.D. Perepelyuk
BUCOVINIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The peculiarities of lipid peroxidation, peroxide protein modification processes and the state of antioxidative defence system of blood and thyroid gland were investigated in experimental hypothyroidism. It was established that in case of mercasolil-induced hypothyroidism the increased malone dialdehyde rate in blood plasma was stipulated by the inhibition of glutathion peroxidase and katalase activity and by low antiradical ceruloplasmin capacity. The deficiency of antioxidative systems on the cellular level was revealed by the accumulation of secondary products of lipoperoxidation in erythrocytes. In thyroid tissue lipoperoxidation was compensated by the increase of superoxide dismutase and glutathion peroxidase activity, but peroxide protein modification was maximally intensive.

KEY WORDS: hypothyroidism, lipid peroxidation, peroxide protein modification, antioxidative defence.

Отримано 26.10.2007 р.

Адреса для листування: О.А. Оленович, Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна.