

ОСОБЛИВОСТІ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ В ЩУРІВ З ГАЛАКТОЗАМІНОВИМ ГЕПАТИТОМ НА ТЛІ МЕРКАЗОЛІЛІНДУКОВАНОГО ГІПОТИРЕОЗУ

У статті наведено зміни показників маркерів ендогенної інтоксикації в щурів із токсичним ураженням печінки галактозаміном на тлі мерказоліліндукованого гіпотиреозу, а також досліджено зміни активності лізосомальних ферментів. Зроблено висновок про те, що за умов експериментального галактозамінового гепатиту на тлі гіпотиреозу пригнічується активність лізосомальних ферментів, які характеризуються змінами показників кислої фосфатази та катепсину D у гомогенаті печінки, а також підвищується рівень маркерів ендогенної інтоксикації, таких, як еритроцитарний індекс інтоксикації.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: галактозаміновий гепатит, гіпотиреоз, ендогенна інтоксикація, еритроцитарний індекс інтоксикації, кисла фосфатаза, катепсин D.

ВСТУП. В останні роки на території України спостерігають зростання тиреоїдної патології, яка серед ендокринних захворювань посідає друге місце після цукрового діабету [5]. Висока частота захворювань щитоподібної залози залежить від багатьох чинників, серед яких найвагомішими вважають припинення централізованої йодної профілактики, техногенне забруднення довкілля, негативні зміни структури харчування значної частини населення за інших соціально-економічних факторів [1].

При дефіциті тиреоїдних гормонів, які абсолютно необхідні для нормального функціонування практично кожної клітини, розвиваються тяжкі зміни всіх без винятку органів і систем, у тому числі гепатобіліарної системи.

Гормони щитоподібної залози регулюють рівень базального метаболізму всіх клітин, включаючи гепатоцити, що позначається на функціонуванні печінки, яка, у свою чергу, метаболізує тиреоїдні гормони, тим самим регулюючи їх системні ендокринні ефекти [1, 15]. Порушення функції щитоподібної залози можуть призводити до змін функцій печінки, а при захворюваннях печінки можуть виникати відхилення в метаболізмі тиреоїдних гормонів [8].

© О. Й. Зарічна, 2016.

Дані літератури також свідчать про те, що на тлі вторинної імунної недостатності при дисфункції щитоподібної залози ускладнюється перебіг інших патологічних процесів, при цьому ступінь вираження патологічного процесу залежить від тяжкості та тривалості гіпотиреозу [12].

Запальний процес, що виникає на тлі гіпотиреозу, характеризується зниженням активності клітин, що беруть участь у формуванні імунної відповіді організму.

Позаяк стан ендогенної інтоксикації залежить від змін катаболічних процесів в уражених тканинах [7], метою даної роботи стало дослідження впливу зниженої продукції тиреоїдних гормонів на стан ендогенної інтоксикації, а також зміну активності лізосомальних ферментів у тварин з токсичним ураженням.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на білих щурах-самцях масою 180–200 г, отриманих з віварію ТДМУ, відповідно до вимог Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин [10]. Тварини перебували на повноцінному раціоні віварію з вільним доступом до води. Гіпотиреоз моделювали шляхом щоденного введення *per os* за допомогою спеціального зонда фармакопейного тиреоста-

тика мерказолілу ("Здоров'я", Україна) в дозі 25 мг/кг протягом 21-ї доби [14]. Контроль здійснювали за рівнем тироксину, трийодтироніну і тиреотропного гормону, а також за масою тварин і їх руховою активністю. До групи порівняння входили щури, яким мерказоліл не вводили. Вплив гіпотиреозу на перебіг запального процесу при гепатиті вивчали на моделі галактозамінового гепатиту, який викликали шляхом внутрішньочеревного введення піддослідним тваринам галактозаміну в дозі 400 мг/кг у вигляді 20 % розчину [2]. Через 1 і 7 діб після моделювання гепатиту щурів декапітували під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). До груп порівняння входили тварини з експериментальним гіпотиреозом і щури з токсичним галактозаміновим гепатитом. Контролем слугував матеріал від інтактних тварин.

У сироватці крові тварин визначали ступінь вираження ендогенної інтоксикації за рахунок еритроцитарного індексу інтоксикації (EII) [3], в гомогенаті печінки – активність лізосомальних ферментів (катепсину D та лужної фосфатази).

Для приготування гомогенату печінки її тканини розтирали за допомогою гомогенізатора при температурі 4 °C і суспендували в 9 об'ємах 0,25 M розчину цукрози з 0,001 M етилендіамінтетраоцтовою кислотою (pH 7,4). Сполучнотканинні елементи, які залишились у середовищі, видаляли шляхом центрифугування (1000 об./хв протягом 3 хв) при охолодженні. Надосадову частину гомогенату використовували для визначення активності ферментів.

У гомогенаті печінки за методом Данга [4] в модифікації [11] визначали активність катепсину D, а за методом Bodansky [13] з використанням набору реагентів "Hospitex Diagnostix" – активність кислої фосфатази.

Отримані цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики. Обробку результатів виконано у відділі системних статистичних до-

сліджень. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента, в інших випадках – за допомогою U-критерію Манна–Уїтні. Аналіз кореляційних зв'язків отриманих результатів проводили з використанням критерію Спірмена [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За результатами ряду досліджень, основним токсичним субстратом, відповідальним за виникнення стадії ендотоксикозу, є продукти неповного розпаду і неферментного перетворення білків крові та тканин, а також клітинна дезорганізація. Також відомо про доступність для досліджень плазматичних мембран, а саме еритроцитарної мембрани [9].

Тест проникності еритроцитарних мембран є одним із критеріїв впливу токсичних агентів на плазматичну мембрану, оскільки всередині еритроцита відсутні органели. Порушення цілісності еритроцитарної мембрани, а також зміни властивостей поверхні ліпідного бішару та конформації білків під впливом токсичних речовин змінюють функціональну здатність еритроцитів зв'язувати різні сполуки, яка лежить в основі визначення EII.

Як свідчать результати даного дослідження, наведені в таблиці 1, модельований галактозаміновий гепатит по-різному впливав на EII у тварин як зі збереженою, так і зі зниженою функцією щитоподібної залози.

Навіть у щурів групи порівняння, в яких викликали гіпотиреоз без модельованого гепатиту, було помічено збільшення EII в 1,3 раза.

На 1-шу добу експерименту в еутиреоїдних тварин з галактозаміновим гепатитом EII становив 154,4 %, поступово знижуючись до 8-ї доби

Таблиця 1 – Показники ендогенної інтоксикації у тварин із гострим гепатитом на тлі гіпотиреозу (M±m)

Показник	Група тварин					
	інтактні тварини (n=6)	гіпотиреоз (n=6)	галактозаміновий гепатит		гепатит+гіпотиреоз	
			1-ша доба (n=6)	8-ма доба (n=6)	1-ша доба (n=6)	8-ма доба (n=6)
EII, %	29,23±0,79	37,05±0,57 p<0,05	45,13±1,07 p<0,001 p ₁ <0,001	39,91±1,12 p<0,001 p ₂ <0,05	52,76±1,07 p<0,01 p ₁ <0,05 p ₃ <0,001	50,88±0,83 p<0,001 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05 p ₃ <0,001

Примітки. Тут і в таблиці 2:

1. p – достовірність різниці тварин дослідних груп відносно інтактних щурів.

2. p₁ – достовірність різниці тварин дослідних груп відносно гіпотиреоїдних щурів.

3. p₂ – достовірність різниці показників у відповідні доби дослідження в межах однієї експериментальної моделі.

4. p₃ – достовірність різниці еутиреоїдних і гіпотиреоїдних тварин із гострим гепатитом у відповідні доби дослідження.

на рівні 136,5 % порівняно з показниками контрольної групи.

Гіпотиреоїдний стан спричинив більш значне зростання ЕІІ після моделювання галактозамінового гепатиту, і на 1-шу добу експерименту він становив 180,5 %, поступово зменшуючись до 8-ї доби на рівні 174,1 % від рівня здорових тварин, що значно перевищувало показники як інтактних, так і еутиреоїдних щурів із токсичним гепатитом.

З огляду на це, зниження вироблення тиреоїдних гормонів призводило до посилення ендогенної інтоксикації.

Також було встановлено, що на тлі зниженої продукції тиреоїдних гормонів катаболічні процеси суттєво порушувалися. Ці порушення виявили при дослідженні активності лізосомальних ферментів – катепсину D та лужної фосфатази в гомогенаті тканин печінки (табл. 2).

У щурів групи порівняння, в яких викликали гіпотиреоз без модельованого гепатиту, було помічено зменшення активності катепсину D в 1,2 раза.

На 1-шу добу експерименту в еутиреоїдних тварин з галактозаміновим гепатитом катепсин D становив 179,4 %, значно знижуючись до 8-ї доби

на рівні 142,2 % порівняно з показниками контрольної групи.

Гіпотиреоїдний стан спричинив зростання катепсину D після моделювання галактозамінового гепатиту, і на 1-шу добу експерименту він становив 139,7 %, значно зменшуючись до 8-ї доби на рівні 127,9 % від рівня здорових тварин, що значно перевищувало показники як інтактних, так і еутиреоїдних щурів із токсичним гепатитом.

Підвищення показників катепсину D на 1-шу добу експерименту можна пояснити міграцією нейтрофілів у вогнище ураження.

Подібні зміни відбувалися і з показниками лужної фосфатази. На 1-шу добу експерименту в еутиреоїдних тварин з галактозаміновим гепатитом лужна фосфатаза становила 167,43 %, значно знижуючись до 8-ї доби на рівні 136,2 % порівняно з показниками контрольної групи.

Однак у результаті галактозамінового гепатиту на тлі гіпотиреозу було відмічено значно меншу зміну активності лужної фосфатази. На 1-шу добу експерименту показник становив 118,6 %, знижуючись до 8-ї доби на рівні 110,9 % від рівня здорових тварин, що так чи інакше перевищувало показники інтактних і еутиреоїдних щурів із токсичним гепатитом.

Таблиця 2 – Показники активності лізосомальних ферментів у гомогенаті тканин печінки щурів із гострим гепатитом на тлі гіпотиреозу (M±m)

Показник	Група тварин					
	інтактні тварини (n=6)	гіпотиреоз, (n=10)	галактозаміновий гепатит		гепатит+гіпотиреоз	
			1-ша доба (n=10)	8-ма доба (n=10)	1-ша доба (n=10)	8-ма доба (n=10)
Катепсин D, мкМ/(мг білка·год)	0,204±0,006	0,176±0,006 p<0,05	0,366±0,077 p<0,001 p ₁ <0,001	0,290±0,002 p<0,001 p ₂ <0,05	0,285±0,079 p<0,01 p ₁ <0,05 p ₃ <0,001	0,261±0,009 p<0,001 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05 p ₃ <0,001
Лужна фосфатаза, мкМ/(мг білка·год)	26,83±0,89	24,52±0,86 p<0,05	44,89±1,32 p<0,001 p ₁ <0,001	36,53±0,81 p<0,001 p ₂ <0,05	31,81±0,99 p<0,01 p ₁ <0,05 p ₃ <0,001	29,75±1,18 p<0,001 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05 p ₃ <0,001

ВИСНОВКИ. 1. За умов експериментально-го галактозамінового гепатиту на тлі гіпотиреозу синдром ендогенної інтоксикації виражений значно більше, ніж в еутиреоїдних тварин, про що свідчить достовірне зростання еритроцитарного індексу інтоксикації.

2. Зниження показників тиреоїдних гормонів супроводжується пригніченням лізосомального

апарату клітин, які характеризуються змінами показників кислотної фосфатази та катепсину D у гомогенаті печінки, як у непошкодженій, так і в пошкодженій тканинах.

Перспективи подальших досліджень. Заплановано вивчити вплив засобів корекції на показники ендогенної інтоксикації в щурів з галактозаміновим гепатитом на тлі мерказоліліндуваного гіпотиреозу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аметов А. С. Гипотиреоз / А. С. Аметов, А. М. Грабовська-Цветкова // Клініч. фармакологія і терапія. – 2007. – № 1. – С. 24–28.
2. Венгеровский А. И. Метаболизм липидов и функциональное состояние печени при интоксикации D-галактозамином у крыс / А. И. Венгеровский, А. С. Саратиков // Пат. физиол. и эксперим. тер. – 1988. – № 3. – С. 52–55.
3. Габриэлян Н. И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей / Н. И. Габриэлян, В. И. Липанова // Лаб. дело. – 1984. – № 3. – С. 138–140.
4. Дингл Дж. Методы исследования / Дж. Дингл. – М. : Мир, 1980. – 344 с.
5. Кравченко В. І. Динаміка захворюваності на патологію щитоподібної залози в Україні / В. І. Кравченко, С. В. Постол // Междунар. эндокринолог. журн. – 2011. – № 3 (35). – С. 56–59.
6. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2000. – 320 с.
7. Леонтьева Е. А. Влияние лизосомотропных соединений на функциональную активность лизосомального аппарата клетки : автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. биол. наук / Е. А. Леонтьева. – СПб., 2003. – 26 с.
8. Макар Р. Д. Гіпотиреоз: концептуальні аспекти кризи призму часу / Р. Д. Макар, М. В. Сандурська // Міжнар. ендокринолог. журн. – 2009. – № 1. – С. 124–131.
9. Метод определения эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Куркузкин, И. В. Рикун, Р. М. Рибжанова // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.
10. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
11. Подунай Ю. А. Возрастная динамика активности катепсинов и содержания среднемoleкулярных пептидов в мышцах морского ерша / Ю. А. Подунай, И. Н. Залевская, И. И. Руднева // Ученые записки Таврического нац. ун-та им. В. И. Вернадского. Серия "Биология, химия". – 2009. – 22 (61), № 4. – С. 128–134.
12. Тимченко А. М. Динаміка розповсюдження тиреоїдної патології серед населення в регіонах з різним ступенем йодного дефіциту та напрямки профілактики / А. М. Тимченко, К. В. Місюра // Междунар. ендокринолог. журн. – 2007. – № 3 (9). – С. 32–35.
13. Bodansky O. Acid phosphatase / O. Bodansky // Adv. Clin. Chem. – 1972. – 15. – P. 143–147.
14. Isman C. A. Methimazole-induced hypothyroidism in rats ameliorates oxidative injury in experimental colitis / C. A. Isman, B. C. Yegen, I. Alican // J. Endocrinol. – 2003. – 177, № 3. – P. 471–476.
15. Serum TSH, T(4) and thyroid antibodies in the United States population / J. G. Hollowell, N. W. Staehling, W. D. Flanders [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2002. – 87. – P. 489–499.

О. И. Заричная

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ОСОБЕННОСТИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС С ГАЛАКТОЗАМИНОВЫМ ГЕПАТИТОМ НА ФОНЕ МЕРКАЗОЛИЛИНДУЦИРОВАННОГО ГИПОТИРЕОЗА

Резюме

В статье представлены изменения показателей маркеров эндогенной интоксикации у крыс с токсическим поражением печени галактозамином на фоне мерказолилиндуцированного гипотиреоза, а также исследованы изменения активности лизосомальных ферментов. Сделан вывод о том, что в условиях экспериментального галактозаминного гепатита на фоне гипотиреоза подавляется активность лизосомальных ферментов, которые характеризуются изменениями показателей кислой фосфатазы и катепсина D в гомогенате печени, а также повышается уровень маркеров эндогенной интоксикации, таких, как эритроцитарный индекс интоксикации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: галактозаминный гепатит, гипотиреоз, эндогенная интоксикация, эритроцитарный индекс интоксикации, кислая фосфатаза, катепсин D.

FEATURES OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN RATS WITH GALACTOSAMINED HEPATITIS ON THE BACKGROUND OF MERKAZOLIL-INDUCED HYPOTHYROIDISM

Summary

In the article the changes of markers of endogenous intoxication in rats with liver toxicity on the background of merkazolil galactosamine-induced hypothyroidism, and investigated changes in the activity of lysosomal enzymes. It is concluded that under the experimental galactosamined hepatitis against the background of hypothyroidism is inhibition of lysosomal enzymes, which are characterized by changes in indicators of acid phosphatase and cathepsin D in liver homogenate and enhance markers of endogenous intoxication such as erythrocytic index of intoxication.

KEY WORDS: galactosamined hepatitis, hypothyroidism, endogenous intoxication, intoxication erythrocytic index, acid phosphatase, cathepsin D.

Отримано 05.10.16

Адреса для листування: О. Й. Зарічна, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: zarichnaoi@tdmu.edu.ua.