

УДК 612.17.015.3:616.441-008.64-08]:612.6.03

©О. І. Терлецька, О. Г. Мисаковець, О. І. Чупашко

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

ЗМІНИ БІОМАРКЕРІВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ, ІНДУКОВАНОГО ГІПОТИРЕОЇДНОЮ ДИСФУНКЦІЄЮ, ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ МЕТОДОМ ІНТЕРВАЛЬНОГО ГІПОКСИЧНОГО ТРЕНУВАННЯ

ЗМІНИ БІОМАРКЕРІВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ, ІНДУКОВАНОГО ГІПОТИРЕОЇДНОЮ ДИСФУНКЦІЄЮ, ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ МЕТОДОМ ІНТЕРВАЛЬНОГО ГІПОКСИЧНОГО ТРЕНУВАННЯ – У статті наведено дані результатів досліджень параметрів вільнорадикальних пероксидних реакцій у порівняльній взаємодії з ферментним компонентом системи антиоксидантного захисту в крові, тканинах міокарда та печінки тварин з експериментально модельованим гіпотиреозом. Показано односпрямований характер змін у системі пероксидне окиснення – антиоксидантний захист у всіх досліджуваних середовищах та позитивний коригуючий ефект застосування інтервального гіпоксичного тренування щодо аналізованих параметрів.

ИЗМЕНЕНИЯ БИОМАРКЕРОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА, ИНДУЦИРОВАННОГО ГИПОТИРЕОИДНОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ, И КОРЕКЦИЯ ИХ МЕТОДОМ ИНТЕРВАЛЬНОЙ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ТРЕНИРОВКИ – В статье приведены данные результатов исследования параметров свободнорадикальных пероксидных реакций в сравнительном взаимодействии с ферментным компонентом системы антиоксидантной защиты в крови, тканях миокарда и печени животных с экспериментально моделированным гипотиреозом. Показан односторонний характер изменений в системе пероксидное окисление – антиоксидантная защита у всех исследуемых средах, а также положительный корригирующий эффект использования интервальной гипоксической тренировки касательно анализируемых параметров.

OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN MILD HYPOTHYROID DYSFUNCTION, CORRECTED BY INTERMITTENT HYPOXIC TRAINING – The article presents parameters of free radical peroxide reactions which were investigated in comparative interaction with enzymatic antioxidant defense. The researches were conducted in rat blood, myocardium and liver tissues under condition of experimental hypothyroidism. The similar metabolic profile of changes was shown in all investigated media, and positive corrective effect of IHT was proved as well.

Ключові слова: оксидативний стрес, субклінічний гіпотиреоз, міокард, печінка, інтервальне гіпоксичне тренування.

Ключевые слова: оксидативный стресс, субклинический гипотиреоз, миокард, печень, интервальная гипоксическая тренировка.

Key words: oxidative stress, subclinical hypothyroidism, myocardium, liver, intermittent hypoxic training.

ВСТУП Симптоматична поліморфність донозологічних форм гіпотиреозу, імітація низки захворювань нетиреοїдного генезу, зазвичай, спричиняють труднощі у діагностичному пошуку, призводячи до хибної лікувальної тактики. Діагноз неманіфестних форм гіпофункції здебільшого є несвоєчасним, оскільки на етапі доклінічного розвитку – симптоматична картина є вкрай неспецифічна. Згідно з сучасними уявленнями, оксидативний стрес є універсальним домінуючим медіатором у патогенезі захворювань, зокрема відомо, що його прояви супроводжують навіть ранні форми гіпотиреозу [1, 2]. Надлишкове утворення реактивних форм кисню або ж зниження антиоксидантного резерву, формуючи прооксидантний дисбаланс, модулюють системи внутрішньоклітинних сигнальних трансмісій, призводять до руйнування

біомембран та альтеративних змін білкової структури та функції [1, 3]. Відповідно, метою даного дослідження було з'ясувати детальні механізми впливу латентного дефіциту тиреοїдних гормонів на хід вільнорадикальних перетворень з урахуванням їх специфіки у крові, гомогенатах серця та печінки при експериментальному гіпотиреозі, а також довести можливість корекції змін інтервальним гіпоксичним тренуванням (ІГТ).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження проводили на статевозрілих білих щурах-самцях масою 180–220 г відповідно до міжнародних вимог щодо гуманного ставлення до тварин. Експериментальний гіпотиреоз моделювали методом, запропонованим Е. С. - Детюк та співавт. (1979). Функціональну активність ЩЗ оцінювали за концентрацією тиреοїдних гормонів – трийодтироніну (T_3), тетраїодтироніну (T_4), тиреотропного гормону (ТТГ) у сироватці крові методом радіоімунного аналізу. Дослідження біомаркерів оксидативного стресу здійснювали у крові, гомогенатах міокарда та печінки. Окремим групам контрольних і дослідних тварин проводили ІГТ у наступному режимі: п'ятиразове піднімання тварин у барокамері на умовну висоту 3000 м. Умовне піднімання здійснювали поступово: перший день – на висоту 1000 м, другий – 2000 м і лише з третього дня – 3000 м. Тривалість гіпоксичної експозиції – 10 хв, перерви між сеансами гіпоксії – 15 хв, тривалість тренування – 10 днів, швидкість “підняття” – 20 м/с (Е. А. Коваленко, 1993). Рівень ПОЛ оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) за допомогою методу Плацера в модифікації В. Б. Гаврилова, М. І. Мішкорудної, 1983; ТБК-активні продукти (ТБКАП) (Р. А. Тімірбулатов, Є. І. Селєзньов у модифікації М. Ф. Тимочка, В. Б. Мартинюк, С. М. Ковальчук, 1991). Досліджували активність ензимів системи антиоксидантного захисту (АОЗ) – глутатіонпероксидази (ГПО) (В. М. Моин, 1986), каталази (КАТ) (М. А. Королюк та співавт., 1988), супероксиддисмутази (СОД) (В. А. Костюк та ін., 1990).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Ми показали, що однією з патогенетично визначальних ланок відтвореної донозологічної форми гіпотиреозу є розвиток оксидативного стресу, що ініціює надмірну продукцію кисневих радикалів, активізацію механізмів ліпопероксидації. Це є пусковим фактором ураження клітинних та субклітинних структур зі змінами їх анатомо-функціональної організації. Зокрема, відзначено достовірне зростання ТБК-активних метаболітів у крові, що перевищує параметри норми на 27 %, ДК – на 46 %.

Ферментативний захист щодо активних метаболітів ПОЛ здійснюється у спосіб активації ензимів – СОД, КАТ, ГПО [1, 4, 5]. Відповідно, параметри прооксидантних реакцій трактували ми у взаємозв'язку із системою ферментів окисної протидії. Доведено зниження активності СОД – на 30,5 %, ГПО – на 37,1 %

щодо норми. Зафіксовано зменшення активності каталази як в сироватці, так і в цільній крові, відповідно на 24,8 та 20,9 % ($p < 0,05$).

Застосування курсового ІГТ у тварин із гіпотиреозом показало, що у цій групі щурів, як і у контрольній серії тварин із застосуванням ІГТ, зростає активність досліджуваних ферментів антирадикальної та антипероксидної дії стосовно дослідної серії нетренованих тварин.

Отримані результати узгоджуються з даними літературних джерел, згідно з якими позитивний коригуючий ефект ІГТ стосовно параметрів ПОЛ-АОА у крові експериментальних тварин пов'язаний із підвищенням потужності антиоксидантного захисту [3, 6].

Аналогічним до показників крові виявився характер змін досліджуваних параметрів системи ПОЛ-АОА у тканині міокарда дослідної групи (табл. 1). Зокрема, вміст ТБКАП у цій тканині при гіпотиреозі зростає щодо контрольних показників на 26,4 %, дієнових кон'югатів – на 87,2 %.

Інтенсифікацію процесів ліпопероксидації зафіксовано на тлі достовірного зниження активності всіх досліджуваних ферментів антиокиснювального захисту, відповідно ГПО – на 34,5 %, СОД – на 36,7 %, каталази – на 10 % ($p < 0,05$) (табл. 2).

Щодо гомогенату печінки, ми спостерігали вірогідне зростання вмісту ТБК-активних продуктів проти контрольних величин, що у відсотковому вираженні становило 32,9 %. Рівень ДК нижчий стосовно контролю на 25,6 %, що можна пов'язувати з відносно високою щодо інших ферментів антиокисної дії активністю каталази, що за певних умов забезпечує пероксидазну реакцію [7, 8]. При цьому, значення решти параметрів антиоксидантного захисту знижені щодо норми, відповідно СОД – на 25,4 %, ГПО – на 30,2 %.

Важливо відзначити, що при оцінці загальної спрямованості змін у системі вільнорадикальних перетворень необхідно враховувати взаємозумовленість між вираженням активації про- та антиокиснювальних систем, оскільки мобілізація ферментів антиокисної дії визначається характером оксигеназних реакцій

та ступенем окиснення ліпопротеїнових структур клітинних та субклітинних мембран.

Наведене вище узгоджується з даними фахової літератури, якими засвідчено активацію процесів ліпопероксидації на тлі пригнічення активності окремих ланок антиоксидантного захисту в крові осіб із гіпотиреοїдною дисфункцією щитоподібної залози, а також у крові та досліджуваних тканинах експериментальних тварин [5, 8–10].

Застосування методу ІГТ суттєво змінювало хід метаболічних подій у системі біомаркерів оксидативного стресу. Стосовно міокарда, то використання методу в групі контрольних щурів знижувало вміст дієнових кон'югатів на 27,4 %. Це можна пов'язувати з вірогідною активацією ГПО (11,2 %), що є ферментом, який специфічно елімінує гідропероксидази [3]. Стосовно печінки, то дія методу ІГТ у контрольній групі тварин, як і у міокарді, достовірно знижує вміст ДК, що у відсотковому вираженні становить 17 %. Це реалізується на тлі незначного зростання активності ГПО та СОД. Найбільш істотними виявились зміни активності каталази, що є для печінки органоспецифічним ферментом антиоксидантного захисту. Вплив ІГТ у дослідній групі супроводжувався достовірним зниженням вмісту продуктів ліпопероксидації у тканині міокарда щодо щурів із модельованим гіпотиреозом без корекції. При цьому, рівень ТБК-АП практично сягає меж норми, ДК – вище від контрольних значень на 24 % проти 87 % у нетренованій дослідній групі ($p < 0,01$). Така метаболічна картина реалізується на фоні зростання активності основних ферментів антиоксидного захисту. Зокрема, до значень норми відновлюється активність ГПО та каталази. Активність СОД хоча і є нижчою від контролю на 13 %, однак зростає щодо дослідної нетренованої групи на 24 % ($p < 0,01$).

У печінці під дією ІГТ вміст ДК відновлюється, рівень ТБК-АП – вищий норми на 14 % проти 33 % у нетренованій групі ($p < 0,05$). У межах контрольних значень – активність каталази, СОД. На 18 % нижчою від контрольного рівня є лише ГПО-активність, проте щодо нетренованої дослідної групи вона збільшується на 12,5 % ($p < 0,05$).

Таблиця 1. Вміст продуктів ПОЛ у міокарді щурів за умов гіпотиреозу ($M \pm m$; $n=8$)

Показник	Контроль	Контроль+ІГТ	Гіпотиреоз	Гіпотиреоз+ІГТ
ТБКАП (мкмоль/г)	968,99±83,27	903,80±68,12	1223,25±180,47*	1031,22±64,20
ДК (од. Е/г)	11,7±0,82	8,50±0,78*	21,9±1,4*	14,5±0,90*•

Примітки: 1) * – вірогідність ($p < 0,05$) стосовно контролю;

2) • – вірогідність ($p < 0,05$) стосовно гіпотиреозу.

Таблиця 2. Показники антиоксидантного захисту в міокарді щурів за умов гіпотиреозу ($M \pm m$; $n=8$)

Показник	Контроль	Контроль+ІГТ	Гіпотиреоз	Гіпотиреоз+ІГТ
СОД (од. акт./мл.хв)	656,50±93,39	636,64±60,24	415,60±35,42*	573,80±44,16
ГПО (мкмоль GSH/г.хв)	2,67±0,20	2,97±0,18	1,75±0,14*	2,78±0,16
Каталаза (мкмоль H_2O_2 /мл.год)	4,52±0,32	4,37±0,20	4,08±0,35*	4,81±0,34•

Примітки: 1) * – вірогідність ($p < 0,05$) стосовно контролю;

2) • – вірогідність ($p < 0,05$) стосовно гіпотиреозу.

ВИСНОВКИ Відтворена нами модель гіпотиреοїдної дисфункції характеризувалась однотипним зростанням вмісту ТБК-активних продуктів у крові, гомогенатах тканини серця та печінки на фоні пригнічен-

ня активності основних ферментів антиокисної та антирадикальної дії. Вплив ІГТ призводив до достовірного зниження вмісту біомаркерів оксидативного стресу у всіх досліджуваних середовищах на фоні

зростання активності основних ферментів антиоксидантного захисту. Можна стверджувати, що коригуючий ефект ІГТ полягав у відновленні рівноваги в системі про- та антиоксидантних процесів.

Перспективи подальших досліджень Ранні форми гіпотиреозу супроводжуються змінами оксидативної метаболічної складової. У подальшому планується комплекс досліджень, що розширять уявлення щодо взаємодії киснезалежних реакцій та інших аспектів тиреоїдного дисгомеостазу, а також доповнять знання про клітинно-мембранні механізми реалізації ефектів тиреоїдних гормонів за умов донозологічного гіпотиреозу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. M. J. Coria. Serum oxidative stress parameters of women with hypothyroidism // M. J. Coria, A. I. Pastrón, M. S. Gimenez / *Acta Biomedica de l'Ateneo Parmense*. – 2009. – Vol. 80, № 2. – P. 135–139.
2. The impact of thyroid activity variations on some oxidizing-stress parameters in rats / M. Messarah, M. S. Boulakoud, A. Boumendjel [et al.] // *Comptes Rendus—Biologies*. – 2007. – Vol. 330, № 2. – P. 107–112.
3. Serum total antioxidant status and lipid peroxidation marker malondialdehyde levels in overt and subclinical hypothyroidism / A. N. Torun, S. Kulaksizoglu, M. Kulaksizoglu [et al.] / *Clinical Endocrinology*. – 2009. – Vol. 70, № 3. – P. 469–474.
4. Evaluation of oxidative stress, the activities of paraoxonase and arylesterase in patients with subclinical hypothyroidism / E. Cebeci, F. Alibaz-Oner, M. Usta [et al.] // *Journal of Investigative Medicine*. – 2012. – Vol. 60. – P. 23–28.
5. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with hypothyroidism before and after treatment / G. Baskol, H. Atmaca, F. Tanriverdi [et al.] // *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. – 2007. – Vol. 115, № 8. – P. 522–526.
6. Plasma thiobarbituric acid-reactive substance levels in subclinical hypothyroidism / L. Kebapcilar, B. Akinci, F. Bayraktar [et al.] / *Medical Principles and Practice*. – Vol. 16, № 6. – P. 432–436.
7. Influence of thyroid dysfunction on liver lipid peroxidation and antioxidant status in experimental rats // M. Messarah, A. Boumendjel, A. Chouabia [et al.] / *Experimental and Toxicologic Pathology*. – 2010. – Vol. 62, № 3. – P. 301–310.
8. Association between thyroid hormones, lipids and oxidative stress biomarkers in overt hypothyroidism / A. Santi, M. F. Duarte, R. N. Moresco [et al.] // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 2010. – Vol. 48, № 11. – P. 1635–1639.
9. Чупашко О. І. Різні форми експериментального гіпотиреозу: метаболічні критерії, перспективи доклінічної діагностики, прогнозування / О. І. Чупашко // *Клінічна та експериментальна патологія*. – 2012. – Т. XI, № 3, Ч. 1.
10. Gzhegotsky M. R. Metabolic profile in experimental mild hypothyrosis: possible risk factor for atherosclerosis / Gzhegotsky M. R., Chupashko O. I. : *Матеріали X Укр. біохім. з'їзду 13–17 вересня 2010 р., м. Одеса*. – Український біохімічний журнал. – 2010. – № 82, № 4 (додаток 2). – С. 58.

Отримано 02.02.15