

На правах рукописи

АЛМАКАЕВА ЛИЛИАНА ФАВАДИСОВНА

**КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ БАЛАНС У
ПОТОМСТВА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОТИРЕОЗЕ
С КОРРЕКЦИЕЙ ЙОДСАХАРИДНЫМ КОМПЛЕКСОМ**

3.3.3. Патологическая физиология

Автореферат
на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России)

Научные руководители: доктор медицинских наук, доцент
Гребнев Дмитрий Юрьевич
доктор медицинских наук, профессор
Камилов Феликс Хусаинович

Официальные оппоненты: **Цейликман Вадим Эдуардович**, доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский институт)» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, директор Высшей медико-биологической школы

Синицкий Антон Иванович, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой биологической химии (биохимии)

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «___» _____ 2021 года в «___» часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук 21.2.074.03, созданного на базе ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России (620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке им. В.И. Климова и официальном сайте (<http://www.usma.ru>) ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России (620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, 17).

Автореферат разослан «___» _____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Базарный Владимир Викторович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень ее разработанности

Первичная заболеваемость гипотиреозом в Российской Федерации в зависимости от региона составляет 25-99 случаев на 100 000 населения в год и показывает рост во всех возрастных группах (Жукова Л.А. и др., 2017; Русских Е.С. и др., 2019).

Первичный гипотиреоз возникает под влиянием различных причин: деструкции ткани щитовидной железы после предшествующего хирургического вмешательства и лечения гипотиреоза радиоактивным йодом, аутоиммунного тиреоидита, врожденных или наследственных дефектов белков и ферментов, участвующих в гормоногенезе, транспорте и рецепции гормонов тиреоидной системы (Бирюкова Е.В., Шинкин М.В., 2017; Cherella С.Е., Wassner А.Ј., 2017). Гипотиреоз часто обусловлен эндемической недостаточностью йода.

Почти две трети территории России эндемично по зобу. Актуальность проблемы гипотиреоза в нашей стране определяется наличием в большинстве регионов йододефицита и низкой эффективностью его профилактики. Распространенность эндемического зоба у детей и подростков Центральной России составляет 15-25%, доходя в отдельных регионах до 40%. Медиана йодурии при норме 150-200 мкг/л в среднем по России составляет 82,2 мкг/л, по отдельным регионам колеблется от 27 до 125 мкг/л (Платонова Н.М., Трошина Е.А., 2015).

Башкортостан также является эндемичной территорией по содержанию йода в почве и воде. У лиц зрелого возраста распространенность йододефицита доходит до 59,5%, тяжелая степень йододефицита выявляется более чем у 13% обследованных (Averyanov S.V. et al., 2020).

При гипотиреозе, вызванном дефицитом потребления йода и другими причинами, поражаются большинство органов и систем. В антенатальном периоде и первые годы жизни дефицит гормонов ЩЖ приводит к замедлению развития мозговой ткани и угнетению высшей нервной деятельности, что проявляется энцефалопатией и характеризуется ослаблением безусловной и условной рефлекторной деятельности, снижением психической активности и интеллекта вплоть до кретинизма (Белых Н.А., 2017; Демин Д.Б., 2018). Нервно-психические расстройства при гипотиреозе развиваются и в зрелом возрасте (Бирюкова Е.В., Шинкин М.В., 2017; Новиков В.И., Новиков К.Ю., 2014; Choudhry H., Narsullah M., 2018). При этом выявляются снижение когнитивных функций разной степени выраженности, а также аффективные расстройства с доминированием депрессии (Куташов В.А. и др., 2016; Малев А.Л. и др., 2017; Припутневич Д.Н. и др., 2017; Yalcin M.M. et.al., 2017).

В то же время патофизиологические механизмы развития поражения нервной деятельности и других органов и систем при отклонении уровня секреции гормонов

тиреоидной системы, особенно при субклинической форме гипотиреоза, остаются недостаточно выясненными, а данные литературы – противоречивыми (Куташов В.А. и др., 2016; Жукова Л.А. и др., 2017). При этом одни авторы отводят ведущую роль истощению системы антиоксидантной защиты с активацией свободнорадикальных процессов (Коноплянко В.А., Клебанов Р.Д., 2015; Павлюченко И.И. и др., 2017; Сабанов В.И. и др., 2017; Kurku H. et al., 2016; Aydogdu A. et al., 2017; Ucakurk S.A. et al., 2018; Marsullo L.F. et al., 2018). Другие указывают на изменения при гипотиреозе уровня провоспалительных цитокинов, белков острой фазы, половых гормонов, компонентов гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, участвующих в формировании стресс-реакций организма (Попова Е.В. и др., 2015; Евдокимова О.В., Городецкая И.В., 2015). Эти данные представляют интерес в свете исследования роли ряда цитокинов в постнатальном онтогенезе мозга, развитии когнитивного дефицита, изменениях исследовательского поведения и пространственной памяти половозрелых животных (Трофимов А.Н. и др., 2014), а также роли свободно-радикального окисления (СРО) в мозге и периферических тканях в процессах реализации адаптационно-компенсаторных реакций при гипоксии и других стресс-ситуациях (Синицкий А.И. и др., 2014; Деев Р.В. и др., 2015; Байбурина Г.А. и др., 2016; Кондашевская М.В. и др., 2017; Manukhina E.V. et al., 2020).

Ликвидацию гипотиреоза, эндемического зоба и других йододефицитных заболеваний в эндемичных территориях ВОЗ поставила как одну из приоритетных задач. В результате йодной профилактики путем использования в питании только йодированной поваренной соли удалось значительно сократить остроту проблемы в большой группе стран (Мохорт Т.В. и др., 2016), однако в России распространенность йододефицитных заболеваний сохраняется (Трошина Е.А. и др., 2018).

Несмотря на простоту и эффективность использования йодированной соли для компенсации йододефицита, при этом нередко наблюдается развитие индуцированного йодом гипотиреоза и гипертиреоза и/или зоба (Bali S. et al., 2018; Yadav K., Pandav C., 2018; Farebrother J. et al., 2019; Wassie M.M. et al., 2019). С целью предотвращения побочных эффектов йодированной соли стали применять йодирование продуктов повседневного спроса: брикетированного чая, сахара, хлеба, молочных продуктов (Мамцев А.Н. и др., 2016; Даниленко А.М. и др., 2015; Keats E.C. et al., 2019; Santos J.A.R. et al., 2019), в которых йод стабилизирован путем связывания с органическими матрицами – казеиногеном, полисахаридами растительного происхождения, что способствует более равномерному поступлению микроэлемента из желудочно-кишечного тракта.

Цель исследования – охарактеризовать окислительный метаболизм, когнитивные функции потомства крыс с экспериментальным гипотиреозом и оценить

эффективность корректирующего действия на эти процессы нового йодсахаридного комплекса.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать при экспериментальном мерказолиловом гипотиреозе гормональный баланс, интенсивность процессов свободнорадикального окисления и активность ферментов антиоксидантной защиты в тканях головного мозга, печени и почек крыс.

2. Оценить эффективность действия нового йодсахаридного комплекса на гормональный статус, состояние про-/антиоксидантной системы в тканях крыс с мерказолиловым гипотиреозом.

3. Изучить когнитивную функцию путем оценки пространственного обучения и памяти, состояние окислительного метаболизма в тканях потомства крыс с экспериментальным гипотиреозом.

4. Определить влияние введения нового йодсахаридного комплекса на когнитивные функции, про-/антиоксидантную систему тканей потомства крыс с экспериментальным гипотиреозом.

Методология и методы исследования

Исследование носит экспериментальный характер, выполнялось путем моделирования ситуации развития йододефицитного гипотиреоза введением животным тиреостатика – мерказолила (тиамазола), апробированного в ранее проведенных исследованиях. Работа выполнена в период 2018-2021 гг. на кафедрах патологической физиологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России и ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Эксперименты проведены на половозрелых беспородных белых крысах массой 190-230 г. и их потомства (самцы двухмесячного возраста). Содержание животных, моделирование гипотиреоза, выведение из эксперимента и получение материала для исследования полностью соответствовали требованиям российских и международных законодательных актов и локального этического комитета по проведению научных исследований с использованием лабораторных животных. Для решения цели и задач исследования применялись физиологические (нейроповеденческое тестирование с оценкой пространственной памяти), биохимические (спектрофотометрия, иммуноферментный анализ), статистические методы анализа.

Научная новизна

В экспериментах с моделированием гипотиреоза ежедневным внутрижелудочным введением тиамазола (мерказолила) определено, что снижение функциональной активности щитовидной железы сопровождается развитием окислительного стресса с усилением в тканях хемилюминесценции, повышением содержания первичных и вторичных продуктов липопероксидации, снижением активности

ферментов антиокислительной защиты.

Показано, что в механизмах реализации проявлений гипотиреоза значимую роль играют изменения функциональной активности и других желёз внутренней секреции и уровня цитокинов провоспалительного характера действия.

Выявлено, что экспериментальный гипотиреоз вызывает у потомства животных нарушения когнитивных функций, снижая показатели референтной и оперативной памяти на фоне явлений дистиреоза и других негативных изменений гормонального статуса, а также дисбаланса активности ферментов первой и второй линий антиоксидантной защиты, повышенного уровня процессов перекисного окисления липидов в ткани головного мозга.

Установлена взаимосвязь снижения показателей когнитивных функций с нарушениями кратковременной и долговременной памяти и изменением окислительного баланса в ткани головного мозга с повышением содержания продуктов перекисного окисления липидов, снижением активности антиоксидантных ферментов.

Разработаны йодсодержащая биологически активная добавка к пище (патент на изобретение РФ №2716971 от 17.03.2020 г.) и способ ее получения (патент на изобретение РФ №2717045 от 17.03.2020 г.) на основе биоразлагаемого в пищеварительном тракте стевииолгликозида ребаудиозида А как органической матрицы.

Продемонстрирована эффективность применения нового йодсахаридного комплекса у животных с экспериментальным гипотиреозом. Установлено, что ежедневное его введение в течение 30 суток восстановительного периода гипотиреозным крысам в дозе 2,5 мкг йода/100 г массы тела способствует нормализации функционального состояния щитовидной железы, гормонального фона, уровня провоспалительных цитокинов и показателей окислительного баланса в тканях.

Показано, что содержание животных с экспериментальным гипотиреозом на йодобогатенном питании с применением йодсахаридного комплекса в восстановительном периоде приводит к улучшению у потомства функционирования тиреоидной системы, когнитивных функций и уровней маркёров интенсивности свободно-радикальных процессов и антиоксидантной защиты в головном мозге.

Теоретическая и практическая ценность

Подтверждена значимость в развитии патофизиологических сдвигов при гипотиреозе активации процессов свободнорадикального окисления со снижением активности ферментов антиоксидантной защиты. Полученные в рамках диссертационного исследования научные данные указывают на развитие при гипотиреозе изменений общего гормонального фона организма (секреции гонадотропинов, гормонов половых и околощитовидных желёз), повышение продукции провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α .

Результаты исследования дают теоретическое обоснование для дальнейшей разработки и внедрения нового йодсодержащего средства для профилактики йододефицита в регионах с природной недостаточностью этого микроэлемента.

Положения, выносимые на защиту:

1. Моделирование тиреоидной гиподисфункции у животных вызывает дисбаланс гормонального статуса, увеличение продукции провоспалительных цитокинов, развитие окислительного стресса.

2. Экспериментальный гипотиреоз вызывает у потомства животных нарушения пространственного обучения и памяти, развивающиеся на фоне тиреоидной дисфункции, снижения активности и дисбаланса ферментов антиоксидантной защиты в ткани головного мозга.

3. Введение животным с экспериментальным гипотиреозом в восстановительном периоде в течение 30 дней нового йодсахаридного комплекса на основе релбаудиозида А приводит к восстановлению гормонального фона, окислительного баланса в тканях, снижению у потомства животных нарушений когнитивных функций и нормализации про-/антиоксидантной системы.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора

Достоверность и обоснованность установленных закономерностей и сформулированных на их основе научных положений, выводов и рекомендаций определяется достаточным объемом наблюдений, использованием современных методов исследования, сертифицированного оборудования и реагентов, актами внедрения результатов работы и проверки первичной документации, применением адекватной статистической обработки результатов. Научные положения и выводы, сформулированные в работе, основаны на полученных результатах, полностью соответствуют цели и задачам работы. Полученные результаты исследований не противоречат данным, представленным в независимых источниках по данной тематике.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на Всероссийской международной научно-практической конференции «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» (Челябинск, 2018) и итоговой молодежной научной конференции «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, 2019), X и XI Российских научно-практических конференциях «Здоровье человека в XXI веке» (Казань, 2019, 2020), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медицинская биохимия – от фундаментальных исследований к клинической практике», посвященной 90-летию профессоров А.Ш. Бышевского и Р.И. Лифшица (Тюмень, 2019), международной научно-практической конференции «Интеграция образования, науки и производства» (Мелеуз, 2020).

Концепция работы, дизайн исследования, цель и задачи разработаны совместно с научными руководителями доцентом Гребневым Д.Ю. и профессором Камилловым Ф.Х. Автором самостоятельно проведены изучение отечественной и зарубежной литературы, постановка экспериментальных исследований, методов статистической обработки, оценка и анализ полученных результатов, написание статей, оформление диссертационной работы.

Апробация работы проведена на заседании кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России (10.05.2021 г.), проблемной научной комиссии «Общая патология» ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России (17.05.2021 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Основные положения, разработанные в диссертации, используются в учебном процессе кафедр патологической физиологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России и ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, Башкирского института технологии и управления (филиал) ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления им. К.Г. Разумовского (ПКУ)», кафедр биологической химии и патологической физиологии ФГБОУ ВО ИжГМА Минздрава России.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе монография, 4 статьи в научных журналах и изданиях, включенных в «Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук». Получены 2 патента на изобретения РФ, 6 работ опубликованы в материалах конференций.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 161 странице машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», главы результатов собственных исследований, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы. В диссертации приведены ссылки на 229 литературных источников, включающие 113 работ на русском языке и 116 на иностранном. Работа иллюстрирована 26 рисунками и 26 таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Гипотиреоз моделировали на половозрелых белых беспородных крысах массой 190-230 г. обоего пола. Животные находились на общевиварном питании со свободным доступом к воде. Для питания использовали полнорационный сухой комбикорм для лабораторных животных «Чара», производимый ООО «Ассорти-

мент-Агро» (Россия). Тиреоидную недостаточность йододефицита моделировали введением мерказолила (тиамазола) в дозе 2,5 мг / 100 г массы тела в течение 21 суток. Тирео-статик вводили ежедневно внутривентрикулярно. Среднесуточная доза мерказолила была апробирована в ходе опытно-экспериментальных работ, данная дозировка мерказолила в течение трех недель обеспечивает появление у крыс симптомов, характерных для йододефицитного заболевания, минимизируя риск развития у животных осложнений (Козлов В.Н., 2006; Камиллов Ф.Х. и др., 2018).

Исследования были проведены в отдельных сериях в два этапа (Таблица 1).

Таблица 1 – Дизайн исследований

Этапы исследования	Группы животных	Изучаемые показатели
<p>I этап (40 крыс) Оценка гормонального статуса и состояния оксидантно-антиоксидантной системы при экспериментальном гипотиреозе и влияние на эти процессы нового йодсахаридного комплекса</p>	<p>1 – контрольная, интактные животные; 2 – опытная, подвергнутые ежедневной интоксикации мерказолилом в течение 21 суток; 3 – сравнения, получавшие виварное питание в течение 30 дней после завершения введения мерказолила; 4 – основная, получавшие йодобогащённое питание в течение 30 суток после завершения введения мерказолила</p>	<p>1. В плазме крови: содержание ТТГ, oT_4, oT_3, cT_4; лютеинизирующего гормона (ЛГ); фолликулостимулирующего гормона (ФСГ); тестостерона; паратгормона (ПТГ); кортикостерона; интерлейкина-1β (ИЛ-1β), интерлейкина-6 (ИЛ-6), фактора некроза опухоли-α (ФНО-α); ТБК-активных продуктов, диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов и сопряженных триенов (КДиСТ); интенсивность хемолюминесценции 2. В гомогенатах тканей головного мозга, печени и почек: интенсивность хемолюминесценции; уровень ТБК-активных продуктов, ДК, КДиСТ; активность супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГПО) и каталазы (КАТ).</p>
<p>II этап (60 крыс и 40 крысят) Изменения гормонального статуса, когнитивной функции, состояния оксидантно-антиоксидантной системы у потомства крыс с мерказолиловым гипотиреозом и животных, получавших в восстановительном периоде йодсахаридный комплекс</p>	<p>1 – контрольная. Крысята-самцы в возрасте 2 месяца, потомство родителей интактных животных; 2 – опытная. Крысята-самцы в возрасте 2 месяца, потомство родителей с мерказолиловым гипотиреозом; 3 – сравнения. Крысята-самцы в возрасте 2 месяца, потомство крыс с мерказолиловым гипотиреозом, получавших в восстановительном периоде виварное питание; 4 – основная. Крысята-самцы в возрасте 2 месяца, потомство крыс с мерказолиловым гипотиреозом, получавших в восстановительном периоде йодобогащённое питание.</p>	<p>1. Оценка когнитивных функций: изучение кратковременной и долговременной памяти в тестах «Восьмирукавный радиальный лабиринт» и «Распознавание новых объектов» 2. В плазме крови: содержание ТТГ, oT_4, oT_3, cT_4; ЛГ; ФСГ, тестостерона; ПТГ; кортикостерона. 3. В гомогенатах тканей головного мозга и печени: уровень ТБК-активных продуктов, ДК, КДиСТ, активность СОД, ГПО и КАТ.</p>

На первом этапе при экспериментальном гипотиреозе изучали состояние тиреоидной системы, уровень некоторых других гормонов и цитокинов, интенсивность окислительных процессов и выраженность антиоксидантной защиты в тканях, а также влияние на эти процессы нового йодорганического комплекса на основе ребаудиозида А. 40 самцов крыс были разделены на 4 группы по 10 животных в каждой: первая – контрольная, вторая – опытная, третья – сравнения, четвертая – основная. Крысам 2-й, 3-й и 4-й групп ежедневно внутрижелудочно с помощью специального зонда вводили тиамазол (мерказолил) в течение 21 суток, 1-й группы – физиологический раствор. Животные 3-й и 4-й групп в течение 30 суток проходили восстановительный период. При этом крысы группы сравнения были на виварном питании, а основная группа – на йодобогатённом питании из расчета 2,5 мкг йода на 100 г массы тела. Йодобогатённое питание включало новый йодсодержащий органоминеральный комплекс (патент РФ №2716971 от 17.03.2020 г. и патент РФ №2717045 от 17.03.2020 г.). Животных 1-й и 2-й групп выводили из эксперимента на 22-е сутки, 3-й и 4-й – по истечении 30 суток восстановительного периода.

На втором этапе исследования были использованы 40 половозрелых самок крыс и 20 самцов, также разделенных на 4 группы: контрольную, опытную, сравнения и основную, которые прошли манипуляции первого этапа, т.е. 2-я, 3-я и 4-я группы получали в течение 21 суток внутрижелудочно мерказолил, 3-я и 4-я затем проходили в течение 30 суток восстановительный период. 3-я группа сравнения в этот период находилась на виварном питании, а 4-я основная – на йодобогатённом питании путем добавления в пищу йодсахаридного комплекса на основе взаимодействия йода с ребаудиозидом А. Спаривание животных 1-й и 2-й групп отдельно проводили на 22 сутки сразу после завершения введения мерказолила, крыс 3-й и 4-й групп на следующий день после завершения восстановительного периода. В отдельные клетки помещали по 2 самки и 1 самцу. В результате этого беременность и лактация самок опытной (2-й) группы проходили в условиях йододефицитного гипотиреоза.

Оценивали количество родившихся в помёте крысят, их массу тела через 1, 2 и 3 месяца. У 40 крысят-самцов в возрасте 2 месяца в 4-х группах: первой – контрольной, родившихся от родителей из контрольной группы, второй – опытной, родившихся от родителей из опытной группы, третьей – сравнения, родившихся от родителей из группы сравнения и четвёртой – основной группы, потомства крыс основной группы. У крысят изучали гормональный статус, когнитивные функции и состояние оксидантно-антиоксидантной системы тканей головного мозга и печени.

Когнитивные функции крысят оценивали использованием двух тестов: «Восьмирукавный радиальный лабиринт» (ВРЛ) и «Распознавание новых объектов». ВРЛ предназначен для изучения рабочей (кратковременная оперативная па-

мять, от секунд до минут, доступная в течение текущей попытки) и референтной пространственной памяти (долговременная память о местоположении целевого объекта). В этом тесте крысы быстро обучаются посещать каждый рукав только один раз за сеанс для получения пищевого вознаграждения (Горин Я.В. и др., 2017).

Тест «Распознавание нового объекта» проводили в модификации (Горелов П.И. и др., 2013; Дубровская Н.М. и др., 2019). Состояние функции памяти определяли как дискриминационное время исследования нового объекта (DIR) по формуле:

$$DIR = \frac{t \text{ исследования нового объекта} - t \text{ исследования знакомого объекта}}{\text{общее } t \text{ исследования во время сеанса тестирования}} \times 100 \quad (1)$$

Кроме того регистрировали время, проведенное в непосредственном тактильном или обонятельном контакте крысы с каждым объектом, и выражали его в процентах от суммарного времени исследования пары объектов.

Видеорегистрацию отдельных поведенческих актов животных осуществляли с помощью видеокамеры SONY SSC-G-118.

Содержание гормонов в плазме крови экспериментальных животных определяли методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных коммерческих наборов: тиреотропный гормон – ТТГ-ЕІА-5296 (DRG Diagnostics HmbH), общий тироксин – Т₄ общий-ІФА-БЕСТ, общий трийодтиронин – Т₃ общий-ІФА-БЕСТ, свободный тироксин – Т₄ свободный-ІФА-БЕСТ, лютеинизирующий гормон – ЛГ-ІФА-БЕСТ, фолликулостимулирующий гормон – ФСГ-ІФА-БЕСТ, тестостерон – тестостерон-ІФА-БЕСТ, кортикостерон – кортикостерон-ІФА-БЕСТ (реагенты ЗАО Вектор-Бест), паратгормон – Diasoure PTH ELISA согласно прилагаемым инструкциям на анализаторе «StatFox2100» (США) с учетом наличия гомологии в пептидной структуре и рецепторов у человека и крысы.

Содержание ІЛ-1β, ІЛ-6 и ФНО-α определяли с использованием наборов реагентов Rat ІL-1 Beta ELISA kit, Rat ІL-6 ELISA kit и Rat TNF Alpha ELISA kit (Abcam, UK) согласно прилагаемой инструкции на анализаторе «StatFox2100».

Выраженность свободнорадикальных процессов в плазме крови и тканях оценивали методом хемилюминесценции (хемилюминометр ХЛ-03, Россия), определением содержания продуктов ПОЛ: диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов и сопряженных триенов (КДиСТ) (Волчегорский И.А. и др., 2000), ТБК-активных продуктов (наборы реагентов ТБК-АГАТ, АГАТ-МЕД, Россия). Для получения гомогената 1 г ткани немедленно после забоя животного измельчали и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе Поттера на холоду (0-4°C) в среде, содержащей 0,25 М сахарозы, 1 мМ ЭДТА, 0,01 М трис-НСІ (рН 7,4), в соотношении 1:5 в течение 2-3 мин. Полученный гомогенат обрабатывали тритоном Х-100 и оставляли на холоде на 30 мин для разрушения клеточных и субклеточных структур.

Гомогенат тканей использовали также и для определения активности ферментов антиоксидантной защиты. Активность супероксиддисмутазы изучали с использованием набора реагентов RANSOD (Randox Laboratories LTD., UK), глутатионпероксидазы – набора реагентов Glutation Peroxidasa того же производителя, каталазы согласно описанию Королук М.А. и др. (1988).

Для анализа полученных результатов использовали стандартный пакет программ Statistica 8.0. Описательная статистика данных проводилась с расчетом средних значений и среднеквадратичных отклонений $M \pm \sigma$. После установления соответствия распределения признака закону нормального распределения в группах выборки (критерий Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилкса) полученные данные обрабатывали с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA и теста Бонферрони. При асимметричном распределении признаков в группах выборки статистическую значимость различий определяли, используя непараметрический критерий Манна-Уитни (U) и критерии множественного сравнения Крускала-Уоллиса (H) и Данна (надстройка «AtteStat» для Microsoft Office Excel 2007) (Гржибовский А.М. и др., 2016). Для выявления статистических связей между выраженностью признаков использовали параметрический корреляционный анализ по Пирсону и непараметрический корреляционный анализ с расчетом коэффициентов корреляции рангов по Спирмену. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У крыс, которым вводили в течение 21 суток тиамазол, наблюдалось развитие гипотиреоза (Таблица 2): у 2-й (опытной) группы животных повышалось содержание в плазме крови ТТГ, снижались уровни oT_4 , oT_3 и cT_4 .

Таблица 2 – Тиреоидный статус крыс при экспериментальном гипотиреозе и его коррекции йодсахаридным комплексом, $M \pm \sigma$

Гормоны	Группы животных, n=10			
	1-я, контрольная	2-я, опытная	3-я, сравнения	4-я, основная
ТТГ, мМЕ/л	1,11±0,26	1,96±0,18 p=0,0001	1,34±0,30 p=0,0588 p₁=0,0016	1,08±0,27 p=0,9545 p₁=0,0001, p₂=0,0296
oT_4 , нмоль/л	76,9±4,53	51,8±6,02 p=0,0002	63,8±5,68 p=0,0142 p₁=0,0039	78,5±6,08 p=0,9001 p₁=0,0002, p₂=0,0030
oT_3 , нмоль/л	3,12±0,57	2,36±0,19 p=0,0001	2,91±0,41 p=0,2665 p₁=0,0012	3,21±0,34 p=0,6419 p₁=0,0002, p₂=0,2596
cT_4 , пмоль/л	16,2±1,71	10,8±2,14 p=0,0002	12,6±2,11 p=0,0038 p ₁ =0,0613	17,8±2,82 p=0,7526 p₁=0,0001, p₂=0,0067
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p ₁ – со 2-й, p ₂ – с 3-й группами, ANOVA, тест Бонферрони				

Кроме изменений тиреоидного статуса отмечались нарушения функциональной активности и других желез внутренней секреции (Таблица 3). У гипотиреоидных животных снизилась секреция тестостерона у самцов с увеличением уровня гонадотропных гормонов (ЛГ, ФСГ), повысилась секреция паратиринина. Эти результаты подтверждают данные литературы о нарушении половых функций при врожденном и приобретенном гипотиреозе (Спивак Ж.С., Бондаренко В.А., 2015; Касымова С.Д., 2016; Есина М.М., 2017; Krassas G.E. et al., 2010), а также о реципрокных отношениях между ТГ и ПТГ (Cardoso L.F. et al., 2014).

Таблица 3 – Содержание некоторых гормонов в плазме крови у самцов крыс при экспериментальном гипотиреозе и его коррекции йодсахаридным комплексом, $M \pm \sigma$

Гормоны	Группы животных, n=10			
	1-я, контрольная	2-я, опытная	3-я, сравнения	4-я, основная
ФСГ, МЕ/л	2,86±0,151	3,83±0,440 p=0,0001	2,79±0,222 p=0,8446 p₁=0,0002	2,85±0,343 p=0,9422 p₁=0,0002, p₂=0,6328
ЛГ, МЕ/л	2,26±0,294	2,98±0,289 p=0,0001	2,35±0,311 p=0,4911 p₁=0,0001	2,18±0,212 p=0,5321 p₁=0,0002, p₂=0,3898
Тестостерон, нмоль/л	23,6±2,92	19,7±1,58 p=0,0084	20,5±3,49 p=0,0485 p ₁ =0,7189	23,5±1,65 p=0,9653 p₁=0,0051, p₂=0,0844
Паратгормон, пг/л	16,4±1,51	22,1±2,14 p=0,0002	18,9±1,52 p=0,5691 p₁=0,0002	16,7±1,60 p=0,7395 p₁=0,0001, p₂=0,6376
Кортикостерон, нмоль/л	337±26,2	344±36,4 p=0,6328	334±38,3 p=0,8588 p ₁ =0,4266	338,4±37,3 p=0,9545 p ₁ =0,6772, p ₂ =0,9696
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p ₁ – со 2-й, p ₂ – с 3-й группами, ANOVA, тест Бонферрони				

При развитии гипотиреоза в наших экспериментах содержание в плазме крови кортикостерона не подвергалось статистически значимым колебаниям, наблюдалось повышение содержания ряда цитокинов провоспалительного действия – ИЛ-1β и ИЛ-6 и ФНО-α (Таблица 4).

Таблица 4 – Влияние коррекции йодсахаридным комплексом экспериментального гипотиреоза на содержание в плазме крови некоторых провоспалительных цитокинов, $M \pm \sigma$

Цитокины	Группы животных, n=10			
	1-я, контрольная	2-я, опытная	3-я, сравнения	4-я, основная
ИЛ-1β, нг/мл	12,2±1,67	23,1±1,94 p=0,0002	16,5±1,25 p=0,0013 p₁=0,0001	13,2±1,84 p=0,2132 p₁=0,0001, p₂=0,0019
ИЛ-6, нг/мл	15,2±1,07	18,2±1,60 p=0,0002	17,4±0,82 p=0,0006 p ₁ =0,1849	15,0±1,57 p=0,7471 p₁=0,0018, p₂=0,0067
ФНО-α, нг/мл	15,6±1,10	20,7±1,46 p=0,0002	16,7±1,31 p=0,0519 p₁=0,0030	16,1±1,04 p=0,0666 p₁=0,0071, p₂=0,4845
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p ₁ – со 2-й, p ₂ – с 3-й группами, ANOVA, тест Бонферрони				

Повышение уровня цитокинов обнаружило прямую статистически значимую корреляцию средней силы с содержанием ТТГ и отрицательную с T_4 . Эти изменения, вероятно, играют значимую роль в развитии нарушений функций нервной и других тканей, обнаруживаемых при гипотиреозе, поскольку тонкие механизмы влияния ТТГ на метаболизм и функций тканей, особенно головного мозга, остаются предметом дискуссии.

Данные литературы свидетельствуют о том, что дисфункция ЩЖ сопровождается нарушением оксидантно-антиоксидантного баланса (Павлюченко И.И. и др., Сабанов В.И. и др., 2019; Masullo L.F. et al., 2018; von Hafe M. et al., 2019). Результаты наших экспериментов показали, что гипотиреоз сопровождается развитием окислительного стресса. Об этом свидетельствует статистически значимое повышение показателей хемилюминесценции плазмы крови и тканей головного мозга, печени и почек: спонтанной светимости, характеризующей базальную активность радикалообразования; амплитуды быстрой вспышки, отражающей радикалообразование после индуцирования этих процессов ионами двухвалентного железа; максимальной светимости (амплитуды медленной вспышки) и светосуммы, которые определяют способность течения СРО в тканях при инициации их ионами металлов переменной валентности (Таблица 5).

На интенсификацию СРО в тканях при гипотиреозе указывает и уровень продуктов ПОЛ в гептан-изопропаноловых экстрактах (Рисунок 1) и содержание соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой.

Развитие гипотиреоза при введении мерказолила приводило к достоверному снижению активности основных антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы (Рисунок 2).

Таким образом, экспериментальный мерказолиловый гипотиреоз приводит к нарушению гормонального статуса, увеличению уровня в крови провоспалительных цитокинов, интенсификации процессов СРО и снижению активности антиоксидантных ферментов в тканях головного мозга, печени и почек.

При содержании животных с гипотиреозом в течение 30 дней после прекращения введения тиреостатика на виварном рационе питания (3-я группа сравнения) сохранялись явления дисфункции тиреоидной системы, повышенный уровень ИЛ-1 β и ИЛ-6, некоторые изменения гормонального статуса (Таблицы 2-4), а также дисбаланс оксидантно-антиоксидантной системы в тканях (Таблица 5, Рисунки 1 и 2).

Основная 4-я группа крыс в восстановительном периоде в течение 30 дней находилась на йодобогатённом рационе питания, получая ежедневно по 2,5 мкг йода на 100 г массы тела. Эффективность коррекции йодом экспериментального гипотиреоза подтверждается снижением до физиологического уровня секреции ТТГ,

повышением тиреоидных гормонов. Содержание oT_4 , oT_3 и cT_4 в плазме крови крыс данной группы статистически значимо превышало показатели группы сравнения. Дополнительное введение йода гипотиреозным крысам также приводило к снижению в плазме крови содержания ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α (Таблица 2-4).

Таблица 5 – Интенсивность хемиллюминесценции плазмы крови и гомогенатов тканей при экспериментальном гипотиреозе и его коррекции йодсахаридным комплексом, $M \pm \sigma$

Ткани	Группа животных, n=10	Показатели, усл. ед.			
		Спонтанная светимость	Ампл. быстрой вспышки	Максимальная светимость	Светосумма
Плазма крови	1-я, контрольная	0,94 \pm 0,24	1,92 \pm 0,39	1,64 \pm 0,42	5,52 \pm 1,26
	2-я, опытная	1,60 \pm 0,34 p=0,0079	3,92 \pm 0,91 p=0,0024	2,29 \pm 0,50 p=0,0239	6,59 \pm 0,67 p=0,0589
	3-я, сравнения	0,98 \pm 0,09 p=1,0000 p₁=0,0024	1,96 \pm 0,21 p=1,0000 p₁=0,0002	2,14 \pm 0,25 p=0,0363 p ₁ =1,0000	6,29 \pm 0,57 p=0,2173 p ₁ =1,0000
	4-я, основная	0,85 \pm 0,11 p=1,0000 p₁=0,0025 p ₂ =1,0000	2,11 \pm 0,25 p=1,0000 p₁=0,0182 p ₂ =1,0000	1,60 \pm 0,21 p=1,0000 p₁=0,0076 p₂=0,0120	5,50 \pm 0,31 p=1,0000 p₁=0,0254 p ₂ =0,1062
Головной мозг	1-я, контрольная	1,25 \pm 0,14	4,40 \pm 0,54	2,53 \pm 0,40	7,62 \pm 0,82
	2-я, опытная	1,89 \pm 0,30 p=0,0007	4,96 \pm 0,70 p=0,8602	3,64 \pm 0,45 p=0,0006	9,22 \pm 0,59 p=0,0007
	3-я, сравнения	1,74 \pm 0,33 p=0,0066 p ₁ =1,0000	4,72 \pm 0,30 p=1,0000 p ₁ =1,0000	3,58 \pm 0,45 p=0,0011 p ₁ =1,0000	8,72 \pm 0,53 p=0,0657 p ₁ =0,7341
	4-я, основная	1,27 \pm 0,17 p=1,0000 p₁=0,0038 p₂=0,0278	4,39 \pm 0,53 p=1,0000 p ₁ =1,0000 p ₂ =0,9416	2,88 \pm 0,55 p=1,0000 p₁=0,0323 p₂=0,0498	7,39 \pm 0,87 p=1,0000 p₁=0,0002 p₂=0,0278
Печень	1-я, контрольная	1,44 \pm 0,11	6,09 \pm 0,38	9,58 \pm 0,73	16,89 \pm 0,86
	2-я, опытная	2,63 \pm 0,23 p=0,0001	8,19 \pm 0,55 p=0,0385	10,86 \pm 0,92 p=0,0199	19,89 \pm 0,96 p=0,0015
	3-я, сравнения	1,97 \pm 0,27 p=0,0199 p₁=0,0452	8,94 \pm 0,45 p=1,0000 p ₁ =0,9084	10,35 \pm 0,61 p=0,3132 p ₁ =1,0000	19,41 \pm 0,82 p=0,0124 p ₁ =1,0000
	4-я, основная	1,45 \pm 0,14 p=1,0000 p₁=0,0002 p₂=0,0226	5,78 \pm 0,52 p=1,0000 p₁=0,0029 p₂=0,0005	9,01 \pm 0,67 p=1,0000 p₁=0,0034 p₂=0,0145	16,1 \pm 0,71 p=1,0000 p₁=0,0003 p₂=0,0004
Почки	1-я, контрольная	1,80 \pm 0,11	6,58 \pm 0,72	5,69 \pm 0,81	12,67 \pm 0,68
	2-я, опытная	2,62 \pm 0,33 p=0,0008	7,69 \pm 0,43 p=0,0657	7,94 \pm 0,49 p=0,0001	16,49 \pm 1,18 p=0,0017
	3-я, сравнения	2,32 \pm 0,29 p=0,0079 p ₁ =1,0000	8,0 \pm 0,42 p=1,0000 p ₁ =1,0000	6,25 \pm 0,35 p=0,4707 p ₁ =0,0676	16,1 \pm 0,72 p=0,0046 p ₁ =1,0000
	4-я, основная	1,88 \pm 0,16 p=1,0000 p₁=0,0053 p₂=0,0323	5,97 \pm 0,59 p=0,8914 p₁=0,0017 p₂=0,0002	5,61 \pm 0,28 p=1,0000 p₁=0,0003 p ₂ =0,2498	12,27 \pm 0,50 p=1,0000 p₁=0,0001 p₂=0,0004

Примечание: значимость различий p – с 1-й, p₁ – со 2-й, p₂ – с 3-й группами, тесты Крускала-Уоллиса и Данна

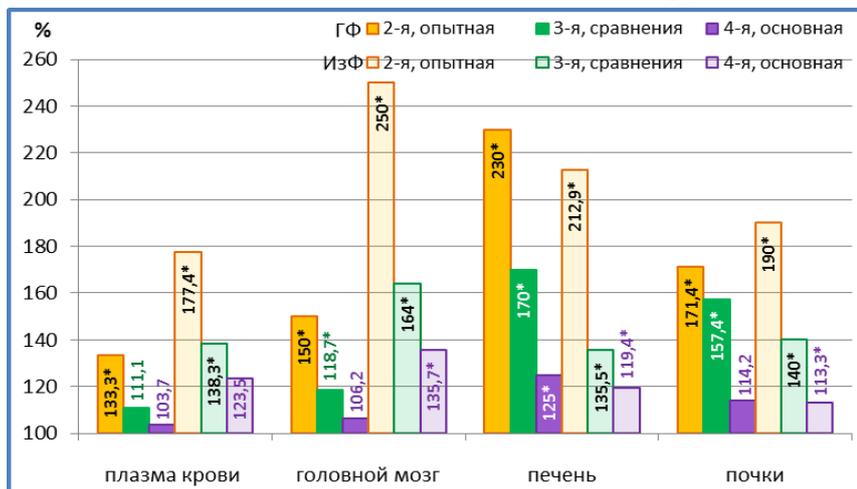


Рисунок 1 – Уровень кетодие-нов и сопряженных триенов в гептановой и изо-пропаноловой фазах липидного экстракта плазмы крови и некоторых тканей крыс с экспериментальным гипотиреозом и при его коррекции йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

ГФ – гептановая фаза, ИзФ – изо-пропаноловая фаза, * – $p < 0,05$ по сравнению с контр. группой

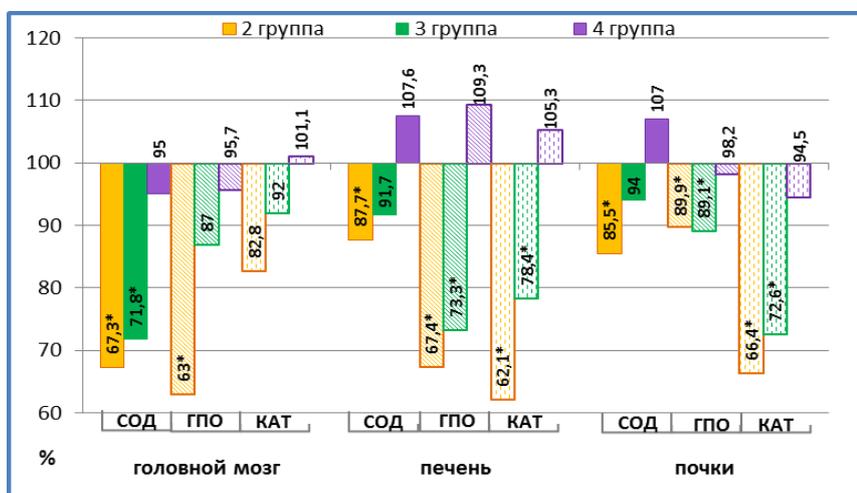


Рисунок 2 – Динамика активности антиоксидантных ферментов в тканях крыс с экспериментальным гипотиреозом при его коррекции йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

* – $p < 0,05$ по сравнению с контр. группой

Изучение показателей развития оксидативного стресса у крыс, находящихся на йодобогатенном питании в восстановительном периоде, обнаружило снижение уровня хемиллюминесценции (Таблица 5), содержания первичных (ДК) и вторичных (КТиСД) продуктов перекисления радикалов жирных кислот в гептановой и изо-пропаноловой фазах (Рисунок 1), ТБК-активных продуктов в плазме крови и тканях по сравнению с аналогичными показателями в группе крыс, получавших общевидовое питание. Кроме того, у крыс на йодобогатенной диете наблюдался статистически значимый более высокий уровень активности антиоксидантных ферментов в тканях, чем у крыс, находившихся в восстановительном периоде только на виварном питании (Рисунок 2).

Второй этап исследования был направлен на изучение влияния экспериментального гипотиреоза, вызываемого введением тиреостатика у родителей, на когнитивную функцию и состояние про-/антиоксидантного баланса в ткани головного мозга у потомства, а также эффективности содержания гипотиреоидных родителей на йодобогатенной диете в восстановительном периоде на эти процессы у потомства животных.

У крысят, рожденных от родителей сразу же после развития экспериментального гипотиреоза, вызванного введением тиамазола, наблюдались отставание в росте, изменения гормонального статуса, когнитивных функций и оксидантно-антиоксидантной системы в тканях головного мозга и печени. У крысят этой группы прирост массы тела в течение трех месяцев был статистически значимо ниже, чем в группе контроля. В двухмесячном возрасте обнаружили повышенный уровень ТТГ, снижение содержания oT_4 , oT_3 и cT_4 (Таблица 6) и индексов конверсии (oT_4/oT_3) и чувствительности тироцитов к ТТГ ($oT_4+oT_3/ТТГ$), что отражало дисфункцию ЩЖ. Полученные результаты не противоречат данным литературы, характеризующим функциональное состояние щитовидной железы у потомства матерей с йододефицитом в периоде гестоза (Белых Н.А., 2017; Zimmermann M.B, 2012).

У крысят 3-й группы сохранялись признаки гипотиреоза, несколько повышенной оказалась концентрация ТТГ, статистически значимо сниженной – секреция тиреоидных гормонов. В основной (4-й) группе крыс, родители которых получали йодсахаридный комплекс, показатели тиреоидной функции не отличались от животных контрольной группы.

Таблица 6 – Содержание в плазме крови гормонов тиреоидной системы у крысят-самцов двухмесячного возраста (потомства крыс с экспериментальным гипотиреозом и с коррекцией гипотиреоза йодсахаридным комплексом), $M \pm \sigma$

Гормоны	Группы животных, n=10			
	1-я, контрольная	2-я, опытная	3-я, сравнения	4-я, основная
ТТГ, мМЕ/л	1,03±0,05	1,41±0,20 p<0,0001	1,15±0,08 p=0,1717 p₁=0,0001	1,07±0,07 p=1,0 p₁=0,0001, p₂=0,9682
oT_4 , нмоль/л	72,2±4,88	62,2±4,82 p=0,0001	70,7±4,00 p=1,0 p₁=0,0001	72,9±3,07 p=1,0 p₁=0,0004, p₂=1,0
oT_3 , нмоль/л	2,39±0,41	2,80±0,22 p=0,1204	2,47±0,41 p=1,0 p ₁ =0,3600	2,46±0,45 p=1,0 p ₁ =0,2952, p ₂ =1,0
cT_4 , пмоль/л	15,2±1,28	13,2±0,81 p=0,0027	13,6±0,90 p=0,0098 p ₁ =1,0	15,2±1,28 p=1,0 p₁=0,0033, p₂=0,0116
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p ₁ – со 2-й, p ₂ – с 3-й группами, ANOVA, тест Бонферрони				

У двухмесячных крысят, рожденных от родителей с мерказолиловым гипотиреозом, были установлены существенные изменения когнитивных функций. У животных данной группы обнаружилось достоверное снижение обучаемости (Рисунок 3). У крысят контрольной и основной групп средние значения времени, затраченного на тестирование в ВРЛ, не различались. Животные опытной группы также выявили худшую обучаемость по показателю среднего балла памяти, зависящего от количества корректных и ошибочных входов в рукава в течение всего обучения (Рисунок 4). Динамика ежедневного обобщенного значения среднего бал-

ла в памяти в фазе тестирования в течение всего периода обучения позволяет анализировать состояние референтной (долговременной) пространственной памяти. У крысят опытной группы выявились наиболее низкие средние баллы памяти. У потомства животных основной группы, находящихся на йодобогатенном питании в восстановительном периоде, показатели не отличались от группы контроля во все дни обучения.

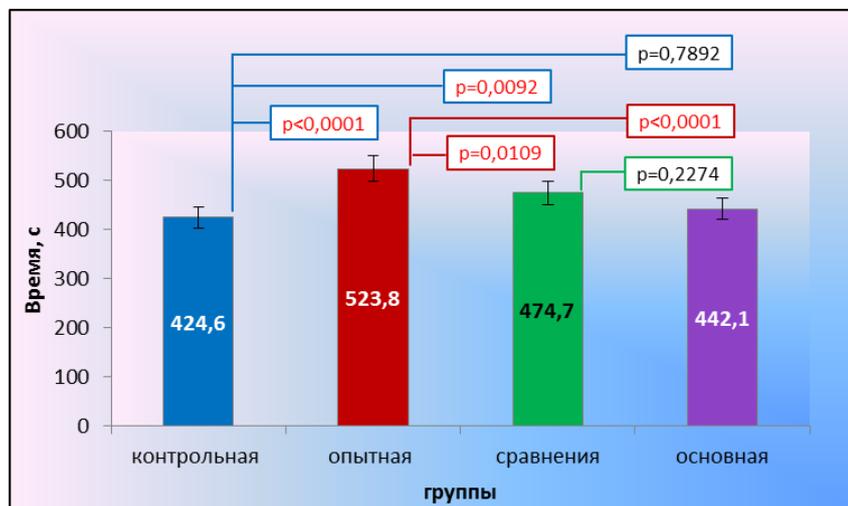


Рисунок 3 – Среднее время, затраченное на завершение фаз тестирования на 2 и 3 этапе теста за весь период обучения в различных экспериментальных группах ANOVA, post-hoc тест Бонферрони

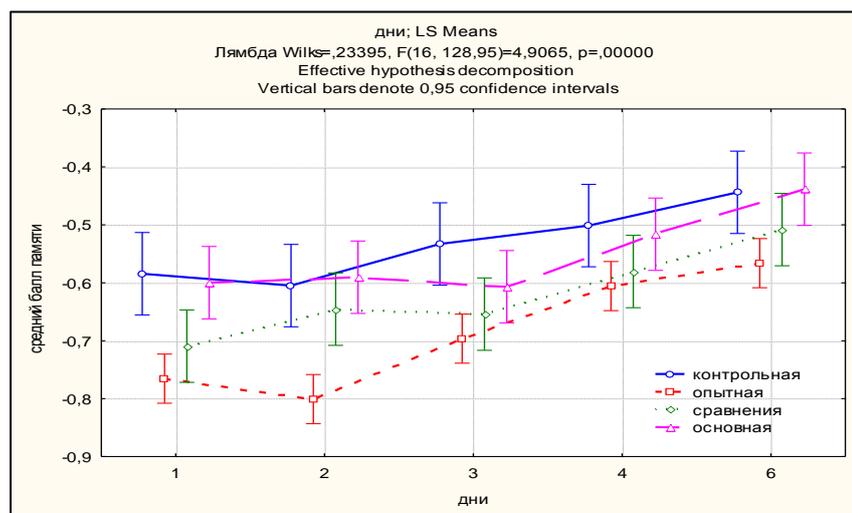


Рисунок 4 – Среднее значение балла памяти в фазе тестирования на 2 и 3 этапе теста за каждый день исследования в различных экспериментальных группах

Анализ поведенческих реакций в тесте «Распознавание новых объектов» показал, что количество горизонтальных локомоций, определенное в открытом поле по количеству пересеченных квадратов в фазе адаптации, не имело статистически значимых различий между группами исследования.

На рисунке 5 представлены результаты однофакторного дисперсионного анализа интегрального расчетного показателя состояния функций памяти – DIR. У потомства крыс, которые после экспозиции мерказолила не получали для коррекции гипотиреоза йодсахаридный комплекс (группа сравнения), в тесте было выявлено полуторакратное снижение показателя кратковременной памяти по сравнению с контрольной группой (DIR=29,22±4,32%, p<0,0001). Результаты теста свидетельствуют и о значительном на-

рушении долговременной памяти: DIR в этой группе был в 3 раза ниже, чем в контрольной ($DIR=15,26\pm 6,87\%$, $p<0,0001$). У крыс 4-ой (основной) группы, являющихся потомством самок, получавших после экспозиции тиреотоксиканта йодсахаридный комплекс, показатель DIR был достоверно ниже, чем в контрольной группе, но выше чем в двух других оппозитных группах в оба дня исследования.

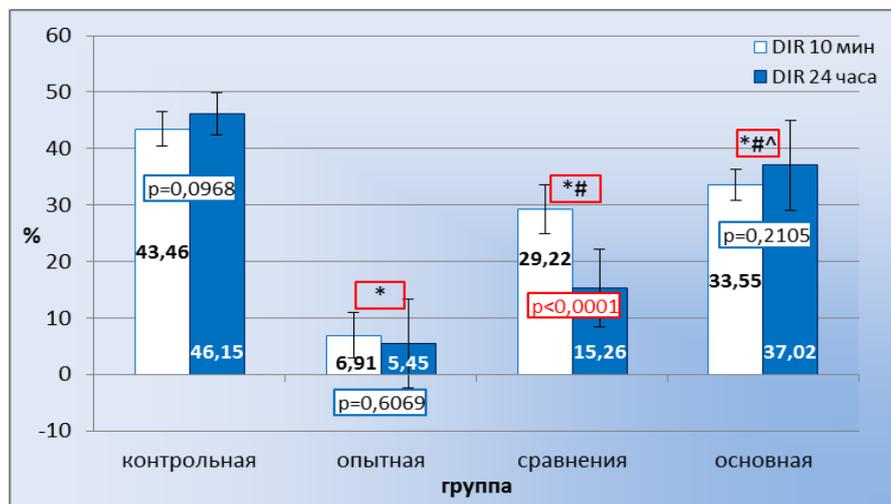


Рисунок 5 – Средние значения дискриминационного времени исследования нового объекта (DIR)

В выводах указана статистическая значимость различий между показателем DIR в первую (через 10 мин) и вторую (через 24 часа) тестовые фазы; * – значимость различий с контрольной, # – с опытной, ^ – с группой сравнения при $p<0,01$. ANOVA, тест Бонферрони

Важно при этом, что отсутствие когнитивных нарушений у крысят этой группы связано с физиологическим уровнем секреции гормонов гипоталамо-тиреоидной оси. Корреляционный анализ уровня ТТГ, йодированных гормонов ЩЖ в плазме крови с показателями пространственного обучения и памяти в тесте ВРЛ выявил наличие статистически значимой зависимости средней силы: положительной с тиреотропином, отрицательной с oT_4 и cT_4 . У потомства крыс 2-й и 3-й групп корреляция показателей когнитивной функции с содержанием ТТГ и ТГ нарушена, а у крысят 4-й группы восстанавливается, но статистически значимо только с тироксином.

Когнитивные нарушения, выявленные у потомства животных, перенесших мерказолиловый гипотиреоз, наблюдались на фоне изменений в состоянии про- и анти-оксидантной систем в тканях головного мозга и печени. У крысят 2-й опытной группы в гептановой и изопропаноловой фазах липидного экстракта выявилось более высокое содержание первичных и вторичных продуктов липопероксидации (Таблица 7). Аналогичные результаты были получены и при исследовании уровня ТБК-активных соединений в плазме крови и тканях. Содержание животных на йодобогатенном питании в восстановительном периоде приводило к нормализации уровня продуктов ПОЛ.

У крысят 2-й группы, рожденных от гипотиреозных родителей, наблюдалось снижение активности основных антиоксидантных ферментов (Рисунок 6). Обращает на себя внимание нарушение соотношения энзимов первой и второй линии антиоксидантной защиты – активность ГПО и каталазы снижается значительно выраже-

нее, чем СОД. Более высокая активность СОД может сопровождаться повышением концентрации H_2O_2 и разрушительным его действием на клетки, учитывая его способность проходить через биомембраны (Дубинина Е.Е., 2006).

Таблица 7 – Содержание продуктов липопероксидации в тканях потомков крыс, перенесших экспериментальный гипотиреоз и его коррекцию йодсахаридным комплексом, $M \pm \sigma$

Ткани	Группа животных, n=10	Показатели, усл. ед.			
		Гептановая фаза		Изопропаноловая фаза	
		ДК	КДиСТ	ДК	КДиСТ
Головной мозг	1-я, контрольная	0,32±0,04	0,19±0,03	0,60±0,06	0,16±0,02
	2-я, опытная	0,43±0,09 p=0,0001	0,22±0,03 p=0,0419	0,82±0,08 p=0,0002	0,23±0,03 p=0,0002
	3-я, сравнения	0,40±0,07 p=0,0004, p₁=0,3641	0,20±0,02 p=0,9371, p₁=0,6634	0,71±0,07 p=0,0012, p₁=0,0014	0,21±0,03 p=0,0002, p₁=0,5923
	4-я, основная	0,33±0,05 p=0,8333 p₁=0,0012, p₂=0,0013	0,19±0,02 p=1,0000 p₁=0,0768, p₂=0,8747	0,62±0,05 p=0,5917 p₁=0,0001, p₂=0,0008	0,18±0,03 p=0,0523 p₁=0,0011, p₂=0,0014
Печень	1-я, контрольная	0,57±0,04	0,29±0,04	0,47±0,05	0,27±0,03
	2-я, опытная	0,71±0,07 p=0,0004	0,42±0,05 p=0,0002	0,61±0,05 p=0,0004	0,36±0,04 p=0,0003
	3-я, сравнения	0,63±0,07 p=0,0459, p₁=0,0016	0,35±0,06 p=0,0015, p₁=0,0324	0,51±0,05 p=0,0022, p₁=0,0036	0,33±0,05 p=0,0003, p₁=0,0439
	4-я, основная	0,60±0,06 p=0,3599 p₁=0,0002, p₂=0,2332	0,30±0,03 p=0,6344 p₁=0,0002, p₂=0,0018	0,49±0,05 p=0,2908 p₁=0,0003, p₂=0,0021	0,30±0,03 p=0,0316 p₁=0,0002, p₂=0,0014

Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p₁ – со 2-й, p₂ – с 3-й группами, ANOVA, тест Бонферрони

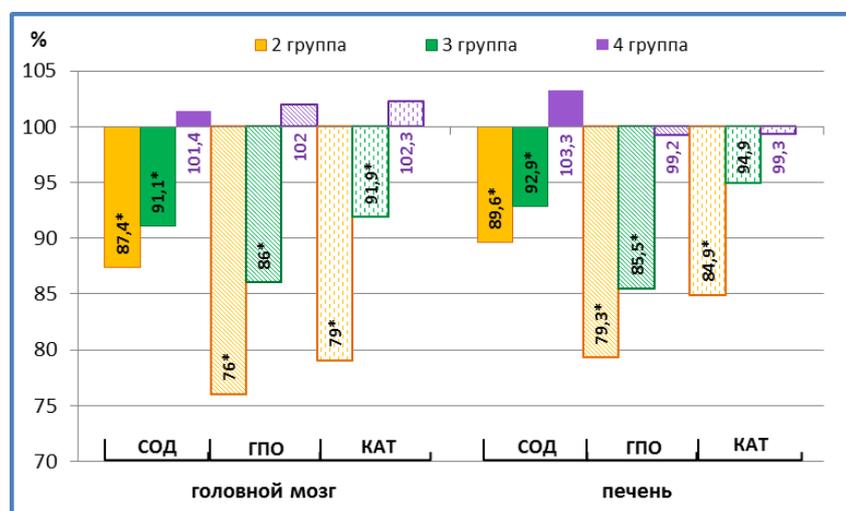


Рисунок 6 – Активность ферментов антиоксидантной защиты в тканях крысят – потомков животных, перенесших экспериментальный гипотиреоз и его коррекцию йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

Примечание: * – p < 0,05 по сравнению с контрольной группой

Корреляционный анализ выявил наличие статистически значимой взаимосвязи между уровнями ТТГ и ТГ в плазме крови с содержанием продуктов ПОЛ в тканях у потомства животных, перенесших гипотиреоз: положительную с ТТГ и отрицательную с oT_4 и sT_4 . Одновременно наблюдались корреляционные связи содержания гормонов тиреоидной системы с активностью СОД, ГПО и каталазы в головном мозге, между показателями когнитивных функций (средний балл памяти в тесте ВРЛ) и содержанием продуктов ПОЛ в ткани головного мозга, а также активно-

стью антиоксидантных ферментов в ткани головного мозга и показателями теста «Распознавание новых объектов» (Таблица 8).

Таблица 8 – Коэффициенты корреляции (r_s) показателей теста «Распознавание новых объектов» с активностью ферментов антиоксидантной защиты в ткани головного мозга у потомства крыс, перенесших экспериментальный гипотиреоз

Ферменты	Время распознавания новых объектов в % ко времени исследования	
	Тестирование через 10 минут	Тестирование через 24 часа
СОД	0,457, $p=0,011$	0,502, $p=0,005$
ГПО	0,651, $p<0,001$	0,729, $p<0,001$
Каталаза	0,560, $p=0,001$	0,645, $p<0,001$

Полученные результаты демонстрируют снижение показателей когнитивного развития потомства, рожденного матерями с гипофункцией щитовидной железы, свидетельствующие о негативном влиянии йодного дефицита на тканевой метаболизм плода, вероятно, обуславливая морфологические изменения основных структур головного мозга на этапах дифференцировки и созревания, которые трансформируются в нарушения интеллектуального и физического развития потомства с изменением окислительного метаболизма (Рисунок 7).

Тридцатидневный восстановительный период с содержанием животных на общевиварном питании до спаривания и гестации у самок не приводит у потомства к полному восстановлению тиреоидной функции. Сохранение даже невыраженной дисфункции щитовидной железы сопровождается изменениями кратковременной и долговременной памяти у крысят с продолжающимся дисбалансом оксидантной и антиоксидантной систем в головном мозге и других тканях (печень). Эти результаты подтверждают имеющиеся в литературе данные о том, что сохранение в периоде гестации йододефицита с гипофункцией щитовидной железы даже в легкой форме, что наблюдалось у родителей данной группы крысят, негативно отражается на когнитивной функции мозга потомства (Якутхонов О.Х., 2018).

Содержание животных с экспериментальным гипотиреозом в восстановительном периоде на общевиварном питании с добавлением нового йодсахаридного комплекса в виде йодстевиолгликозида ребаудиозида А до спаривания и наступления беременности привело у потомства к восстановлению до физиологического уровня гормонов гипофизарно-тиреоидной оси, когнитивных функций и про-/антиоксидантного баланса в тканях.

Полученные результаты указывают на безопасность и эффективность применения вновь синтезированного йодсахаридного комплекса и вселяют оптимизм в процесс дальнейшей разработки нового средства для компенсации йододефицита. Кроме того, они подтверждают имеющиеся в литературе данные о необходимости адекватного йодного обеспечения родителей в периоде зачатия и гестации для полноценного интеллектуального и физического развития потомства. Вместе с тем ме-

ханизмы нейрофизиологических и биохимических эффектов тиреоидных гормонов на определенные морфологические структуры головного мозга требуют дальнейшего изучения, однако очевидно, что одним из патогенетических механизмов их влияния на ткани взрослых особей и их потомства является нарушение окислительного баланса с развитием оксидативного стресса.

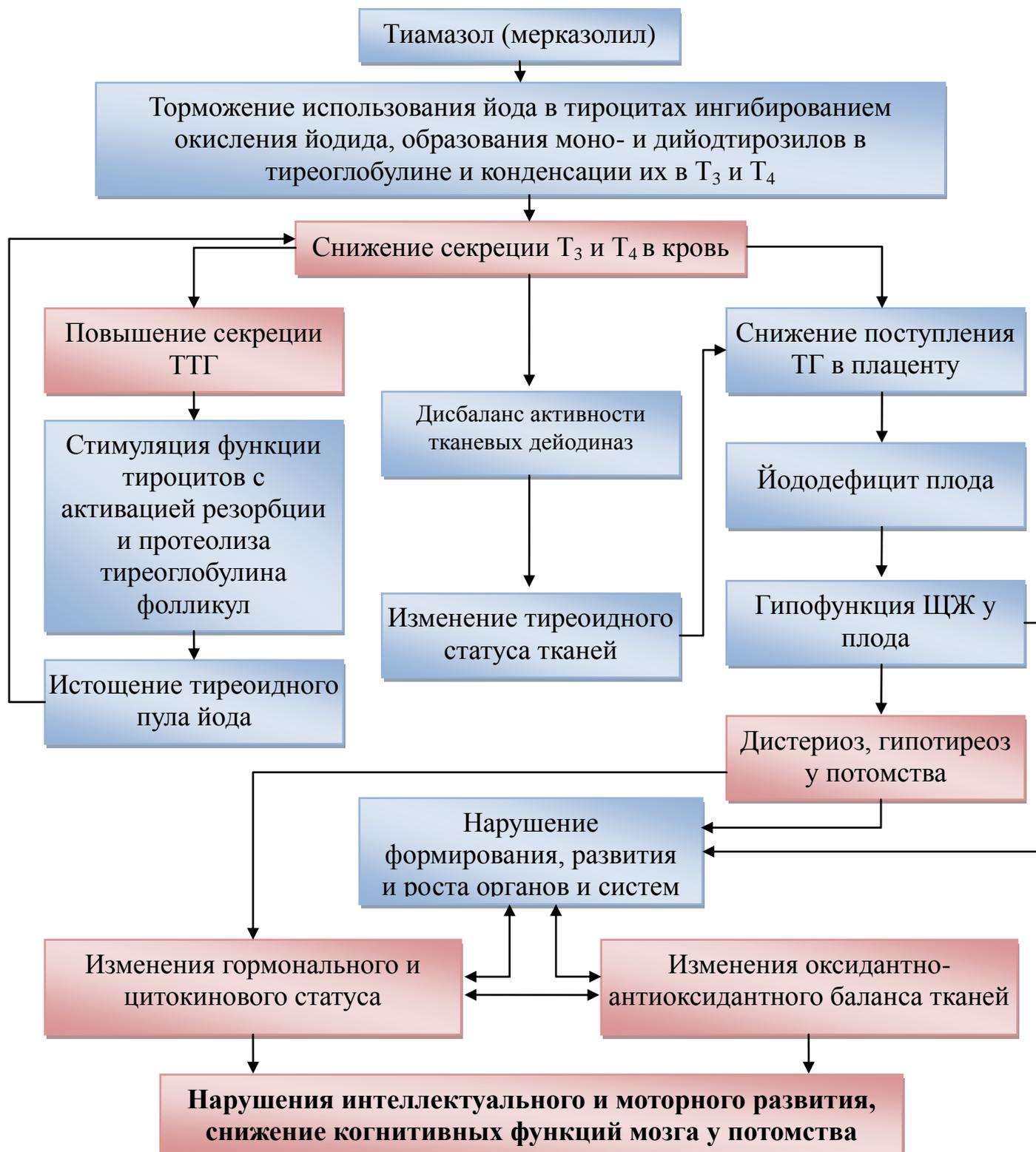


Рисунок 7 – Схема патогенеза развития когнитивных нарушений у потомства животных, перенесших экспериментальный мерказолиловый гипотиреоз (результаты, полученные автором, заключены в красную рамку)

ВЫВОДЫ

1. Моделирование гипотиреоза ежедневным внутрижелудочным введением тиамазола сопровождается изменениями содержания в плазме крови животных гормонов системы гипофиз-гонады, паращитовидных желез, усилением продукции провоспалительных цитокинов – ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α . У самцов крыс наблюдается снижение уровня тестостерона, повышение секреции лютеинизирующего, фолликулостимулирующего и паратиреоидного гормонов, содержание кортикостерона не претерпевает изменений.

2. Экспериментальный гипотиреоз приводит к развитию окислительного стресса. В тканях головного мозга, печени и почек наблюдаются усиление хемилюми-несценции, повышение уровня первичных (диеновые конъюгаты) и вторичных (кетодиены и сопряженные триены, ТБК-активные соединения) продуктов, снижение активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы.

3. Йодообогащение питания животных с гипотиреозом ежедневным добавлением в корм нового йодсахаридного комплекса на основе стевиолгликозида ребаудиозида А в течение месяца после прекращения введения тиреостатика способствует восстановлению гормонального статуса и цитокинового баланса на фоне нормализации функционального состояния щитовидной железы, показателей оксидантно-антиоксидантной системы в тканях.

4. Развитие экспериментального гипотиреоза у животных вызывает у потомства нарушения когнитивной функции мозга, снижая показатели референтной и оперативной памяти в тестах «Восьмирукавный радиальный лабиринт» и «Распознавание нового объекта» на фоне нарушений тиреоидного гормоногенеза и явлений дистиреоза, а также окислительного метаболизма в тканях головного мозга и печени. При этом выявляется статистически значимая корреляционная зависимость между содержанием в крови ТТГ, oT_4 и sT_4 с уровнем первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов и активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы) в тканях головного мозга и печени, между показателями когнитивной функции с нарушениями кратковременной и долговременной памяти с повышением в ткани головного мозга уровня липопероксидации и снижением активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы.

5. Ежедневное введение родителям йодсахаридного комплекса на основе стевиолгликозида ребаудиозида А в течение 30 суток восстановительного периода после завершения экспозиции тиреотоксикантом демонстрирует у потомства животных улучшение когнитивного развития, восстановление тиреоидного статуса, окислительного баланса в тканях головного мозга и печени.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Алмакаева, Л. Ф.** Динамика поведенческих паттернов в условиях экспериментального йододефицита / Л. Ф. Алмакаева, Г. А. Байбурина, Т. И. Ганеев // Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: материалы VII Междунар. научно-практ. конференции ; под ред. Д. З. Шибковой, П. А. Байгужина (Челябинск, 11–13 октября 2018 г.) – Челябинск: Изд-во ЮУрГГПУ, 2018. – С. 156–158.
2. Эффективность применения йодополисахаридного комплекса в восстановительном периоде на процессы свободнорадикального окисления в тканях крыс при экспериментальном гипотиреозе / **Л. Ф. Алмакаева**, В. Н. Козлов, Е. Е. Пономарев, Г. А. Байбурина, Ф. Х. Камилов // Здоровье человека в XXI веке : XI Всеросс. науч.-практ. конференция с междунар. участием : сборник научных статей (Казань, 29-30 марта 2019 г.) ; под общей ред. С. С. Ксембаева. – Казань: МедДок, 2019. – С. 229–234.
3. Окислительный баланс в ткани головного мозга при экспериментальном гипотиреозе и влияние йодополисахаридного комплекса / **Л. Ф. Алмакаева**, Г. А. Байбурина, В. Н. Козлов, Р. Р. Максютов // Медицинская биохимия - от фундаментальных исследований к клинической практике. Традиции и перспективы : сборник науч. трудов Всероссийской научно-практ. конференции с междунар. участием, посвященной 90-летию профессоров А.Ш. Бышевского и Р.И. Лифшица (Тюмень, 24-26 октября 2019 г.). – Тюмень, 2019. – С. 10–13.
4. Рахматуллина, Л. Ф. Механизмы десинхронизации циркадианных ритмов теплопродукции в экспериментальной патологии / **Л. Ф. Рахматуллина**, В. Н. Байматов, В. Н. Козлов // Интеграция образования, науки и производства : сборник материалов 10 Международной науч.-практ. конференции (Мелеуз, 17 апреля 2020 г.). – Уфа, 2020. – С. 129–133.
5. **Рахматуллина, Л. Ф.** Активность антиоксидантных ферментов в тканях крыс при экспериментальном гипотиреозе и влияние йодополисахаридного комплекса / Л. Ф. Рахматуллина, Г. А. Байбурина, Ф. Х. Камилов // Здоровье человека в XXI веке: XII Всеросс. науч.-практ. конференция с междунар. участием : сборник научных статей (Казань, 28-29 октября 2020 г.) ; под общей ред. С. С. Ксембаева. – Казань: МедДок, 2020. – С. 259–262.
6. Действие йодстевиолгликозида ребаудиозид «А» на про- и антиоксидантную системы тканей при экспериментальном гипотиреозе / **Л. Ф. Рахматуллина**, В. Н. Козлов, Г. А. Байбурина, Д. Э. Байбурина, Ф. Х. Камилов. – DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-4-299-312. – Текст : электронный // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2020. – Том 17, № 4. – С. 299–312. – URL: <http://vestnikural.ru/article/deystvie-yodsteviolglikozida-rebaudiozid-%C2%ABa%C2%BB-na-pro--i-antioksidantnuu-sistemy-tkaney-pri-eksperimentalnom-gipotireoze> (дата обращения: 28.06.2021).
7. Перекисное окисление липидов в тканях крыс с экспериментальным гипотиреозом и коррекцией гипотиреоза йодстевиолгликозидом / **Л. Ф. Алмакаева**, В. Н. Козлов, Г. А. Байбурина, Ф. Х. Камилов. – DOI 10.17513/spno.30556. – Текст : электронный // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 2. – URL: <http://science->

education.ru/ru/article/view?id=30556 (дата обращения: 28.06.2021).

8. Влияние йодсывестиолгликозида на гормональный статус и уровень провоспалительных цитокинов при экспериментальном гипотиреозе / Л. Ф. Алмакаева, Г. А. Байбурина, Ф. Х. Камилов, Д. Ю. Гребнев // Медицинская наука и образование Урала. – 2021. – Т. 22, № 1(105). – С. 14–19.
9. Референтная и оперативная пространственная память потомства крыс с мерказолиловым гипотиреозом и коррекцией гипотиреоза йодсахаридным комплексом / Л. Ф. Алмакаева, Г. А. Байбурина, Д. Э. Байбурина, Ф. Х. Камилов, Д. Ю. Гребнев // Медицинский вестник Башкортостана. – 2021. – Т. 16, № 2(92). – С. 46–51.
10. Рахматуллина, Л. Ф. Морфофункциональные изменения при коррекции экспериментального гипотиреоза йодсахаридным комплексом / Л. Ф. Рахматуллина, Д. Ю. Гребнев, В. Н. Козлов // Интеграция образования, науки и производства: сборник материалов 11 Международной науч.-практ. конференции (Мелеуз, 22 апреля 2021 г.). – Уфа, 2021. – С. 67–72.
11. Йододефицитные состояния: причины, генез, эффективность профилактики: монография / Ф. Х. Камилов, В. Н. Козлов, Е. В. Кузнецова, Е. Е. Пономарев, Г. А. Байбурина, Г. В. Иванова, Р. Р. Юнусов, Л. Ф. Рахматуллина, Г. М. Абдуллина. – Санкт-Петербург : Дитон-Арт, 2021. – 256 с.

ПАТЕНТЫ

1. Патент № 2716971 Российская Федерация, МПК А23L 33/125 (2016.01), А23L 33/16 (2016.01). Йодсодержащая биологически активная добавка к пище : № 2019100308 : заявл. 09.01.2019 : опубл. 17.03.2020. / Камилов Ф. Х., Конкина И. Г., Муринов Ю. И., Иванов С.П., Байбурина Г. А., Козлов В. Н., Братишко А. А., Максютлов Р. Р., Алмакаева Л. Ф., Ганеев Т. И., Юнусов Р. Р., Аверьянов С. В. – 5 с.

2. Патент № 2717045 Российская Федерация, МПК А23L 33/125 (2016.01), А23L 33/16 (2016.01). Способ получения йодсодержащей биологически активной добавки к пище : № 2019100309 : заявл. 09.01.2019 : опубл. 17.03.2020. Бюл. № 8 / Камилов Ф. Х., Конкина И. Г., Муринов Ю. И., Иванов С. П., Иванова Г. В., Кузнецова Е. В., Одиноква Е. В., Пономарева Л. Ф., Алмакаева Л. Ф., Ганеев Т. И., Юнусов Р. Р. – 10 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВРЛ – восьмирукавный радиальный лабиринт

ГПО – глутатионпероксидаза

ДК – диеновые конъюгаты

ИЛ – интерлейкин

КД – кетодиены

ЛГ – лютеинизирующий гормон

оТ₃ – общий трийодтиронин

оТ₄ – общий тироксин

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПТГ – паратиреоидный гормон

СОД – супероксиддисмутаза

СРО – свободнорадикальное окисление

СТ – сопряженные триены

сТ₄ – свободный тироксин

ТБК – тиобарбитуровая кислота

ТГ – тиреоидные гормоны

ТТГ – тиреотропный гормон

ФНО – фактор некроза опухолей

ЩЖ – щитовидная железа

DIR – дискриминационное время исследования нового объекта

Алмакаева Лилиана Фавадисовна

КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ БАЛАНС У ПОТОМСТВА
КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОТИРЕОЗЕ С КОРРЕКЦИЕЙ
ЙОДСАХАРИДНЫМ КОМПЛЕКСОМ

3.3.3. Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Автореферат напечатан по разрешению диссертационного совета 21.2.074.03
ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России от 27.08.2021 г.

Подписано к печати 27.08.2021 г.

Отпечатано на цифровом оборудовании с готового оригинал-макета, представленного авторами.
Формат 60×84 1/16. Усл.-печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № 223.
450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3, Тел.: (347) 272-86-31
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России