

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

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

Диссертация
на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
д.м.н., доцент Гребнев Д.Ю.
д.м.н., профессор, Заслуженный деятель
науки РФ и РБ Камилов Ф.Х.

Екатеринбург – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Роль йода в функционировании щитовидной железы	12
1.2 Эффекты тиреоидных гормонов.....	15
1.3 Йододефицитные заболевания.....	20
1.4 Гипотиреоз как фактор риска развития патологии органов и систем организма	23
1.5 Вопросы профилактики йододефицитных заболеваний.....	31
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	36
2.1 Объекты и дизайн исследования	36
2.2 Методы исследования.....	39
2.2.1 Изучение когнитивных функций.....	39
2.2.1.1 Тест «Восьмирукавный радиальный лабиринт».....	40
2.2.1.2 Тест «Распознавание новых объектов».....	44
2.2.2 Изучение содержания гормонов и цитокинов	46
2.2.3 Изучение свободнорадикальных процессов.....	47
2.2.4 Определение активности антиоксидантных ферментов.....	49
2.3 Статистическая обработка результатов исследования.....	52
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	54
3.1 Гормональный статус, про- / антиоксидантная система при экспериментальном гипотиреозе и его коррекции новым йодсахаридным комплексом	54
3.1.1 Гормональный статус экспериментальных животных.....	54
3.1.2 Интенсивность процессов свободнорадикального окисления в тканях...	64
3.1.3 Активность ферментов антиоксидантной защиты	76
3.2 Когнитивная функция и окислительный баланс у потомства животных с экспериментальным гипотиреозом и его коррекции йодсахаридным комплексом	79

3.2.1 Изменения массы тела крысят	80
3.2.2 Характеристика тиреоидного статуса	81
3.2.3 Оценка когнитивной функции крысят по состоянию пространственного обучения и памяти.....	86
3.2.4 Интенсивность процессов перекисного окисления липидов в тканях головного мозга и печени крысят.....	99
3.2.5 Активность антиоксидантных ферментов.....	104
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	109
ВЫВОДЫ	129
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	131
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	133

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Общая заболеваемость субклиническим и другими формами гипотиреоза среди жителей Земли колеблется от 1,2% до 15%. Показатель распространенности заболевания в России, Европе и США находится в пределах 4,5-5,0%. 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 [72, 82].

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 [19, 129]. Гипотиреоз часто обусловлен эндемической недостаточностью йода. Около 2 млрд. человек на Земле живут в условиях природной недостаточности йода, у 740 млн. отмечается увеличение щитовидной железы (ЩЖ), у 45 млн. – регистрируется умственная отсталость [181].

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 [75].

Эндемический зоб в значительной мере выявляется в Чувашской Республике, Республике Дагестан, Республике Крым, Алтайском, Байкальском и Приморском краях, Заполярье, Брянской области и других регионах РФ [45, 56, 79, 82, 92, 108].

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 [157].

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 [17, 36]. Нервно-психические расстройства при гипотиреозе развиваются и в зрелом возрасте [19, 67, 130, 159]. При этом выявляются снижение когнитивных функций разной степени выраженности, а также аффективные расстройства с доминированием депрессии [46, 50, 95, 163].

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 [46, 72]. При этом одни авторы отводят ведущую роль истощению системы антиоксидантной защиты с активацией свободнорадикальных процессов [54, 74, 83, 90, 141, 144, 155, 169]. 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 [24, 39]. 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 [26, 107], а также роли свободнорадикального окисления (СРО) в мозге и периферических тканях в процессах реализации адаптационно-

компенсаторных реакций при гипоксии и других стресс-ситуациях [7, 14, 67, 84, 155].

Ликвидацию гипотиреоза, эндемического зоба и других йододефицитных заболеваний в эндемичных территориях Всемирная организация здравоохранения 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 [77], однако в России распространенность йододефицитных заболеваний сохраняется. Так, по данным исследований Степановой Е.М. и соавт. [73], в г. Уфа лишь 37% семей употребляют в пищу йодированную соль, и значительная часть населения региона проживает в условиях некомпенсированного йододефицита. Распространенность дефицита йода среди взрослого населения Башкортостана согласно уровню йодурии достигает 60%, а медиана йодурии составляет 75,5 мкг/л [2].

Несмотря на простоту и эффективность использования йодированной соли для компенсации недостаточности этого микроэлемента, нередко наблюдается развитие индуцированного йодом гипотиреоза и гипертиреоза, и/или зоба [118, 146, 178, 220, 226]. С целью предотвращения побочных эффектов использования йодированной соли стали применять йодирование продуктов повседневного спроса: брикетированного чая, сахара, хлеба, молочных продуктов [61, 109, 154, 159], 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 180-240 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 стевиолгликозида 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 свободнорадикальных 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 с нарушением секреции гонадотропинов, гормонов половых и околощитовидных желез, повышением 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 дисфункции 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 ребаудиозида 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 итоговой молодежной научной конференции «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, 2019), на международной научно-практической конференции «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» (Челябинск, 2018), 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. Традиции и перспективы», 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 Камиловым 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 диссертации состоялась на заседании кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 18 от 10.05.2021 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Основные положения, разработанные в диссертации, используются в учебном процессе кафедр патологической физиологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России и ФГБОУ ВО УГМУ 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, опубликованные в бюллетене ФИПС «Изобретения. Полезные модели», 6 работ опубликованы в материалах конференций.

Структура и объем 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 отечественных и 116 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 26 рисунками и 26 таблицами.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Роль йода в функционировании щитовидной железы

Йод относится к жизненно необходимым микроэлементам. Источником йода для организма человека являются морепродукты, питьевая вода и пищевые продукты, содержание биоэлемента в которых значительно варьирует. В физиологических условиях организм взрослого человека содержит 15-20 мг йода, половина которого находится в щитовидной железе (ЩЖ) [94]. Йод в организме участвует в биосинтезе и включается в структуру тиреоидных гормонов, вследствие этого щитовидная железа находится в исключительной зависимости от поступления йодида с пищей, кроме того, йод концентрируется и во внещитовидных тканях, где его биологическая функция практически не изучена [176]. Клиренс йодида у человека практически не зависит от концентрации в плазме крови, и суммарная экскреция йодида с мочой фактически равна всасыванию в желудочно-кишечном тракте, поэтому выраженность йодурии наиболее адекватно отражает обеспеченность организма йодом.

Перенос йодида в эпителий фолликул ЩЖ осуществляется специфическим транспортным белком, который локализован на базолатеральной мембране клетки, называется транспортёром для симпорта йодида натрия (Na/I-symporter, NIS), и его активность регулируется тиреотропным гормоном. Благодаря активному транспорту, концентрация свободного йода в ЩЖ поддерживается в 35-40 раз выше, чем в плазме крови. В клетке эпителия фолликула йодид окисляется с помощью тиреопероксидазы и системы генерации пероксида водорода, двойственной оксидазы 1 (DUOX 1) и 2 (DUOX 2), вспомогательного белка (DUOXA2), далее с участием транспортного белка пендрина, располагающегося на апикальной мембране фолликулярной клетки, поступает в полость фолликула и присоединяется к радикалам тирозина в составе тиреоглобулина с образованием монойодтирозина (МИТ) и дийодтирозина (ДИТ) [35, 129]. Йодирование тиреоглобулина осуществляется у апикальных

микроворсинок фолликулярных клеток, где сконцентрированы пендрин и тиреопероксидаза. В последующем происходит образование йодтиронинов: трийодтиронина (T_3) или тетрайодтиронина (тироксина, T_4) в результате конденсации двух йодтирозиловых остатков в составе тиреоглобулина. Конденсация молекул йодтиронинов в составе тиреоглобулина также осуществляется с участием пероксида водорода, образуемого НАДФ-зависимой редуктазой. При секреции T_3 и T_4 тиреоглобулин, запасаемый в фолликуле в виде коллоида, путем эндоцитоза в специфической сети микротрубочек поступает в фолликулярную клетку и подвергается расщеплению лизосомальными ферментами (катепсинами L, B, D и дипептидазами I и II). Свободные T_3 и T_4 секретируются в кровь, а негормональные МИТ и ДИТ подвергаются дейодированию йодтирозиндейодиназой. Образовавшиеся при этом молекулы тирозина и йодида вновь вовлекаются в синтез тиреоглобулина (внутриклеточный оборот йода), предотвращая потери йода в результате экскреции МИТ и ДИТ с мочой [101]. Пул йода ЩЖ характеризуется крайне медленным оборотом, приблизительно 1% в сутки.

Прогрессивный рост содержания йодида в плазме крови вызывает внезапное краткосрочное снижение его транспорта и органификации в ЩЖ (эффект Вольфа-Чайкова), связанного с ингибированием NIS и аденилатциклазы [35, 77]. Ингибируя внутриклеточную передачу регуляторных сигналов ТТГ аденилатциклазной системой, а также системой Ca^{2+} -фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата, йодид включает петлю отрицательной обратной связи, модулируя реакцию ЩЖ. С увеличением количества йода в ЩЖ его органификация вначале увеличивается, а затем уменьшается. Кроме того, *in vitro* показано, что йодид ингибирует различные метаболические процессы в эпителиальных клетках фолликул ЩЖ [130].

В физиологических условиях ЩЖ продуцирует T_4 и T_3 в соотношении 20-15:1, при йододефиците образование МИД значительно больше, чем ДИТ и, как результат, при конденсации йодотирозиловых радикалов продукция T_3 становится больше.

В крови T_3 и T_4 транспортируются в связанном с белками форме (тиронинсвязывающий белок – около 75%, тироксинсвязывающий преальбумин – около 15-20%, альбумин и др.), лишь менее 0,05% гормонов находится в свободном состоянии. При этом свободная форма T_3 в крови выше, чем T_4 . Йодтиронины отличаются и длительностью периода полужизни: $T_{1/2}$ у T_4 составляет 7-9 суток, у T_3 – 2 суток. Проникать в клетки и оказывать метаболические эффекты способны только свободные T_3 и T_4 , их белковосвязанные формы в крови служат источником свободных гормонов и играют важную роль в определении тиреоидного статус [35].

Йодированные гормоны поступают в клетки периферических тканей с помощью энергозависимых транспортеров: специфического – MCT8 и неспецифических – LAT1, LAT2, T-MCT8, MCT10 – переносчиков [166]. Превращения йодтиронинов в тканях связаны с процессами дейодирования, T_4 при этом считается прогормоном и в клетке превращается в T_3 . Ферменты дейодирования установлены во всех тканях и субклеточных структурах. Выделены 3 типа тирониндейодиназ. Все они в активном центре содержат селенистеин. Тип Д1 отщепляет от T_4 йод в положениях 5 и 5', находится преимущественно в мозге, печени, почках, ЩЖ. Его активность увеличивается при гипотиреозе, что способствует поддержанию уровня T_3 при низком содержании в плазме крови T_4 , поскольку превращает T_4 в активный T_3 , а неактивный реверсный T_3 (rT) – в 3,3'-дийодтиронин. Избыток йодтиронинов повышает, а недостаток их снижает активность Д1 [35].

Тип Д2 отщепляет йод в положении 5' (внешнее кольцо), выделен из тканей бурого жира, мозга, гипофиза, плаценты, сердечной и скелетной мышц, костной ткани. В отличие от дейодиназы типа Д1 снижение концентрации йодтиронинов увеличивает, а повышение – ингибирует активность типа Д2. Этот изофермент обладает более высоким сродством к T_4 и rT $_3$ и играет основную роль в поддержании внутриклеточного содержания T_3 . Дейодиназа типа Д3 удаляет йод в положении 5 внутреннего кольца T_3 и T_4 и является ферментом их инактивации, обладающим более высоким сродством к T_3 , чем к T_4 . Она наиболее активна в

мозге, плаценте и коже, ее активность увеличивается при избытке йодтиронинов и снижается при их недостаточности. Около 20% T_3 поступает из ЩЖ, остальное образуется в результате превращения T_4 в T_3 [202].

Основным регулятором функции, метаболизма, роста и кровоснабжения ЩЖ является ТТГ, биологическая активность которого связана с β -субъединицей.

Секреция ТТГ находится под двойным контролем: гипоталамического тиролиберина (TRH) и тиреоидных гормонов периферической крови. TRH стимулирует синтез и секрецию ТТГ, а также пролактина. Эффекты TRH на тиреотрофные клетки гипофиза реализуются с участием инозитолтрифосфата и диацилглицерола [94]. Тормозящее действие тиреоидных гормонов по принципу обратной связи осуществляется в основном на уровне гипофиза, но и на уровне паравентрикулярных ядер гипоталамуса, включает снижение транскрипции генов α - и β -субъединиц ТТГ, а также гена TRH. ЩЖ в определенной степени обладает способностью к ауторегуляции в отношении транспорта йодидов NIS и их органификации, т.к. содержит запас тиреоидных гормонов в виде пула тиреоглобулина [35].

1.2 Эффекты тиреоидных гормонов

В отличие от большинства гормонов, которые, как правило, представляют собой специализированные молекулы, регулирующие метаболизм определенных клеток, тканей и систем, йодированные тиреоидные гормоны (ТГ) являются плеiotропными пептидами. Характерные для ТГ биологические эффекты опосредуются взаимодействием T_3 со специфическими ядерными рецепторами, обнаруживаемыми в большинстве тканей [218]. Рецепторы йодированных гормонов ЩЖ обладают высокой специфичностью и аффинностью к T_3 (10^{-10} - 10^{-11} М), в то время как сродство к T_4 примерно в 15 раз меньше. Выявлено 4 типа рецепторов – $T_3R_{\alpha_1}$, $T_3R_{\alpha_2}$, $T_3R_{\beta_1}$ и $T_3R_{\beta_2}$, которые кодируются разными генами: α рецепторы геном THRA (c-erbA α), расположенном на хромосоме 17, β рецепторы – геном THRB (c-erbA β), находящимся на хромосоме 3. Рецепторы прочно

связаны с кислыми негистоновыми ядерными белками, взаимодействуют с T_3 -чувствительными элементами, представляющие собой специфическую последовательность ДНК в промоторной области гена, с участием особых внутриядерных белков (корепрессоров и коактиваторов), вызывая усиление или подавление транскрипцию гена-мишени. $TR\beta$ превалирует в гипоталамо-гипофизарной области, печени, почках, $TR\alpha$ – в сердце, мозге, скелетных мышцах, кишечнике, костной ткани [62]. В условиях гипотиреоза гены, T_3 -чувствительные элементы которых обладают высоким средством к T_3 -рецептору, могут быть репрессированы корецептором, поскольку в отсутствии гормона корецептор связывается с рецептором и опосредует ингибирующее действие TR на транскрипцию гена.

Рецепторы T_3 помимо гомодимеров часто формируют гетеромеры с ретиноидным X рецептором (RXR). Нелигандный RXR-TR гетеродимер связывает элементы тиреоидного ответа и вызывает транскрипционную репрессию через комплекс гена-рецептора или подавляет медиаторы рецепторов ретиноевой кислоты и TR-SMRT белков, которые обладают активностью гистон деацетилазы. Модифицирующие влияние в отношении действия T_3 на гены по пути включения транскрипции имеет ряд тканеспецифических факторов [101].

Влияние T_3 на экспрессию отдельных генов может быть прямым и опосредованным. Наличие в гене T_3 -чувствительного элемента считается доказательством возможности прямого влияния. Присутствие T_3 -чувствительного элемента обнаружено во многих генах, например, генах гормона роста, β -субъединицы ТТГ, α -глицеролфосфатдегидрогеназы, фосфоенолпируват-карбоксикиназы, ацетил-КоА-карбоксилазы, ферментов синтетазного комплекса жирных кислот и др. ТГ обладают и посттранскрипционным механизмом действия, стабилизируя матричные РНК, например, печеночной триацилглицероллипазы, малик-фермента, аполипопротенов, Na^+/K^+ -АТФ-азы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и др. [101].

По физиологическим эффектам ТГ можно рассматривать как тканевые факторы роста. Дифференцирующее и морфогенетическое действие ТГ

сказывается в периоде роста и развития организма, особенно нервной системы. Тяжелая недостаточность ТГ в детском возрасте проявляется кретинизмом, характеризуется задержкой умственного развития и линейного роста [17].

ТГ обладают значительным спектром действия, влияя на метаболизм широкого диапазона типов клеток в большинстве тканей и различных систем. Их эффекты опосредуются изменением концентрации и активности ферментов, рецепторов; метаболизма субстратов, витаминов и неорганических веществ; функции других эндокринных систем и цитокинов [101].

ТГ стимулируют основной обмен, усиливают потребление кислорода тканями и повышает температуру тела. Калоригенный эффект йодтиронинов связан с усилением синтеза специфических факторов разобщения окислительного фосфорилирования в митохондриях – рассопрягающих белков (UCP-1, UCP-2, UCP-3, UCP-4 и VMCP1 (UCP5), а также интенсификацией в тканях энергозатратных процессов (работа ионных насосов, биосинтез белков, метаболизм углеводов, липидов) [35].

Выраженное снижение тканевого дыхания при гипотиреозе сопровождается угнетением активности окислительных процессов цикла трикарбоновых кислот: изоцитрат-, сукцинат- и малатдегидрогеназ. Введение тироксина приводило в этих условиях к повышению активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в тканях, чувствительных к действию гормона: в сердце, печени и почках. Данный эффект T_4 связан с новообразованием белков, ибо стимулирующий эффект гормона снимался ингибитором синтеза белка – циклогексимином. Удаление щитовидной железы приводило к падению уровня флавинадениндинуклеотида (ФАД), а введение ТГ в этих условиях восстанавливало нормальную концентрацию НАД и ФАД [101]. При экспериментальном гипотиреозе, вызванном введением мерказолила, в печени крыс наблюдалось резкое снижение активности НАД-зависимой малатдегидрогеназы, в то время как ФАД-зависимая активность СДГ повышалась, а НАДФ-зависимая активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы не претерпевала заметных изменений [59].

Нарушения функционального состояния ЩЖ сопровождаются также сдвигами в системе окислительного гомеостаза. Данные о влиянии йодированных гормонов ЩЖ на процессы свободнорадикального окисления (СРО) весьма неоднозначны и позволяют отнести ТГ как к анти-, так и прооксидантам. И дефицит и избыток ТГ сопровождается интенсификацией СРО. Тиреоидные гормоны могут стимулировать выработку активных форм кислорода и изменять антиоксидантные механизмы [54, 74, 83, 90, 128, 141, 144, 169, 205]. При обсуждении механизмов развития окислительного стресса дискутируются влияние ТГ на окислительно-восстановительные процессы и их способность модулировать митохондриальную функцию и изменение уровня и активности прооксидантов, развитие и выраженность свободнорадикальных процессов, изменения насыщенности жирных кислот, как основных объектов СРО липидных компонентов биологических мембран, изменения уровня рецепторов и повышение их чувствительности к катехоламинам и др. [83, 136, 141, 205, 207, 211]. Не исключается, что дисбаланс в системе про- / антиоксиданты при дисфункции ЩЖ связано с развитием недостаточности антиоксидантной защиты [90, 169, 205, 209].

Имеются данные и об антиоксидантном действии ТГ и активации ПОЛ при гипотиреозе [5, 58]. Активация ПОЛ выявляется при медикаментозном подавлении функции ЩЖ со снижением уровня T_3 и T_4 в кровотоке [209]. Отмечено наличие доза-эффект зависимости системы тиреоидин-липопероксидация. Низкие дозы тиреоидина у крыс ингибируют на 50-120% накопление в плазме крови и миокарде продуктов ПОЛ, повышая активность показателей антиоксидантной системы. Под влиянием ТГ при действии стрессоров различной природы повышается активность супероксиддисмутазы, каталазы, увеличивается содержание глутатиона восстановленного, витаминов-антиоксидантов А, Е, С, ограничивается накопление продуктов ПОЛ. При декомпенсированном гипотиреозе установлен положительный эффект введения L-левотироксина на снижение продуктов липопероксидации (ТБК-реагирующие

соединения) и повышение активности каталазы и супероксиддисмутаза (СОД) в крови пациентов [128, 169].

Таким образом, состояния и гипертиреоза, и гипотиреоза сопровождаются изменениями в системе окислительного гомеостаза, однако механизмы развития этих сдвигов остаются неясными, поскольку данные литературы показывают их способность активировать свободнорадикальные процессы, влияя на интенсивность тканевого поглощения кислорода, процессы синтеза и антиоксидантных ферментов и других белков, метаболическую активность клеток в целом, обмен углеводов, белков и липидов.

Действие ТГ на обмен углеводов разносторонне: стимулируют глюконеогенез в печени, тканевой катаболизм по гликолитическому и пентозофосфатному путям, поглощение глюкозы мышечной и другими тканями. Гипертиреоз характеризуется развитием гипергликемии за счет интенсификации глюконеогенеза, повышения толерантности к глюкозе и редуцирующего влияния ТГ на экспрессию плазматических рецепторов к инсулину на адипоцитах [101]. При дефиците ТГ уровень глюкозы в крови не подвергается заметным изменениям. Однако в последние годы появились данные о повышении уровня гликированного гемоглобина при гипотиреозе, развитии резистентности к инсулину [42, 104, 206].

ТГ активирует и липидный обмен: усиливают липолиз в жировой ткани, окисление жирных кислот с одновременным повышением их использования на синтез триацилглицеролов печени [113]. Гипотиреоз характеризуется нарастанием содержания липидов в печени, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в плазме крови и снижением липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) [65, 71, 169, 187, 199].

При снижении уровня ТГ подавляется синтез холестерина, но еще в большей степени его деградация, что приводит к гиперхолестеринемии. Одновременно наблюдается уменьшение рецепторов ЛПНП на клеточной поверхности, формируется глубокий дисбаланс обмена липидов с повышением

коэффициентов атерогенности: триглицериды/холестерин ЛПВП и холестерин ЛПНП/холестерин ЛПВП [23, 169, 184, 198, 200, 229].

Влияние ТГ на белковый обмен проявляется возрастанием скорости как синтеза, так и распада. Под действием ТГ усиливается экспрессия большой группы белков, включая структурные белки митохондрий и внеклеточного матрикса, эндоплазматического ретикулума, миофибрилл, ферментов, рецепторных и других. Однако при гипертиреозе превалирует катаболизм белков, связанный с усилением и утилизацией аминокислот [218]. При гипотиреозе снижается интенсивность синтеза значительной группы ферментов обмена веществ, уменьшается и катаболизм белка, наблюдается диссоциация соотношения различных белков плазмы крови, межклеточного матрикса с накоплением протеогликанов, гликопротеинов, приводящая к гипергидратации и развитию слизистого отека [101]. ТГ активируют утилизацию гепатоцитами аминокислот с повышением активности глутаматдегидрогеназы, аргиназы и других ферментов [59, 101].

Таким образом, йод в организме человека является микроэлементом, необходимым для биосинтеза гормонов щитовидной железы. Уровень ежедневного поступления йода в организм существенно отражается на функционировании ЩЖ. Если раньше дефицит йода в эндемичных регионах оценивали в основном по распространенности эутиреоидного (эндемического) зоба и некоторым другим клиническим проявлениям, то в 2001 г. эксперты ВОЗ предложили термин «йододефицитные заболевания» для обозначения патологических состояний, которые развиваются в популяции в результате дефицита йода и могут быть предотвращены нормальным потреблением йода [222].

1.3 Йододефицитные заболевания

Йододефицитные заболевания – это значительный спектр заболеваний, формированию которых способствует снижение функциональной активности ЩЖ, происходящее в условиях дефицита йода (Таблица 1).

Таблица 1 – Проявления и последствия йодной недостаточности [222]

Период жизни	Спектр йододефицитных заболеваний
Плод	Повышение перинатальной смертности (мертворожденные и смерть до 7 недель антенатального периода). Врожденные пороки развития Эндемический (неврологический и миксематозный) кретинизм Повышение поглощения радиоактивного йода при ядерных катастрофах
Новорожденные	Увеличение младенческой смертности Врожденный (неонатальный) гипотиреоз Новорожденный (неонатальный) зоб Повышение поглощения радиоактивного йода при ядерных катастрофах
Дети и подростки	Эндемический зоб Субклинический (ювенильный) гипотиреоз Нарушение умственно, физического и полового развития Снижение умственной и физической работоспособности Высокая заболеваемость и склонность к хроническим заболеваниям Повышение поглощения радиоактивного йода при ядерных катастрофах
Взрослые	Зоб и его осложнения Гипотиреоз Снижение физической и интеллектуальной работоспособности Нарушение репродуктивной функции Повышение поглощения радиоактивного йода при ядерных катастрофах Акселерация атеросклероза

Высокую опасность для плода представляет йододефицит во время беременности. Закладка щитовидной железы у человека происходит на 3-4-ой неделе развития эмбриона, а на 10-12-ой неделе беременности ЩЖ начинает захватывать йод, синтезировать и секретировать ТГ. Тиреоидная недостаточность в результате дефицита йода значительно повышает риск развития выкидыша, врожденных аномалий, а у родившихся детей – способствует увеличению младенческой смертности, задержке физического и умственного развития, формированию неонатального или врожденного зоба [9, 15, 16, 177]. Йододефицит является единственной главной причиной предотвратимого повреждения головного мозга у плодов и младенцев, а также замедленного психомоторного развития у маленьких детей. По меньшей мере 1,2 млн детей ежегодно рождаются кретинами и умственно отсталыми из-за дефицита йода [130].

Чтобы обеспечить физиологический уровень секреции T_4 у младенцев оборот внутритиреоидного йода должен в 25-30 быть выше, чем у подростков или

взрослых. Поэтому при йодной недостаточности для поддержания нормального уровня T_4 и T_3 у них требуется еще большее увеличение оборота этого биоэлемента, что и объясняет высокую восприимчивость плода и новорожденного к йододефициту [16]. В то же время плод и новорожденный крайне чувствительны к опосредованному через организм беременной или прямому действию избытка йода, приводящего к подавлению функции ЩЖ. У детей появление зоба наблюдается в периоде ускорения роста и полового созревания, организм таким образом обеспечивает повышенную потребность в гормонах гиперплазией ЩЖ при йододефиците. Однако при этом нередко развивается гипотиреоз (особенно часто субклинический) со снижением интеллектуальной деятельности, ухудшением физического и полового развития, повышением заболеваемости [22, 41, 47, 49].

Развитию гипотиреоза на фоне йододефицита способствуют и «неспецифические» струмогенные факторы, препятствующие поступлению йода в ЩЖ, нарушающие метаболизм тиреоидных гормонов в ЩЖ и/или периферических тканях. Это производственные поллютанты, дисбаланс макро- и микроэлементов (Se, Zn, Fe, Cr, Co, F, Mn, Cu, Ni и др.), лекарственные препараты, бактериальное загрязнение воды и др. [19].

Гипотиреоз возникает на фоне снижения секреции йодированных гормонов ЩЖ. Первичный гипотиреоз связан с разрушением или недостаточной функцией ЩЖ с нарушениями синтеза ТГ, вторичный – с поражениями гипофиза или гипоталамуса, приводящими к снижению секреции ТТГ. Врожденный гипотиреоз встречается с частотой примерно 1 случай на 2000 новорожденных. Небольшая его часть связана с дефектами метаболизма в ЩЖ, причина которых остается неясной. Хотя продолжающийся поиск генетических причин выявляет все расширяющееся число генов белковых факторов, ассоциированных с этим заболеванием [129]. Наиболее распространенными причинами гипотиреоза остаются дефицит или избыток йода в питании, хирургические вмешательства на ЩЖ, хроническое аутоиммунное разрушение ЩЖ, терапия радиоактивным йодом. В зависимости от степени выраженности тиреоидного дефицита выделяют

субклинический, манифестный (клинический) и тяжелый гипотиреоз. Часто при йододефиците выявляется субклинический гипотиреоз, который характеризуется повышением уровня сывороточного ТТГ и нормальными показателями циркулирующих в крови T_4 и T_3 [72, 103].

Отдельные симптомы субклинического гипотиреоза обнаруживаются ретроспективно после лабораторного выявления. Гипотиреоз на фоне повышенного или высоконормального ТТГ ассоциируется с развитием патологии различных органов и систем организма с многообразием клинических проявлений, что обусловлено широким спектром воздействия тиреоидных гормонов на клеточный метаболизм [19, 67, 100].

1.4 Гипотиреоз как фактор риска развития патологии органов и систем организма

Клинически выраженный и субклинический гипотиреоз признаны факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний [55, 167, 193, 200, 207]. Гипотиреоз приводит к уменьшению частоты сердечных сокращений, снижению силы сокращения и расслабления миокарда с продолжительными систолическими и ранними диастолическими временными интервалами, диастолической гипертензией и синусовой брадикардией. Возникновение изменений сердечно-сосудистой системы связывают с повышением атерогенных фракций липопротеинов крови [71, 80, 199] со снижением клиренса холестерина, обусловленного уменьшением печеночных рецепторов ЛПНП и активности холестерол-7 α -гидроксилазы в печени [167, 212]; развитием эндотелиальной дисфункции с персистированием уровня провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ФНО- α), гомоцистеина, С-реактивного белка, NO и активацией ПОЛ [23, 167]; развитием метаболических и структурных изменений в миокарде, особенно функций митохондрий кардиомиоцитов [83, 136, 201], возросшей активностью в миокарде дейодиназы ДЗ [72, 103, 142]; усилением окислительных повреждений в результате повышения содержания АФК, развития гипоксии и апоптоза в сердце [126, 136, 182].

Гипотиреоз ассоциируется с развитием гинекологической патологии – ановуляторными циклами, опсоменорреей, галактореей, менометроррагиями, гирсутизмом, миомой матки, вторичным поликистозом яичников [33, 40, 49, 206], что связывают с повышением при йододефиците секреции тиреотропин-рилизинг-гормона гипоталамуса, стимулирующего продукцию гипофизом не только ТТГ, но и пролактина [13, 24].

Нередко при гипотиреозе наблюдаются и другие эндокринологические изменения – задержка полового развития, снижение либидо, импотенция, ожирение, акромегалия, инсулинорезистентность [21, 24, 42, 47, 87, 91, 144, 151].

Гематологическая патология при гипотиреозе проявляется анемией (нормоцитарной, нормохромной, гипохромной, железодефицитной, фолиеводефицитной), снижением числа моноцитов и тромбоцитов на фоне статистически значимого увеличения лимфоцитов [67].

Нарушения функции ЩЖ сопровождаются изменениями гемостаза [69, 88] и активности тромбоцитов [78].

Нарушения пищеварительной системы проявляются при гипотиреозе гепатомегалией, неалкогольной жировой болезнью печени, дискинезией желчевыводящих путей, атрофией слизистой оболочки желудка, дискинезией кишечника [57, 65, 67, 164], изменениями функции слюнных желез, состояния зубов и тканей пародонта [20, 32, 37].

При гипотиреозе наблюдается также дерматологическая, нефрологическая, оториноларингологическая патология, нарушения неспецифических адаптационных реакций с высоким уровнем реактивности, переходящим в переактивацию (стресс) [67]. Целенаправленные исследования реакций организма на стресс при гипотиреозе показали, что экспериментальный гипотиреоз, полученный введением тиреостатика мерказолила, угнетает синтез индуцибельных белков теплового шока (HSP-70) в миокарде и головном мозге крыс и значительно ослабляет стимуляцию их экспрессии при воздействии стрессоров различной природы (холод, введение алкоголя, тепловой шок, свободное плавание в клетке). Левотироксин, вводимый в малых дозах,

стимулирует синтез HSP-70 и обеспечивает большее его накопление в тканях при физическом, химическом и эмоциональном стрессе [39].

По физиологическим эффектам ТГ можно рассматривать как плеiotропные тканевые гормоны роста [127]. При гипотиреозе на фоне дефицита йода морфогенетическое действие ТГ в значительной степени сказывается на процессах роста, развития и дифференцировки тканей, которые особенно наглядно демонстрируются достижением предельного линейного роста организма (карликовость), развитием деформаций (аномалии развития тканей) и нарушениями функции головного мозга (высшей нервной деятельности).

В детском возрасте при формировании и росте костей преобладающими эффектами ТГ являются стимуляция пролиферации преостеобластов и их дифференцировки, созревания и функционирования остеобластов; после формирования скелета и достижения максимальной костной массы, а также в периоде инволюционной резорбции – повышение факторов дифференцировки и функционирования остеокластов [127]. Во взрослом организме ТГ, наряду с другими гормонами эндокринного аппарата, представляют собой важные системные факторы, контролирующие ремоделирование, метаболизм и минерализацию костной ткани, и нарушения функции ЩЖ (гипертиреоз, гипотиреоз) являются причиной развития вторичного остеопороза [27, 112, 133]. Интересно, что и при гипотиреозе, и при гипертиреозе наблюдается преобладание резорбционной активности остеокластов в процессах ремоделирования над фазой формирования новых остеоидов и их минерализации. Это подчеркивает важность сохранения концентрации ТГ в ткани в физиологических концентрациях. Йодированные гормоны ЩЖ при этом находятся в сложных взаимоотношениях с основными регуляторными факторами фосфорно-кальциевого обмена (ПТГ, кальцитонин, кальцитриол) и другими гормонами, оказывающими действие на метаболизм костной ткани (гормон роста, инсулиноподобные и другие факторы роста, андрогены, эстрогены, глюкокортикоиды) [40, 49, 91, 127, 189].

Синдром нарушений функционирования центральной нервной системы (ЦНС) с появлением психоэмоциональных отклонений является типичным при нарушении функции ЩЖ [36]. Дефицит ТГ угнетает высшую нервную деятельность, развивается гипотиреоидная энцефалопатия, которая характеризуется снижением психической активности и интеллекта, ослаблением условной и безусловной рефлекторной деятельности [46, 50]. Обследование пациентов с гипотиреозом показало высокое распространение депрессии, зависящее от уровня сывороточного ТТГ и отличающееся по структуре [46]. Оценка выраженности депрессии и тревоги по шкале SF-36 и по шкале Бека у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом обнаружила положительную корреляцию их повышения с уровнем ТТГ, ролевое функционирование и жизненная активность положительно коррелировали с уровнем cT_4 и отрицательно с ТТГ. Гипотиреоз и депрессия демонстрируют сходные клинические проявления, в том числе апатию, вялость, нарушения когнитивной функции. Так, у пациентов с болезнью Грейвса после лечения радиоактивным йодом ^{131}I нередко наблюдается субклинический гипотиреоз, что многократно (в 3,3-4,4 раза) повышал, согласно результатам многомерного логистического регрессионного анализа, риск развития депрессии, а тяжесть депрессивных симптомов коррелировал с уровнем ТТГ в сыворотке крови [197]. На возникновение при гипотиреозе тревоги, депрессии вплоть до суицида указывают и другие авторы [Ошибка! Источник ссылки не найден., 76, 95, 140, 150, 186, 190, 195].

Вопрос влияния дефицита йода на развитие мозга плода и новорожденного, дальнейшего состояния интеллектуальных способностей и когнитивных функций детей давно привлекает особое внимание исследователей [36]. Достаточное обеспечение организма йодом и физиологический уровень секреции тиреоидных гормонов играет важную роль в развитии мозга и функционировании ЦНС ребенка и взрослого организма. Особенно наглядно это проявляется в фазах максимального роста и развития мозга. Первая фаза приходится на период между третьим и пятым месяцами (от 12-14 до 20-30 недели) беременности, и включает

пролиферацию, миграцию и организацию нейронов [149, 170], особенно нейронов полосатого тела, улитки, коркового тела, мозжечка, гиппокампа, миндалины [194]. Вторая фаза занимает время от третьего триместра беременности до третьего года постнатального развития. Она включает преимущественно пролиферацию и миграцию глиальных клеток, а также процессы миелинизации [179]. ТГ участвуют в регуляции активности генов, кодирующих синтез основных белков миелина, и своевременность и синхронизация их воздействия, сопровождающаяся периодом чувствительности специфических генов к ним, является важным аспектом процессов развития мозга [36].

Первая фаза развития мозга плода требует адекватного потока ТГ от матери, поскольку ЩЖ плода не достигает к этому периоду необходимого функционального уровня, на профиль его щитовидной железы влияет йодный профиль (обеспеченность) матери [130].

Во второй фазе также чрезвычайно важно достаточное поступление йода, поскольку йододефицит в эти периоды может иметь непоправимые последствия для развития мозга и приводить к необратимым изменениям [173]. ТГ контролируют деление нейробластов, миграцию, созревание и дифференциацию нейронов, пролиферацию нейрональных отростков, формирование цитоскелета астроцитов, дифференциацию олигодендроглиоцитов, а также продукцию нейротрофинов и образование рецепторов к ним, синаптогенез, миелинизацию, дифференциацию питуитарных лактотрофов и соматотрофов, процессы апоптоза [36, 173, 179, 215].

Миелинизация ранее всего начинается в каудальных отделах мозга и распространяется в ростральном направлении, поэтому в условиях дефицита ТГ в постнатальном развитии мозга страдают отделы, в которых процессы миелинизации происходят наиболее поздно, в связи с этим наибольшие изменения наблюдаются в коре головного мозга [179, 214].

В доступной литературе имеется значительное количество исследований, посвященных влиянию йододефицита на умственное и двигательное развитие детей. Результаты большинства этих работ свидетельствуют о снижении

интеллектуального развития и когнитивных функций у детей, родившихся в йододефицитных регионах в разных странах по сравнению с регионами с достаточным обеспечением микроэлементом [36, 75, 111, 130, 131, 153, 226].

Pardo C. et al. [131] провели сравнение 60 детей в возрасте 9-10 лет, у которых был выявлен при скрининге неонатальный гипотиреоз, и они получали адекватное лечение с первого месяца жизни, с 60 детьми контрольной группы без врожденного гипотиреоза по 10 тестам. Результаты исследования показали, что между обеими группами наблюдались значительные различия с точки зрения общего коэффициента интеллекта и коэффициента интеллектуальной производительности – по скорости обработки, времени реакции, вниманию, когнитивной гибкости, визуальной конструкции и долговременной памяти. Следовательно, у детей с неонатальным гипотиреозом и без умственной отсталости при раннем адекватном лечении наблюдаются слабые когнитивные нарушения.

Оценка неврологического развития и когнитивной функции у младенцев и детей школьного возраста путем метаанализа исследований за 1966-2013 гг. привела к аналогичным выводам, при этом у школьников на фоне йодопрофилактики отмечались умеренное улучшение способности рассуждать и повышение общего когнитивного индекса [181]. Дети, рожденные в регионах с природным дефицитом йода, в среднем имеют на 13,5 балла IQ меньше, чем дети, рожденные в регионах с достаточным содержанием йода [226].

Исследования на животных подтверждают возникновение поведенческих нарушений, характеризующих тревожность и депрессию, в моделях гипотиреоза у грызунов [203].

Вместе с тем имеются данные, свидетельствующие об отсутствии влияния гипотиреоза во время беременности на когнитивные функции детей. Так, не была установлена связь между дисфункцией ЩЖ (гипотиреоз, гипотироксинемия) у матерей во время беременности с нарушениями сенсорного и речевого развития в детском возрасте [172].

Эти противоречия в результатах, возможно, связаны с недостаточным знанием вмешательства других факторов, оказывающих влияние на развитие детей, а также более тонких механизмов действия ТГ на метаболизм и функциональную активность мозга у взрослых. Так, сообщается о региональной неоднородности функционального состояния коры головного мозга в результате развития острого гипотиреоза, вызванного тотальной тиреоидэктомией у пациентов с раком ЩЖ [140]. Области мозга со снижением функциональной активности после тиреоэктомии были обширными, включали обе стороны верхней лобной, медиальной лобной, пре- и постцентральной и средней височно-затылочной извилин, левой язычной извилины, левой нижней извилины, правый путамен, которые вместе охватывают двигательную, сенсорную, зрительную и когнитивную функции коры. При этом значения показателей функциональной активности у пациентов в этих регионах коры мозга отрицательно коррелировали с уровнем сывороточного ТТГ. Вероятно, это связано с действием ТТГ на функцию мозга как «нейромедиатора», ингибируя поглощение ГАМК, усиливая пресинаптический поток Ca^{2+} в мозг, изменяя рецепторы норадреналина, ГАМК, серотонина, нарушая синаптогенез и локальную функциональную сеть мозга [36].

В изменении функции нервной системы при гипотиреозе не исключена роль системы «короткодистантных» факторов регуляции – цитокинов и др. Увеличение содержания ФНО- α , ИЛ-1 β и интерферона-гамма выявляется при развитии депрессивного синдрома, а у пациентов с болезнью Альцгеймера ухудшение познавательных способностей наблюдается при повышении уровня ИЛ-6 [38]. ИЛ-1 β вызывает дозозависимый эффект на обучение и память половозрелых экспериментальных животных [112], неонатальное увеличение его содержания приводит к нарушениям условнорефлекторной деятельности и пространственной памяти у взрослых особей [26, 107].

Важным компонентом контроля действия ТГ в тканях являются состояние транспортеров, рецепторов, а также активность дейодиназ, определяющих тканевую концентрации T_4 и T_3 . При экспериментальном гипотиреозе на фоне тревожного и депрессивного состояния мышей выявлены нарушения функции

рецептора TR α , у пациентов с признаками депрессии и хронической усталости выявлены нарушения транспортера OATP1C1 ТГ в ткани мозга [194]. Нередко имеется несоответствие между содержанием ТГ в циркулирующей крови и их концентрацией в мозге, поскольку, по мнению авторов, выраженное влияние на тканевое содержание ТГ оказывают локальные детерминанты гормонов. В сыворотке крови у мышей с моделью дефицита дейодиназы Д3 (Dio3^{-/-}-мышь) уровень Т₃ и Т₄ при экспериментальном гипотиреозе был ниже на 40% и 20% соответственно, а концентрация Т₃ в моче выше, чем в контроле [194], что приводило к дефициту внимания, но к гиперактивности, характерным для тиреотоксикоза. На значительное несоответствие между изменениями содержания ТГ в крови и органах (мозг, печень, почки, сердце, жировая ткань) при гипотиреозе указывают и данные других авторов [142]. При снижении содержания в крови Т₄ активность дейодиназы Д2 в тканях возрастает, особенно в мозге, а активность дейодиназы типа 3 снижается, что способствует поддержанию уровня Т₃ в мозге в более узком пределе колебаний, чем в крови и других тканях [36]. Подсчитано, что только около 20% трийодтиронина в мозге поступает из кровяного русла, в то время как подавляющее количество образуется локально под действием дейодиназ [142].

Эффект тиреоидных гормонов на функции в ЦНС взрослого организма, вероятно, связан и с их влиянием на нейромедиаторную передачу. Изменения баланса ТГ активно отражаются на синтезе, скорости оборота различных нейромедиаторов и чувствительности к ним рецепторов [30]. Дефицит ТГ вызывает снижение концентрации дофамина в полушариях головного мозга, мозжечке, среднем мозге, в стриатуме – диоксифенилуксусной и гомованилиновой кислот, снижает высвобождение ГАМК из пресинаптических окончаний и экспрессию ферментов ее метаболизма [158].

Одним из ведущих механизмов изменений функционального состояния центральной нервной системы при дисфункции ЩЖ могут быть нарушения окислительных процессов в мозге, изменения активности ферментов дыхательной цепи митохондрий и энергетического обмена. Сравнительно давно установлено,

что при гипотиреозе у взрослых людей значительно, более чем на 25% снижается потребление кислорода и глюкозы тканью мозга, падает более, чем на одну треть от физиологического уровня мозговой кровотоков [36], снижается активность дегидрогеназ углеводного обмена, цикла трикарбоновых кислот Кребса, особенно пиридинзависимых [6, 44], оксидазная активность цитохромов. При этом в тканях можно было ожидать уменьшения интенсивности процессов свободнорадикального окисления. Однако исследования показывают, что гипотиреоз сопровождается развитием окислительного стресса со снижением уровня клеточного и внеклеточного звеньев эндогенной антиоксидантной защиты [5, 54, 60, 74, 90, 144]. Гипертиреоз также сопровождается активацией свободнорадикальных процессов с развитием окислительного стресса.

Таким образом, несмотря на большой объем имеющихся в литературе данных, механизмы влияния дефицита гормонов при гипотиреозе на функции взрослого сформировавшегося мозга остаются не до конца ясными. В то же время совершенно очевидно, что гипотиреоз оказывает влияние на нервную и другие системы не только развивающегося, но и взрослого организма, и является одной из распространенных причин, лежащих в основе когнитивных, двигательных, сосудистых, нейровегетативных, поведенческих и психических расстройств. Выявление и своевременная коррекция йододефицитных изменений и функциональных расстройств нервной и других систем остаются актуальной медико-социальной задачей.

1.5 Вопросы профилактики йододефицитных заболеваний

Около 2 млрд человек на планете живут в условиях природной недостаточности йода, у 740 млн выявляется увеличение щитовидной железы, у 45 млн регистрируется умственная отсталость [181]. Сегодняшнее отношение к проблеме йододефицита определяется, прежде всего, доказанным снижением интеллектуального потенциала нации в условиях недостаточного обеспечения йодом [130].

Массовая йодная профилактика, рекомендованная экспертами ВОЗ, наиболее эффективный и экономичный метод восполнения дефицита йода, который достигается путем введения солей йода (йодида или йодата калия) в пищевую соль, используемую в домохозяйствах и пищевой промышленности. Соль была выбрана в качестве продукта, который может быть обогащен, по нескольким причинам: она производится централизованно или ограниченным числом производителей, потребляется большинством людей в относительно равных количествах, является доступным по цене продуктом, добавление йода в соль практически не отражается на качестве, а уровень йодирования соли сравнительно легко мониторировать [181].

За период с 1993 года, когда в соответствии с конвенцией ООН была определена необходимость ликвидации йододефицита в более 110 странах, находящихся в зоне недостаточного обеспечения йодом, к 2013 году она была ликвидирована в 79 странах [77]. На сегодняшний день более 120 стран мира в качестве национальной стратегии преодоления дефицита йода выбрали йодирование соли и приняли соответствующие законодательные акты [17]. В соответствии с критериями ВОЗ для устранения йододефицита необходимо, чтобы йодированную соль использовали для приготовления пищи не менее, чем в 90% домохозяйств [222]. Наиболее сложным вопросом является профилактика самых уязвимых слоев населения – беременных и кормящих женщин, детей, поэтому ВОЗ рекомендует проводить прекоцепционную и гестационную профилактику [162, 222].

Вместе с тем появляются все больше сообщений о побочных эффектах использования йодированной соли – развитии индуцированного йодом гипертиреоза, гипотиреоза, аутоиммунного поражения ЩЖ и/или зоба, о необходимости постоянного мониторинга обеспеченности йодом [117, 118, 146, 161, 178, 220, 226]. Так, проведение кросс-секционного исследования методом кластерной выборки среди школьников (30 кластеров по 90 детей в каждом) в районе Далях в Индии, где более 90% домохозяйств потребляют йодированную соль [178, 226], показало, что распространенность йододефицита составляет 26%,

адекватное йодное питание – 28%, а тиреотоксичный уровень йода – 46% [118]. На высокую распространенность аутоиммунного тиреоидита (25,8%) среди населения, использующего в питании йодированную соль указывают Tamang B. et al. [117]. Повышение распространенности аутоиммунного тиреоидита, узлового зоба, узловой болезни надпочечников на фоне коррекции йодной недостаточности йодированной солью отмечают и другие авторы [216].

Причины, приводящие к указанным изменениям могут быть различными [159]. Они могут быть связаны с действием струмогенных факторов, дисбалансом других микроэлементов, витаминов. Так, обогащение пищевых продуктов витамином А, фолиевой кислотой и железом значительно улучшает действие йода, снижает побочные эффекты [154], улучшает эффект и применение с йодом Zn, Fe, Se, мио-инозита, антиоксидантов [48, 60, 108, 119, 154, 174].

Положительный эффект на состояние ЩЖ отмечен и при потреблении йодированной воды, чая, молока и молочных продуктов, хлебо-булочных изделий, яиц и других продуктов повседневного спроса, а также морских водорослей [51, 61, 109, 159]. Однако при использовании обогащенных (фортифицированных) продуктов питания неорганическими формами йода достаточно сложно контролировать суточное потребление этого микроэлемента. Отмечено также, что лица, которые ранее были в йододефицитном состоянии, более подвержены нарушениям функции ЩЖ даже при увеличении поступления йода до физиологического уровня [146]. Вероятно, это связано с характером модуляции йодидом ответа тиреоцитов на действие ТТГ. С увеличением дозы йодсодержащих соединений (гиперйодизацией) реакция ЩЖ на ТТГ вначале увеличивается, а затем уменьшается. Йодид ингибирует различные метаболические процессы в клетках фолликул ЩЖ, оказывая влияние на каскад сигнальных передач цАМФ и Ca^{2+} -инозитолтрифосфатным путям [130]. Гиперйодизация наблюдается при быстром всасывании йода, избыточно поступающего с йодированной солью. Кроме того, содержание йода в йодированной соли существенно снижается при хранении [44, 98, 217], при воздействии повышенной температуры [185]. Лучше йод сохраняется в составе

органоминеральных комплексов. Однако помимо йодированной соли другие способы борьбы с йодной недостаточностью в России не получили широкого распространения, хотя эффективность крупномасштабного обогащения основных пищевых продуктов микроэлементом для предотвращения дефицита йода была продемонстрирована [154, 160].

С точки зрения расширения ассортимента йодсодержащих соединений, используемых при производстве фортифицированных продуктов особое внимание привлекли распространенные и применяемые в пищевой промышленности полисахаридные структуры, в частности, пектины, инулин, хитозан, которые обладают адъювантными свойствами в отношении йода. Использование йодорганических комплексов оказалось весьма эффективным и удобным подходом при производстве функциональных мясопродуктов, хлебо-булочных изделий, молочных продуктов [4, 52, 61]. В отличие от йодированной соли йод в них стабилизирован органической матрицей, и это способствует более равномерному поступлению микроэлемента из желудочно-кишечного тракта, предотвращая развитие эффекта Вольфа-Чайкова.

Включение в рацион питания обогащенных йодом пищевых биопродуктов на основе полисахаридных структур с известным содержанием йода позволит охватить профилактикой более широкие слои населения. Этот способ профилактики не меняет органолептических свойств продуктов, не вызывает изменения стереотипов питания и лучше воспринимается психологически. Создание и внедрение в повседневную жизнь популяции биопродуктов функциональной направленности, обогащенных йодом, может стать эффективным и экономичным средством оздоровления населения в йододефицитных регионах России.

Завершая обзор литературы, необходимо подчеркнуть, что заболевания ЩЖ являются одними из самых распространенных патологий эндокринной системы. Значимую роль в развитии дисфункций ЩЖ играет недостаточное поступление йода. На биогеохимических территориях с недостаточным содержанием йода в

воде и почве развиваются йододефицитные заболевания, которые могут быть предотвращены йодированием поваренной соли и продуктов питания или постоянным приемом препаратов йода. Наиболее частым проявлением йододефицита являются гипотиреоз, зоб и нарушения когнитивных функций. И если клинические проявления гипотиреоза у плода при йододефиците матери во время беременности или при кормлении грудью в периоде постнатального роста достаточно изучены, то патогенетические механизмы развития, метаболические основы нарушения когнитивных и других функций мозга остаются неясными. Факт высокого риска развития необратимых изменений психического развития у детей, матери которых во время беременности испытывали йододефицит, не вызывает сомнений.

Для предотвращения побочных эффектов профилактического использования йодированной поваренной соли – развития индуцированного йодом гипертиреоза, гипотиреоза, аутоиммунного поражения ЩЖ и / или зоба, предлагается использование фортифицированных продуктов питания на основе йодорганических комплексов.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для экспериментального моделирования гипотиреоза в научных исследованиях применяются хирургические методы (тиреоидэктомия), низкоiodная диета на протяжении 12 недель. При химиоиндуцированном гипотиреозе используют введение тиреостатиков: метилтиоурацила, пропилтиоурацила, мерказолила (тиамазола), перхлората, иопаноевой кислоты [110]. Наибольшая эффективность достигается при действии мерказолила. Мерказолил ингибирует активность ферментных систем, участвующих в окислении йодидов в йод (тиреопероксидазы), в йодировании радикалов тирозина в составе тиреоглобулина, в синтезе трийодтиронина и тироксина, ускоряет выведение йодидов из щитовидной железы, модулируя йододефицитный гипотиреоз. Мерказолил хорошо всасывается из желудочно-кишечного тракта, его биодоступность не зависит от характера пищи и составляет 93%. Максимального уровня в плазме крови достигает через 30-60 минут и действует при однократном введении в течение 24 часов [66]. Внутрижелудочное введение мерказолила специальным зондом в течение трех недель в дозах 2,5 мг и 5 мг на 100 г массы тела в сутки вызывает характерные изменения тиреоидной дисфункции [29, 52, 53].

2.1 Объекты и дизайн исследования

Гипотиреоз моделировали на 100 белых беспородных крысах массой 190-230г обоего пола. Животные находились на общевиварном питании со свободным доступом к воде. Для питания использовали полнорационный сухой комбикорм для лабораторных животных «Чара», производимый ООО «Ассортимент-Агро» (Россия). Тиреоидную недостаточность йододефицита моделировали введением мерказолила (тиамазола) в дозе 2,5 мг / 100 г массы тела в течение 21 суток. Тиреостатик вводили ежедневно внутрижелудочно. 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 (побочных эффектов) [29, 53].

При проведении экспериментов были соблюдены этические нормы и рекомендации по гуманному отношению к лабораторным животным, изложенные в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» и в Приказе Минздрава России №199н от 01.04.2016 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» по содержанию, уходу, кормлению, выводу из эксперимента и последующей утилизации. Забой животных осуществляли под легким эфирным наркозом.

Исследования были проведены в отдельных сериях в два этапа (Таблица 2).

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 йодобогащённом питании из расчета 2,5 мкг йода на 100 г массы тела. Йодобогащенное 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.

Таблица 2 – Дизайн исследований

Этапы исследования	Группы животных	Изучаемые показатели
I этап (40 крыс) Оценка гормонального статуса и состояния оксидантно-антиоксидантной системы при экспериментальном гипотиреозе и влияние на эти процессы нового йодсахаридного комплекса	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 йодобогатённое питание в течение 30 суток после завершения введения мерказолила	1. В плазме крови: содержание ТТГ, oT_4, oT_3, сT_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 (КД и СТ); 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).
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	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 йодобогатённое питание.	1. Оценка когнитивных функций: изучение кратковременной и долговременной памяти в тестах «8-рукавный радиальный лабиринт» и «Распознавание новых объектов» 2. В плазме крови: содержание ТТГ, oT_4, oT_3, сT_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.

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 йодобогащенном 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.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Изучение когнитивных функций

Изучение когнитивных функций и различных видов памяти с помощью батареи нейроповеденческих тестов является важным источником информации о деструктивных изменениях, происходящих при различных патологических

состояниях. Это удобный и аффирмативный инструмент, позволяющий получить объективные данные о различных проявлениях когнитивных функций у исследуемых животных, точно оценить их способность к обучению, восприятию пространства, память [155], а также наличие повреждений отдельных участков мозга [225]. Сравнительное изучение таких нейроповеденческих тестов как «Водный лабиринт Морриса» и «Восьмирукавный радиальный лабиринт» показало, что последний имеет такие преимущества как короткое время выполнения, компактность, более высокое число контролируемых параметров, наличие визуальных и обонятельных меток, облегчающих навигацию в лабиринте, дискретность решений, принимаемых животным при прохождении теста, но уступает по простоте автоматической регистрации теста на камеру и возможного искажения результатов реакции животного на условия тестирования [89].

Для оценки пространственного обучения и памяти животных были использованы два теста: «Восьмирукавный радиальный лабиринт» и «Распознавание новых объектов».

2.2.1.1 Тест «Восьмирукавный радиальный лабиринт»

Для изучения рабочей (working spatial memory – кратковременная оперативная память, от секунд до минут, доступная в течение текущей попытки) и референтной пространственной памяти (reference spatial memory – долговременная память о местоположении целевого объекта) мы использовали восьмирукавный радиальный лабиринт (ВРЛ), в котором крысы быстро обучаются посещать каждый рукав только один раз за сеанс для получения пищевого вознаграждения [180]. Существуют различные конфигурации ВРЛ и процедуры тестирования в зависимости от объекта (модели на животных) и поставленной цели исследования [10, 96, 145, 183].

Точность выполнения задачи зависит как от памяти о ранее посещенных рукавах, так и от естественной тенденции не пересматривать в ходе испытания

стратегию поведения, получившей название win-shift («выиграл-перейди») [148, 180]. Полагают, что подобная стратегия используется крысами в естественных условиях, когда корм рассредоточен [125]. Животные должны сохранять и извлекать информацию о подлежащих посещению рукавах не только в режиме реального времени во время фактического выбора рукава, но и через заданный интервал времени: как правило, эффективность решения задачи повышается с увеличением длины задержки.

Устройство для проведения тестирования представляет собой восьмирукавный радиальный лабиринт, приподнятый над полом на 50 см и выполненный из темно-серого ПВХ. Длина радиальных рукавов составляет 50 см, ширина 14 см, диаметр и высота стенок центральной зоны по 40 см. Центральная область от каждого из восьми рукавов отделяется гильотинными дверцами, управляемыми вручную. Каждый рукав частично ограничен туннелеподобной пластиковой крышкой (длина крышки 20 см, высота крышки 20 см) для предотвращения подъема крыс от одного открытого рукава к другому. Кроме того, эти закрытые части позволяют снизить эмоциональную нагрузку на животное при попадании его в новую среду, облегчая привыкание к аппарату на первом этапе эксперимента. В четырех см от конца каждого рукава находятся заглубленные кормушки для пищевого подкрепления (диаметр 4 см, глубина 4 см), которые можно снять и очистить между фазами исследования.

Перед тестированием крысам давали пищу, ограниченную до 85% от того объема, который они получали при кормлении *ad libitum*. Для поддержания животных в здоровом состоянии и индивидуальной корректировки суточного количества пищи ежедневно проверяли вес и состояние здоровья каждого животного.

Поскольку для идентификации рукавов грызуны полагаются в основном на внелабиринтные сигналы [192], на стенах лаборатории были размещены различные черно-белые геометрические фигуры. Поведение регистрировали с помощью видеокамеры, установленной над лабиринтом. При составлении протокола тестирования руководствовались рекомендациями [28, 221].

Крыс тестировали 2 раза в день с интервалом 60 минут (оценка рабочей памяти) в течение 6 дней подряд с перерывом на пятый день (оценка референтной пространственной памяти). Процедура тестирования состояла из нескольких этапов.

Привыкание – первый этап тестирования (проводится только в первый день исследования), цель которого снятие (снижение) эмоциональной напряженности в новых стрессогенных условиях.

Для знакомства с устройством животное помещали в центре лабиринта с закрытыми дверками, все восемь кормушек которого были наполнены приманкой (сахар). Через одну минуту все дверки одновременно открывали, и крысе в течение пяти минут позволяли свободно передвигаться и получать пищевое подкрепление. Затем все дверки закрывали, а животное оставляли в центре лабиринта. После 30-секундной задержки дверки вновь одновременно открывали, давая возможность животному продолжить исследование лабиринта в течение следующих пяти минут. Затем крысу вновь запирали в центре лабиринта. Через 30 секунд все восемь гильотинных дверок открывали для исследования устройства в течение 5 минут.

2 этап – тестирование.

Тест состоял из трех фаз (тренировка, задержка и тестирование) (Рисунок 1), которые в целом соответствуют трем этапам рабочей памяти (внимание, память, принятие решения) [221].

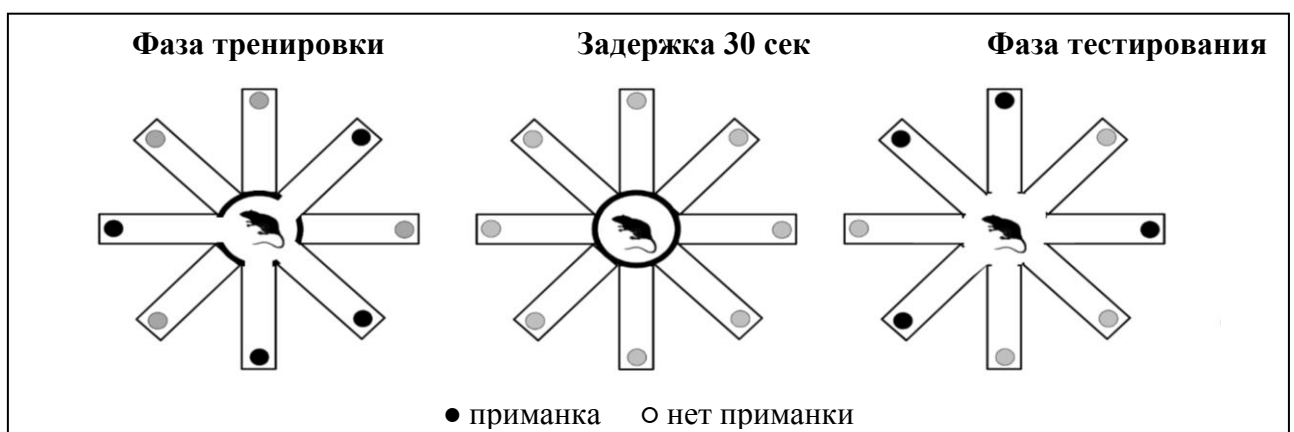


Рисунок 1 – Схема этапа тестирования (2 и 3 этапы) [221]

В фазе тренировки четыре из восьми рукавов случайным образом блокировали гильотинными дверками, а остальные четыре оставляли открытыми. Крысам разрешали войти в четыре открытых рукава и извлечь пищевое вознаграждение. После получения всех четырех приманок либо по истечении 300 секунд животное запиралось в центре лабиринта на период задержки 30 секунд.

После задержки все восемь дверей открывались одновременно, и животное начинало фазу тестирования. В этой фазе приманка была размещена в тех рукавах, которые в фазе тренировки были заблокированы. Таким образом, крыса должна входить в рукава, которые не посещались на предыдущем этапе (стратегия win-shift). Фаза тестирования заканчивалась извлечением последней приманки или по истечении 300 секунд. После того, как крыса завершила испытание, ее помещали обратно в центр, прежде чем вынуть из лабиринта и подготовить прибор для следующего животного (тщательная обработка спиртом).

3 этап – через час процедура полностью повторялась.

Таким образом, в первый день выполнялись все три этапа исследования с перерывами между первым и вторым 30 сек, между вторым и третьим – 1 час. Во второй, третий, четвертый и шестой дни выполнялись только второй и третий этапы с задержкой между ними 1 час. На пятый день делался перерыв в исследовании – пробы не проводились.

В ходе исследования фиксировались:

- время, затраченное на завершение фазы тестирования;
- количество входов в рукава (вход считался выполненным, если крыса помещала все четыре лапы на соответствующий рукав);
- количество корректных входов в рукава (вход в рукав с извлечением приманки);
- количество ошибок (любой некорректный вход в рукав).

Поведенческие показатели были проанализированы как с обобщением данных тестовой фазы 2 и 3 этапов тестирования, так и с акцентом на тестовой фазе каждого из двух этапов.

На основе зарегистрированных данных для всех экспериментальных групп были вычислены следующие показатели:

- среднее время завершения фаз тестирования за все дни исследования,
- среднее время, затраченное на завершение фаз тестирования на 2 и 3 этапе теста за каждый день исследования,
- оценка памяти (средний балл памяти) на каждом этапе в фазе тестирования за один день исследования,
- оценка памяти обобщенная (средний балл памяти) на 2 и 3 этапе в фазе тестирования за каждый день исследования,
- относительная ошибка (общее количество ошибочных входов в рукава за оба этапа в фазе тестирования / общее количество корректных входов в рукава за оба этапа в фазе тестирования).

Оценка памяти, зависящая от количества корректных и некорректных входов в рукава, рассчитывалась по следующей формуле [221]:

$$\text{Оценка памяти} = \frac{(\text{количество корректных входов}) - (\text{количество некорректных входов})}{(\text{количество корректных входов}) + (\text{количество некорректных входов})} \quad (1)$$

По шкале от -1 до 1 эта оценка описывает индивидуальную производительность памяти с оценкой 1, отражающей безошибочное выполнения испытания, и оценкой -1, отражающей противоположный результат (ни одного корректного входа).

2.2.1.2 Тест «Распознавание новых объектов»

Тестирование памяти проводили в тесте «распознавание новых объектов» – novel object recognition test (NOR) [143] в модификации [3, 31]. В начале тестирования на 5 минут животных помещали в центр квадратной арены размером 100×100 см, расчерченную на квадраты (5×5 см) и ограниченную

непрозрачными стенками высотой 20 см. В это же время регистрировали двигательную активность крыс по количеству пересеченных квадратов в минуту. Через 2 часа после адаптации на экспериментальной площадке в течение 5 минут проводили тренировочное предъявление животному двух предметов №1 и №2. Кратковременную память оценивали через 10 мин после тренировки: предмет №2 заменяли предметом №3, а у предмета №1 меняли место его расположения. Анализ долговременной памяти проводили через 24 ч после тренировки, предъявляя животному в течение 5 минут пару объектов, состоящую из известного (№1) и неизвестного (№4) предметов (Рисунок 2).

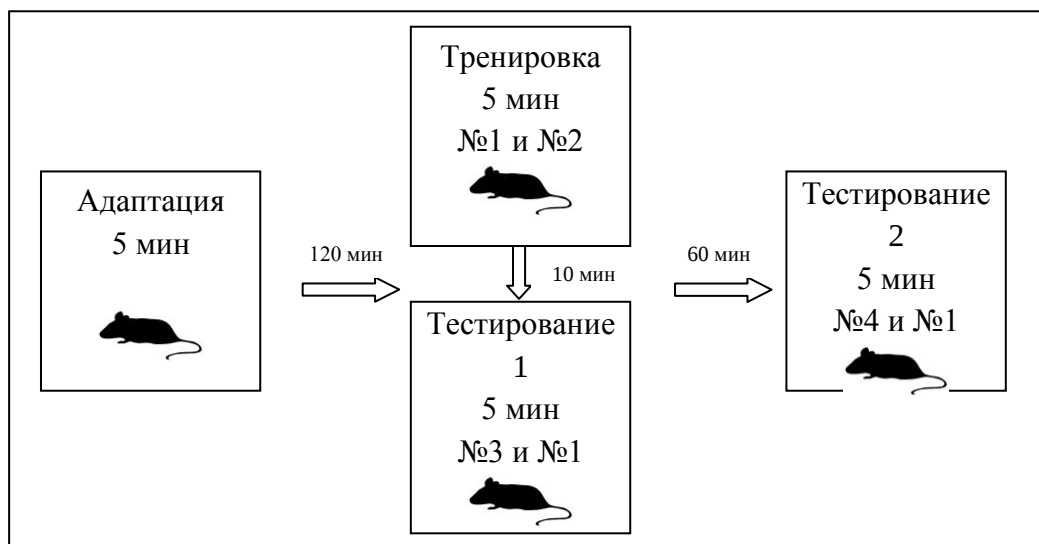


Рисунок 2 – Схема процедуры теста «Распознавание новых объектов» по [143] в модификации [31]

Объекты распознавания № 1, 2 и 3 представляли собой белые пластмассовые сосуды цилиндрической формы высотой 20 см, диаметром 6 см с нанесенными на высоте 3 см (№ 1) и 9 см (№ 2) черными полосами и без опознавательных линий (№ 3). Объект распознавания № 4 представлял собой аналогичный сосуд черного цвета. Сосуды наполнялись водой с таким расчетом, чтобы его не могли опрокинуть случайным движением хвоста крысы (не менее 450 г). Для предотвращения передачи следов запаха от животного к

животному объекты исследования между этапами протирались водно-спиртовой смесью (1:1).

Исследовательское поведение включало реакции принюхивания (направление носа к объекту на расстоянии не более 2 см) и непосредственного тактильного контакта носом или лапкой. Видеорегистрация отдельных поведенческих актов поведения животных осуществлялась с помощью видеокамеры SONY SSC-G118. Состояние функций памяти определяли как дискриминационное время исследования нового объекта (DIR) по формуле:

$$DIR = \frac{t \text{ исследования нового объекта} - t \text{ исследования знакомого объекта}}{\text{общее } t \text{ исследования во время сеанса тестирования}} \times 100 \quad (2)$$

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.

2.2.2 Изучение содержания гормонов и цитокинов

Содержание гормонов в плазме крови экспериментальных животных определяли методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных коммерческих наборов: тиреотропный гормон – ТТН-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 (производитель ЗАО «Вектор-Бест»), паратгормон – Diasoure PTH ELISA согласно прилагаемым инструкциям на анализаторе «StatFox2100» (США).

Содержание интерлейкина-1β, интерлейкина-6, фактора некроза опухолей-α определяли с использованием наборов реагентов Rat ІІ-1 Beta

ELISA Kit, Rat Il-6 ELISA Kit и Rat TNF-Alpha ELISA Kit (производитель Abcam, UK) согласно прилагаемым инструкциям на анализаторе «StatFox2100».

2.2.3 Изучение свободнорадикальных процессов

В экспериментальных исследованиях и клинической практике в настоящее время используются различные методы оценки состояния оксидативных процессов, которые можно разделить на два основных подхода: методы анализа активных форм кислорода, продуцирующих их систем, и методы изучения содержания продуктов окислительной модификации (деградации) биомолекул [12].

Выраженность свободнорадикальных процессов в плазме крови и тканях оценивали методом хемилюминесценции, определением содержания продуктов перекисного окисления липидов.

Хемилюминесцентный анализ. Для хемилюминесцентного анализа по Владимирову Ю.А. использовали хемилюминометр ХЛ-03 (Россия). Обработку хемилюминограмм осуществляли с помощью специальной компьютерной программы в автоматическом режиме, что обеспечивает точность и объективность информации. Величину показателей выражали в условных единицах. Содержание белка в пробах определяли по Лоури.

Навеску ткани 500 мг промывали охлажденным до 2-4°C калий-фосфатным буфером pH 7,45, гомогенизировали при охлаждении с 5 мл этого же буфера и разводили гомогенат до содержания белка 1 мг/мл. Отбирали 20 мл раствора гомогената и помещали в кюветную камеру прибора, выключали термостат, быстро перемешивали. Свечение индуцировали добавлением 1 мл 50 mM раствора $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, подкисленного 0,1 M раствором соляной кислоты. Время измерения 5 мин. При этом оценивали спонтанное свечение, после добавления ионов двухвалентного железа – амплитуду быстрой и медленной вспышек, светосумму. Спонтанная светимость характеризует базальный уровень радикалообразования, амплитуда быстрой вспышки – индукцию

процессов свободнорадикального окисления под влиянием Fe^{2+} , амплитуда медленной вспышки (максимальная светимость) и светосумма определяют способность липидов тканей подвергаться свободнорадикальному окислению.

Определение ТБК-активных продуктов. Содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), определяли с использованием набора реагентов «ТБК-АГАТ» (производитель ООО «АГАТ-МЕД», Россия). Продукты перекисного окисления липидов (малоновый диальдегид, 4-гидрокси-2-ноненаль, другие альдегиды), содержащиеся в 0,25 мл плазмы крови или гомогената тканей, образуют с ТБК окрашенные комплексы, которые экстрагируются бутанолом. Оптическая плотность образовавшихся комплексов определяется фотометрически по разности поглощения при длинах волн 535 нм и 570 нм с использованием спектрофотометра СФ56 (ОКБ «Спектр», Россия). Расчет содержания ТБК-активных продуктов (ТБК-АП) осуществляли по формуле:

$$C = (D_{535} - D_{570}) / 0,156 \times 16, \quad (3)$$

где C – концентрация ТБК-АП в мкмоль/л (г ткани), D_{535} и D_{570} – оптическая плотность пробы против контроля при 535 и 570 нм, 0,156 – коэффициент молярной экстинкции комплекса малоновый диальдегид-ТБК в мкмоль/см, 16 – коэффициент разведения.

Определение первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов. Продукты ПОЛ определяли спектрофотометрически в гептан-изопропаноловых экстрактах по методу [106]. Липиды тканей экстрагировали гептан-изопропаноловой смесью, которые впоследствии разделялись. В гептановую фазу преимущественно экстрагируются неэстерифицированные интермедиаты пероксидации жирных кислот, в изопропаноловую – переоокисленные ацилы фосфолипидов. В обеих фазах измеряется оптическая плотность изолированных двойных связей (220 нм), ацилгидроперекисей и диеновых конъюгатов – первичных продуктов ПОЛ (233 нм), кетодинов и сопряженных триенов – вторичных продукты ПОЛ (278 нм).

Содержание продуктов липопероксидации рассчитывали по величине отношения экстинкций D_{233} / D_{220} и D_{278} / D_{220} в каждой фракции.

В пробирку вносили 0,2 мл плазмы крови или гомогената ткани, приливали 6 мл смеси гептан : изопропанол (2 : 1 по объему) и экстрагировали при встряхивании в шуттель-аппарате в течение 20 мин. Затем добавляли 1 мл 1,0 н раствора соляной кислоты, интенсивно перемешивали и отстаивали 30 мин для разделения. После разделения фаз верхнюю гептановую фазу отсасывали и переносили в чистую пробирку. К нижней изопропаноловой фазе вносили 1,0 г сухого хлористого натрия для обезвоживания. Параллельно готовили контрольную пробу с 0,2 мл дистиллированной воды по описанной схеме. В обеих фазах измеряли оптическую плотность опыта против контроля при 220, 233 и 270 нм. Относительное содержание продуктов ПОЛ пересчитывали в условных единицах с учетом разведения на г ткани и мл плазмы крови.

2.2.4 Определение активности антиоксидантных ферментов

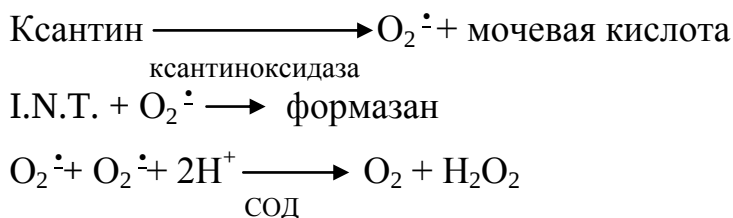
При определении активности ферментов для получения гомогената 1 г ткани немедленно после забоя животного измельчали и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе Поттера на холоду (0-4°C) в среде, содержащей 0,25 М сахарозы, 1 мМ ЭДТА, 0,01 М трис-HCl (pH 7,4), в соотношении 1 : 5 в течение 2-3 мин. Полученный гомогенат обрабатывали тритоном X-100 и оставляли на холоде на 30 мин для разрушения клеточных и субклеточных структур.

Определение активности супероксиддисмутазы [СОД, КФ 1.15.1.1] осуществляли наборами реагентов «RANSOD» (производитель «Randox Laboratories LTD»).

Принцип метода основан на том, что СОД катализирует превращение радикала супероксиданиона ($O_2^{\cdot -}$), генерируемого при окислении ксантина в мочевую кислоту ксантинооксидазой, в пероксид водорода и молекулярный

кислород. Супероксидный радикал, вступая в реакцию с хлоридом 2-(4-йодофенил)-3-(4-нитрофенол)-5-фенилтетразолия (I.N.T.), образует красного цвета формазан. Активность СОД определяется по степени ингибирования этой реакции.

Схема реакции:



За единицу активности СОД принимается количество энзима, которое вызывает 50% угнетение образования формазана.

В пробирку вносили 0,05 мл гомогената ткани, в другую 0,05 мл стандарта. Затем в обе пробирки приливали по 0,05 мл разбавителя проб, по 1,7 мл смешанного субстрата, который содержит ксантин с I.N.T., и по 0,25 мл раствора ксантиноксидазы. Перемешивали и через 30 сек измеряли оптическую плотность A_1 при длине волны 505 нм, а через 3 мин – оптическую плотность A_2 . Содержание супероксиданионрадикала в пробирках вычисляли по формуле:

$$A_2 - A_1 / 3 = \Delta A / \text{мин стандарта и пробы.} \quad (4)$$

Выраженность ингибирования реакции СОД рассчитывали по формуле:

$$\% \text{ ингибирования} = 100 \times \frac{100 \times \Delta A_{\text{ст}} / \text{мин}}{\Delta A_{\text{проб}} / \text{мин} \times \text{SL}} \quad (5)$$

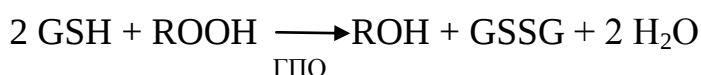
где SL – разбавитель проб.

Для определения активности СОД в Ед/мл гомогената ткани предварительно строили график процентного ингибирования для каждой точки стандарта в шкале $\log 10$ (концентрации стандарта СОД в Ед/мл), окончательный расчет активности СОД проводили в ЕД/мг белка. Содержание белка в пробах определяли по Лоури.

Активность глутатионпероксидазы [ГПО, КФ 1.11.1.9] определяли наборами реагентов «Glutation Peroxidasa» (производитель «Randox Laboratories LTD»).

ГПО при участии гидропероксида кумина катализирует окисление глутатиона. Окисленный трипептид под действием восстановленного НАДФН и глутатионредуктазы восстанавливается с образованием НАДФ⁺. Реакция сопровождается снижением поглощения при 340 нм:

Схема реакции:



В пробирку опытной пробы приливали 0,05 мл гомогената, в контрольную пробирку 0,05 мл дистиллированной воды, добавляли по 1,0 мл агента разведения. Через 5 мин вносили в пробирки по 1,0 мл реактива Драбкина, по 2,5 мл реагента, содержащего 4 ммоль/л восстановленного глутатиона, более 0,5 Е/л активности глутатионредуктазы, 0,34 ммоль/л НАДФН в фосфатном буфере, а также по 0,1 мл кумина и перемешивали. Через 1 мин измеряли начальную абсорбцию пробы и контроля (E_0) при длине волны 340 нм, через 1 мин – E_1 , через 3 мин – E_2 . Расчет активности в Е/мг белка осуществляли по формуле:

$$\text{Е/мг белка} = 8412 \times [(E_1 - E_0) + [(E_2 - E_1) / 2] / \alpha, \quad (6)$$

где 8412 – коэффициент, учитывающий объем пробы и молярную экстинкцию образования НАДФ⁺, α – концентрация белка в пробе в мг.

Изучение активности каталазы [КФ 1.11.1.6] проводили согласно методу [63], который основан на том, что H_2O_2 образует с солями молибденовой кислоты стойкий окрашенный комплекс. Вследствие разложения каталазой пероксида водорода интенсивность окраски снижается в присутствии энзима.

В две центрифужные пробирки (холостой опыт и проба) помещали по 2 мл 0,03% раствора пероксида водорода и запускали реакцию внесением в пробу 0,1 мл тканевого гомогената, в контроль – добавлением 0,1 мл дистиллированной

воды. Через 10 мин при комнатной температуре реакцию останавливали внесением в обе пробирки по 1,0 мл 4% раствора молибдата аммония и по 0,5 мл 20% раствора трихлоруксусной кислоты. Встряхивали пробирки и центрифугировали в течение 10 мин при 2800 об/мин. Измеряли интенсивность окраски в надосадочной жидкости при 410 нм опыт против контроля. В контрольную пробирку вместо раствора пероксида водорода вносили 2 мл фосфатного буфера pH 8,6. Активность фермента рассчитывали по формуле:

$$A = (E_{\text{хол}} - E_{\text{проба}}) \times V \times T \times K / \alpha, \quad (7)$$

где A – активнсть каталазы в мкмоль/мин·мг белка, $E_{\text{хол}}$ и $E_{\text{проба}}$ – экстинкции холостого опыта и пробы, V – объем вносимой пробы, T – время инкубации в минутах, K – коэффициент микромолярной экстинкции пероксида водорода, равный 36,81, α – количество белка в пробе в мг.

2.3 Статистическая обработка результатов исследования

Для анализа полученных результатов использовали стандартный пакет программ для обработки статистической информации 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. Для апостериорных сравнений использовали post-hoc анализ и тест Бонферрони.

При асимметричном распределении признаков в группах выборки статистическую значимость различий определяли, используя непараметрический критерий множественного сравнения Крускала-Уоллиса (H) и Манна-Уитни (U) [34]. В случае выявления различий по результатам теста Крускала-Уоллиса применяли множественное сравнение средних рангов для всех групп (Statistica 8.0) или критерий Данна для установления различий между группами (надстройка «AtteStat» для Microsoft Office Excel 2007).

С целью 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 $p \leq 0,05$.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Гормональный статус, про- / антиоксидантная система при экспериментальном гипотиреозе и его коррекции новым йодсахаридным комплексом

3.1.1 Гормональный статус экспериментальных животных

Определение гормонального статуса при введении тиамазола (мерказолила) важно для регистрации функционального состояния щитовидной железы, оценки выраженности развития гипотиреоза, а также для характеристики влияния гипотиреоза на секрецию взаимосвязанных с тиреоидными гормонами других желез эндокринной секреции.

У половозрелых самцов крыс массой 190-230 г изучали содержание в плазме крови ТТГ, общего и свободного тироксина, общего трийодтиронина, а также тестостерона, лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов, кортикостерона и паратиреоидного гормона. Для получения плазмы кровь животных собирали в гепаринизированные пробирки, центрифугировали в течение 10 минут при 2800 об/мин. Плазму переносили в чистые пробирки, которые хранили при температуре -18°C.

Результаты исследования (Таблица 3) показывают, что при 21-дневной интоксикации крыс мерказолилом (тиамазолом) в дозе 2,5 мг/100 г массы тела ежедневно внутрижелудочно, развивается гипотиреоз (2 группа, опытная). У крыс в плазме крови статистически значимо повышено содержание ТТГ до 176,6%, снижены концентрации oT_4 , oT_3 и cT_4 до 67,3%, 75,6% и 62,9% соответственно (Рисунок 3).

Менее выраженное снижение уровня oT_3 , чем oT_4 возможно связано с изменениями как активности йодтирониндейодиназ Д1 и Д2 в периферических тканях [204], так и автономной регуляции метаболизма йода фолликулярных клеток щитовидной железы [130] или интратиреоидного обмена йода.

Таблица 3 – 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
оТ 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
оТ 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 p ₂ =0,2596
сТ 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				

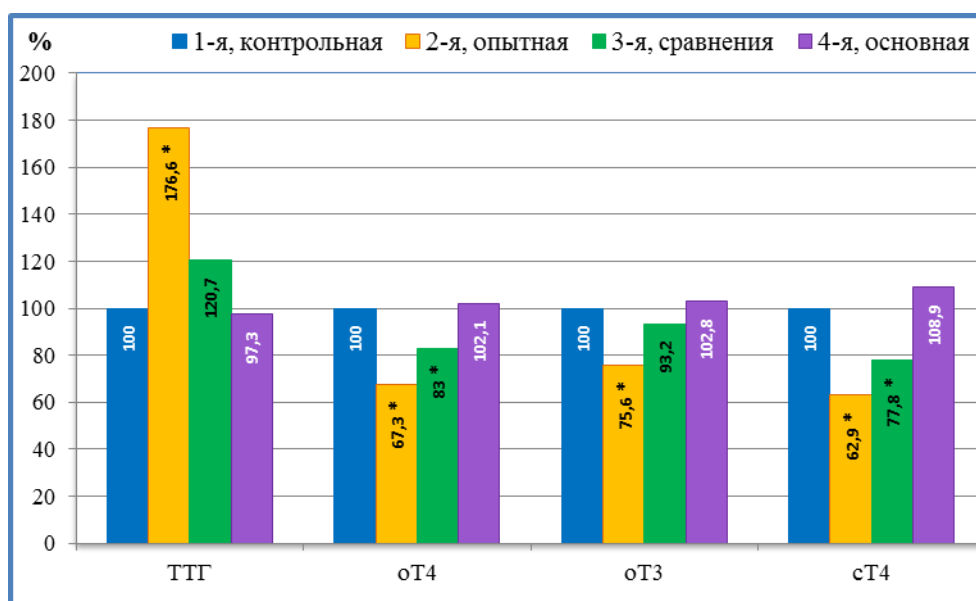


Рисунок 3 – Влияние коррекции экспериментального гипотиреоза йодсахаридным комплексом на тиреоидный статус (в % к показателям контрольной группы, принятым за 100%)

У животных 3-й группы, находившихся в течение 30 дней восстановительного периода после введения тиреостатика на виварном

рационе, наблюдалось повышение уровня тиреоидных гормонов. Так, содержание общего тироксина достигло 83,0% ($p=0,0142$) от уровня интактных крыс, концентрация общего трийодтиронина – 93,2% ($p=0,2665$), свободного тироксина – 77,8% ($p=0,0038$). Секреция тиреотропного гормона снизилась, но оставалась выше контрольных значений, составляя 120,7% от них. Полученные результаты свидетельствуют, что у животных этой группы сохраняются изменения функционирования гипофиз-тиреоидной оси, хотя и имеются статистически значимые различия с гормональными показателями животных опытной группы.

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 в виде добавки к пище новый йодсахаридный органоминеральный комплекс – соединение йода со стевиолгликозидом ребаудиозидом А. Ребаудиозид А – это один из гликозидов растения *Stevia rebaudiana Bertoni*, широко применяющихся в пищевой промышленности и являющихся безопасным подсластителем для продуктов, которые не должны содержать сахар (сахарозу). Он обладает позитивным эффектом на здоровье человека, оказывает гипотензивное и гиполипидемическое действие, проявляет свойства протектора при оксидативном стрессе, используется при ожирении и наборе избыточного веса [165]. Йодсодержащий продукт в мольном соотношении молекулярного йода и ребаудиозида А 1:2 представляет собой устойчивую при хранении, растворимую в воде, совместимую с пищевыми технологиями, биоразлагаемую в желудочно-кишечном тракте композицию (технический регламент «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств» ТРТС 029/2012). Эффективность коррекции йодом экспериментального гипотиреоза подтверждается снижением до физиологического уровня секреции тиреотропина, повышением тиреоидных гормонов. Содержание oT_4 , oT_3 и cT_4 в плазме крови крыс данной группы статистически значимо превышало показатели группы сравнения.

Таким образом, интоксикация тиамазолом приводила к развитию гипотиреоза, а введение вновь синтезированного йодсахаридного комплекса способствовало восстановлению функционального состояния щитовидной железы с нормализацией секреции йодированных гормонов и ТТГ.

Параллельно с изменениями тиреоидного статуса у животных наблюдались сдвиги в функциональной активности и других желез внутренней секреции (Таблица 4).

Таблица 4 – 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 p ₂ =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 p ₂ =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 p ₂ =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 p ₂ =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 гипофункции щитовидной железы у животных второй опытной группы изменяется содержание гормонов гипотизирно-тестикулярной системы – ЛГ, ФСГ и тестостерона. Содержание тестостерона снижается, а секреция гонадотропинов увеличивается. Это отражает сохранение у животных при

гипотиреозе физиологических регуляторных отношений в оси гипофиз – гонады. Полученные нами результаты не противоречат имеющимся в литературе данным о существовании строгого взаимодействия между осями гипофиз – щитовидная железа и гипофиз – гонады [40, 49, 139, 168, 227]. Тиреоидные гормоны влияют на биологическую доступность и действие андрогенов, при гипотиреозе происходит снижение уровня связывающего половые гормоны глобулина (SHBG) [168]. В тестикулах имеются рецепторы тиреоидных гормонов – $TR\alpha$ и $TR\beta$, преимущественно $TR\alpha1$ изоформа [139], в яичниках и ооцитах выявлены иРНК, кодирующие тиреоидные рецепторы $TR\alpha1$, $TR\beta1$, $TR\beta2$ и C-ERB- $TR\alpha2$ [227]. Вследствие этого йоддефицитный гипотиреоз тормозит половое развитие подростков [21, 47]. Гипотиреоз является одним из факторов бесплодия у мужчин [87, 91], гиперпролактинемии у женщин и других клинических проявлений нарушений половых функций [33, 67].

В наших исследованиях развитие экспериментального гипотиреоза сопровождается повышением уровня ПТГ. В литературе имеются указания на реципрокные отношения между йодированными гормонами ЩЖ и паратиреоидным гормоном [127], хотя некоторые исследования показали, что концентрация ПТГ при гипотиреозе остается неизменной [132].

Йодированные гормоны ЩЖ принимают участие в механизмах ответных реакций организма при действии стрессогенных факторов. При этом йодированные ТГ стимулируют секрецию глюкокортикоидов, усиливают их окисление и конъюгацию в печени. Они являются одним из важных компонентов антистресс-системы организма, лимитирующей эффекты патологической стресс-реакции, регулируя уровень белков теплового шока (HSP), запускают репаративные процессы и индуцируют системы, которые устраняют повреждённые клетки, наряду с активацией других компонентов стресс-лимитирующих систем (антиоксидантной, простагландинов, катехоламинов и др.) [39, 86, 120].

В наших исследованиях у животных с экспериментальным гипотиреозом не наблюдалось изменений содержания в плазме крови кортикостерона.

Снижение выработки у опытных групп крыс T_3 и T_4 не отражалось на секреции глюкокортикоидов. В то же время показано, что у каждого третьего больного гипотиреозом при аутоиммунном тиреоидите выявляется гиперкортизолемиа, а при гипертиреозе – у 14% [24]. В серии экспериментов с мерказолиловым гипотиреозом и его сочетании с острым и хроническим стрессом различной этиологии (эмоциональной, химической, физической) показано снижение устойчивости организма к повреждающим факторам [39].

Таким образом, при йододефицитном гипотиреозе у животных наблюдается определённая дискоординация функций эндокринного аппарата. Йодобогатённый рацион питания с использованием нового йодсахаридного комплекса в течение 30 суток после завершения введения тиреостатика полностью восстанавливает физиологические функции не только щитовидной, но и других желёз внутренней секреции.

При гипотиреозе изменяется метаболизм и функции большинства органов и систем, поскольку ТГ имеют рецепторы практически во всех тканях. В механизмах патофизиологических сдвигов при гипотиреозе определённую роль отводят и их негеномным эффектам [120, 134], включая изменения в системе тканевых короткодистантных факторов регуляции (интерлейкины, факторы роста, хемокины и другие цитокины), сдвигам в процессах реализации адаптационно-компенсаторных реакций на разных уровнях [139]. Так, сравнительно давно показано, что у пациентов с гипотиреозом снижение уровня трийодтиронина в сыворотке крови сопровождается повышением содержания ФНО- α [137], наблюдается обратная корреляция между концентрациями в крови T_3 и ИЛ-6 [123] и сильная взаимосвязь между уровнем T_3 и растворимых рецепторов четырёх цитокинов, отражающих активность этих структур [124]. Эти данные, со значимой долей вероятности, свидетельствуют о возможном участии цитокинов в механизмах реализации субклинических проявлений гипотиреоза.

Изучение уровня некоторых провоспалительных интерлейкинов и фактора некроза опухоли альфа в условиях экспериментального гипотиреоза выявило их изменения в плазме крови (Таблица 5).

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

Содержание всех исследуемых цитокинов у животных с гипотиреозом (2-я, опытная) было статистически значимо выше, чем у крыс контрольной группы – ИЛ-1 β повысился до 189,3%, ИЛ-6 – до 119,7%, ФНО- α – до 132,6% (Рисунок 4).

Содержание животных в восстановительном периоде на йодобогатённом рационе приводит к нормализации уровня изучаемых цитокинов, в то время как содержание их только на виварном питании сохраняет статистически значимое повышение содержания ИЛ-1 β и ИЛ-6.

Корреляционный анализ содержания провоспалительных цитокинов с гормонами тиреоидной системы в плазме крови экспериментальных животных выявил наличие прямой связи с уровнем ТТГ и обратной с сТ₄ (Таблица 6).

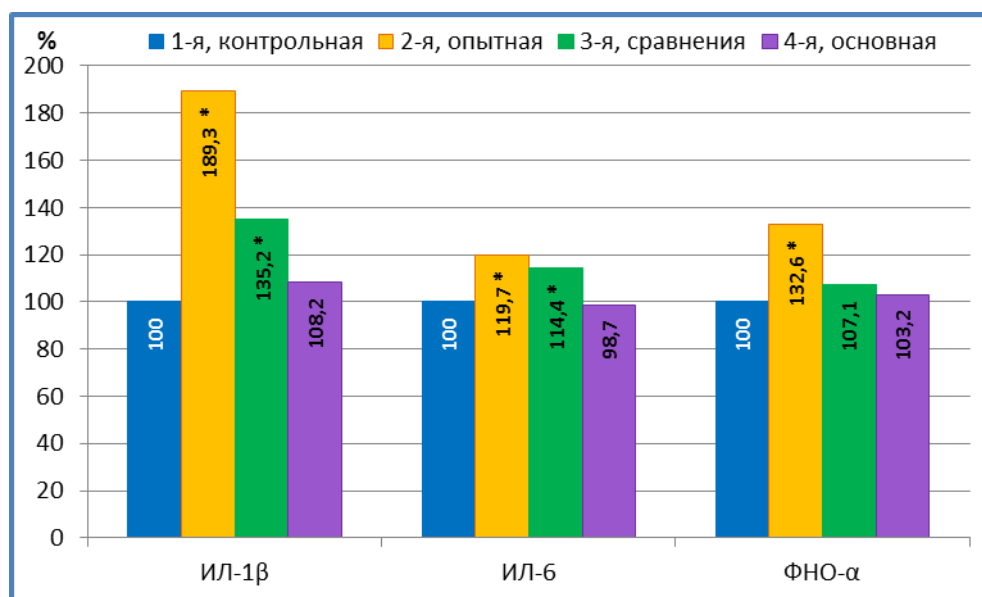


Рисунок 4 – Уровень некоторых цитокинов в плазме крови крыс при экспериментальном гипотиреозе и его коррекции йодсахаридным комплексом (в % к показателям контрольной группы, принятым за 100%)

Таблица 6 – Коэффициенты корреляции (r_s) между содержанием тиреотропина и свободного тироксина с уровнем провоспалительных цитокинов в плазме крови животных с экспериментальным гипотиреозом

Гормоны	Цитокины		
	ИЛ-1 β	ИЛ-6	ФНО- α
ТТГ	0,826, p<0,001	0,504, p=0,001	0,451, p=0,012
cT ₄	-0,692, p<0,001	-0,363, p=0,049	-0,450, p=0,013

Цитокины играют важную роль не только в регуляции миграции, пролиферации, дифференцировки и кооперации иммунокомпетентных и гемопозитических клеток, но и в регуляции функций других клеточных элементов. Способностью к продукции этих цитокинов обладают моноциты/макрофаги, лимфоциты, стромальные, соединительнотканые, эпителиальные, эндотелиальные, синовиальные, дендритные, гладкомышечные, микроглиальные клетки, гепатоциты, адипоциты, астроциты, нейроны. Как правило, эти же клетки имеют специфические рецепторы, через которые

опосредуются биологические эффекты. Цитокины являются важнейшим элементом взаимосвязи функций нервной, эндокринной и иммунной систем и поддержания гомеостаза тканей. Ключевую роль в этих процессах нейроиммунной интеграции, регуляции мотивационных состояний играют провоспалительные цитокины.

Клеточные элементы нервной ткани продуцируют ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α и другие цитокины, экспрессируют и соответствующие к ним специфические рецепторы. Благодаря этому цитокины «периферических» продуцентов через имеющиеся в гематоэнцефалическом барьере участки проникновения повышают продукцию «мозговых» цитокинов и, наоборот, ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α , образующиеся в нервной ткани, поступают в кровь и оказывают активирующее влияние на «периферические» продуценты цитокинов [1]. Важно, что увеличение содержания ФНО- α , ИЛ-1 и интерферона-гамма в крови может быть причиной развития депрессивного синдрома. А повышение концентрации ИЛ-6 ассоциируется с ухудшением познавательных способностей у пациентов с болезнью Альцгеймера. Полагают, что ИЛ-1 β индуцирует высвобождение ИЛ-6, участвующего в регуляции классических механизмов метаболизма нейронов, в том числе в функционировании митогенактивируемых протекиназ (MAPKS) и ядерного фактора транскрипции [85]. ИЛ-1 β изменяет долговременную потенцию в нейронах гиппокампа, оказывает дозозависимый эффект на обучение и память взрослых животных [112], неонатальное повышение его уровня вызывает нарушения условнорефлекторной деятельности и пространственной памяти у взрослых крыс [26], снижение экспрессии гена Fgt2 и продукции мРНК фактора роста фибробластов-2, играющего большую роль в процессах нейропластичности, в дифференцировке и пролиферации клеток ЦНС [107].

Если ранее считали, что нейрогенез или деление клеток-предшественников (нервных стволовых клеток), генерирующих функционально интегрированные нейроны, происходит только в развивающемся мозге, то в последние десятилетия доказано, что этот процесс происходит в мозге

взрослого многих видов млекопитающих, включая человека [152]. Нейрогенез у взрослых постоянно происходит в суправентрикулярной зоне ростральных боковых желудочков, а также в субгранулярной зоне зубчатой извилины гиппокампа. Вновь образованные клетки из субвентрикулярной зоны мигрируют, дифференцируются в нейроны и интегрируются в существующую обонятельную схему, где они играют роль в кратковременной и долговременной обонятельной памяти, а генерируемые в субгранулярной зоне гиппокампа – в пространственном обучении, долговременном сохранении пространственной памяти [175]. Нейрогенез у взрослых происходит также и в других областях мозга (неокортекс, грушевидная кора, лимбические структуры) [152]. Факторы окружающей среды, физические и психосоциальные стрессы, эндогенные факторы (нейротрофические факторы, инсулиноподобный фактор роста, ростовой фактор сосудистого эндотелия, морфогены, нейротрансмиттеры (ГАМК, глутамат), кортикостероиды, эстрогены, андрогены и др.) оказывают модулирующее действие на нейрогенез, что отражается в функциях обучения и памяти (преобразование кратковременной в долговременную, а также пространственную память) [67].

Таким образом, изменения цитокиновой сети с превалированием провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α) плеiotропного действия могут быть одним из патогенетических звеньев изменений физиологических процессов в тканях и органах, особенно высшей нервной деятельности при субклиническом гипотиреозе. ТГ являются ключевыми гомеостатическими факторами, регулирующими нейрогенез у взрослых млекопитающих, влияя, таким образом, на обучение, память и настроение, способствуют спецификации нейрональных стволовых клеток путем подавления гена плюрипотентного Sox2 и генов клеточного цикла Cend1 и Muc.

Гипотиреоз сопровождается истощением нейрогенеза, включая олигодендрогенез, что определяется соотношением на клетках экспрессии рецепторов к Т₃ (TRA1) или к эпидермальному фактору роста (EGFR), а также уровнем активности дейодиназы Д3 [215]. Экспериментальные исследования с

использованием купризона (токсическая модель демиелинизации белого и серого вещества в ЦНС) и пропилтиоурациловой моделью гипотиреоза показали высокие миелино- и аксонопротективные свойства гормональных препаратов щитовидной железы [93]. Предполагается, что при гипофункции щитовидной железы тормозится экспрессия генов, кодирующих синтез структурных белков миелина: миелин-ассоциированного гликопротеина, основного белка миелина, протеолипидного белка, синапсина, RC3 нейрогранина. Это сопровождается снижением продукции миелина и числа миелинизированных аксонов.

3.1.2 Интенсивность процессов свободнорадикального окисления в тканях

Для характеристики состояния процессов свободнорадикального окисления у крыс были изучены интенсивность хемилюминесценции плазмы крови и гомогенатов тканей головного мозга, печени и почек. Полученные результаты представлены в таблице 7.

В плазме крови и гомогенатах тканей животных с экспериментальным гипотиреозом наблюдалось повышение уровня всех показателей хемилюминесценции, характеризующих свободнорадикальное окисление. Спонтанная светимость, определяющая базальную активность радикалообразования, повысилась в плазме крови на 70,2%, $p=0,0079$, в ткани головного мозга на 51,2%, $p=0,0007$, в печени на 82,6%, $p=0,0001$, в почках на 45,6%, $p=0,0008$ (Рисунок 5). Амплитуда быстрой вспышки, которая отражает выраженность радикалообразования, после индуцирования процесса ионами двухвалентного железа в плазме крови и печени также достоверно повышалась (Рисунок 6). Максимальная светимость и светосумма являются показателями, свидетельствующими о способности течения свободнорадикальных процессов в биосубстрате при инициации их ионами металлов переменной валентности. После ежедневного введения тиамазола и достижения гипотиреоза они у животных также были повышенными (Рисунок 7).

Таблица 7 – Интенсивность хемилюминесценции 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±0,24	1,92±0,39	1,64±0,42	5,52±1,26
	2-я, опытная	1,60±0,34 p=0,0079	3,92±0,91 p=0,0024	2,29±0,50 p=0,0239	6,59±0,67 p=0,0589
	3-я, сравнения	0,98±0,09 p=1,0000 p₁=0,0024	1,96±0,21 p=1,0000 p₁=0,0002	2,14±0,25 p=0,0363 p ₁ =1,0000	6,29±0,57 p=0,2173 p ₁ =1,0000
	4-я, основная	0,85±0,11 p=1,0000 p₁=0,0025 p ₂ =1,0000	2,11±0,25 p=1,0000 p₁=0,0182 p ₂ =1,0000	1,60±0,21 p=1,0000 p₁=0,0076 p₂=0,0120	5,50±0,31 p=1,0000 p₁=0,0254 p ₂ =0,1062
Головной мозг	1-я, контрольная	1,25±0,14	4,40±0,54	2,53±0,40	7,62±0,82
	2-я, опытная	1,89±0,30 p=0,0007	4,96±0,70 p=0,8602	3,64±0,45 p=0,0006	9,22±0,59 p=0,0007
	3-я, сравнения	1,74±0,33 p=0,0066 p ₁ =1,0000	4,72±0,30 p=1,0000 p ₁ =1,0000	3,58±0,45 p=0,0011 p ₁ =1,0000	8,72±0,53 p=0,0657 p ₁ =0,7341
	4-я, основная	1,27±0,17 p=1,0000 p₁=0,0038 p₂=0,0278	4,39±0,53 p=1,0000 p ₁ =1,0000 p ₂ =0,9416	2,88±0,55 p=1,0000 p₁=0,0323 p₂=0,0498	7,39±0,87 p=1,0000 p₁=0,0002 p₂=0,0278
Печень	1-я, контрольная	1,44±0,11	6,09±0,38	9,58±0,73	16,89±0,86
	2-я, опытная	2,63±0,23 p=0,0001	8,19±0,55 p=0,0385	10,86±0,92 p=0,0199	19,89±0,96 p=0,0015
	3-я, сравнения	1,97±0,27 p=0,0199 p₁=0,0452	8,94±0,45 p=0,0019 p ₁ =0,9084	10,35±0,61 p=0,3132 p ₁ =1,0000	19,41±0,82 p=0,0124 p ₁ =1,0000
	4-я, основная	1,45±0,14 p=1,0000 p₁=0,0002 p₂=0,0226	5,78±0,52 p=1,0000 p₁=0,0029 p₂=0,0005	9,01±0,67 p=1,0000 p₁=0,0034 p₂=0,0145	16,1±0,71 p=1,0000 p₁=0,0003 p₂=0,0004
Почки	1-я, контрольная	1,80±0,11	6,58±0,72	5,69±0,81	12,67±0,68
	2-я, опытная	2,62±0,33 p=0,0008	7,69±0,43 p=0,0657	7,94±0,49 p=0,0001	16,49±1,18 p=0,0017
	3-я, сравнения	2,32±0,29 p=0,0079 p ₁ =1,0000	8,0±0,42 p=0,0026 p ₁ =1,0000	6,25±0,35 p=0,4707 p ₁ =0,0676	16,1±0,72 p=0,0046 p ₁ =1,0000
	4-я, основная	1,88±0,16 p=1,0000 p₁=0,0053 p₂=0,0323	5,97±0,59 p=0,8914 p₁=0,0017 p₂=0,0002	5,61±0,28 p=1,0000 p₁=0,0003 p ₂ =0,2498	12,27±0,50 p=1,0000 p₁=0,0001 p₂=0,0004
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p ₁ – со 2-й, p ₂ – с 3-й группами, тесты Крускала-Уоллиса и Данна					

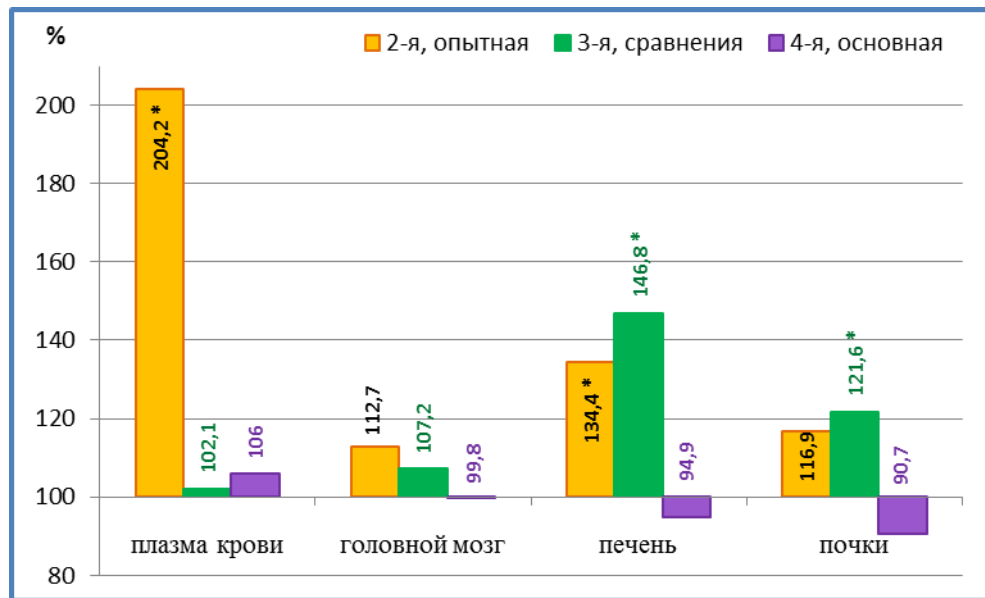


Рисунок 5 – Базальная активность радикалообразования в плазме крови и некоторых тканях при экспериментальном гипотиреозе и его коррекции йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

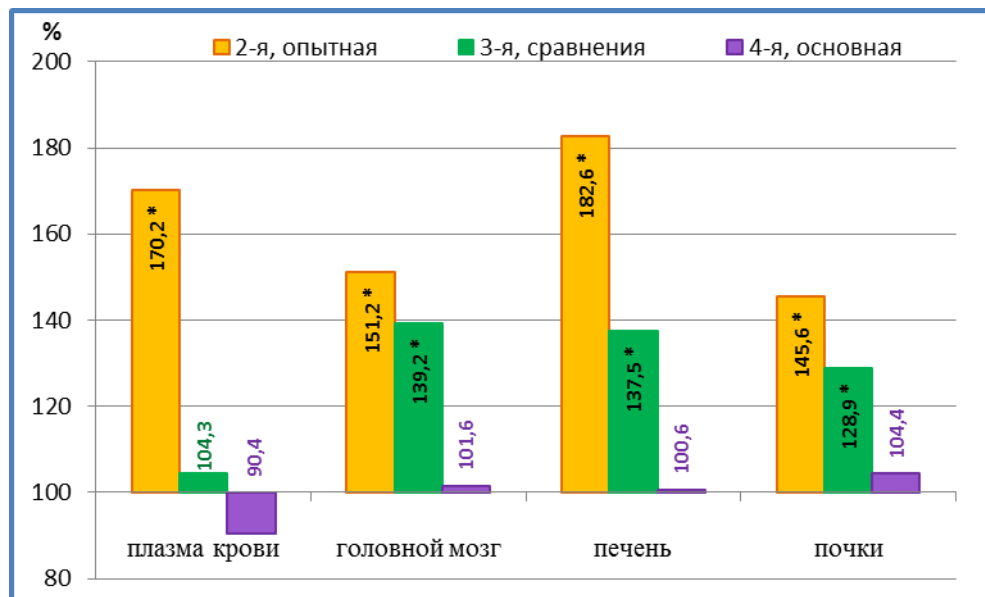


Рисунок 6 – Изменения амплитуды быстрой вспышки при железоиндуцированной хемилюминесценции плазмы крови и некоторых тканей при экспериментальном гипотиреозе и его коррекции йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

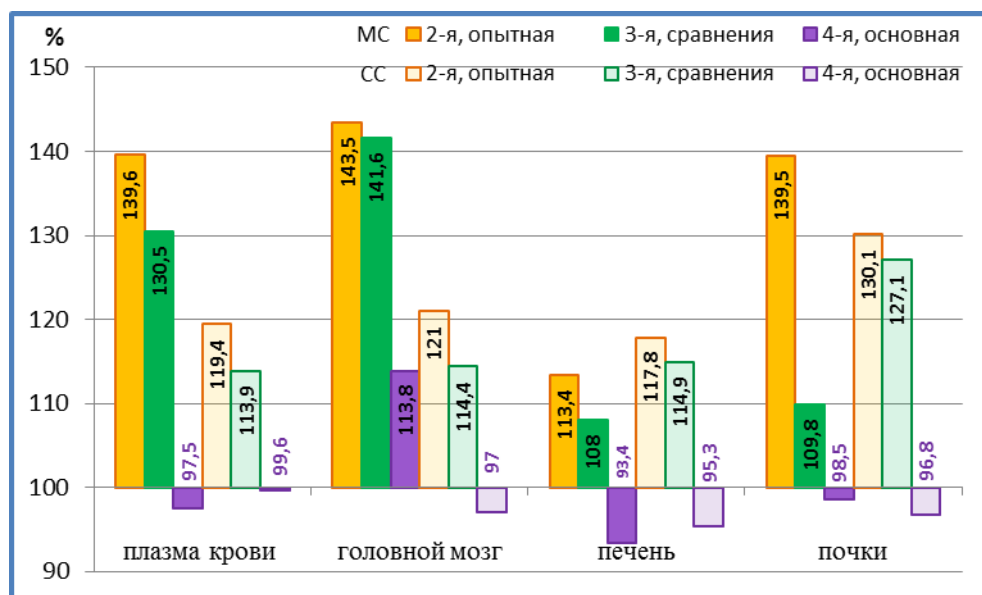


Рисунок 7 – Динамика максимальной светимости (амплитуды медленной вспышки) и светосуммы при железоиндуцированной хемилюминесценции плазмы крови и некоторых тканей при экспериментальном гипотиреозе и его коррекции йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

Примечание: MC – максимальная светимость, CC – светосумма

У животных третьей группы (сравнения), находившихся в течение 30 суток восстановительного периода на виварном рационе питания, показатели свободнорадикальных процессов повышались. При этом спонтанная светимость в гомогенатах тканей (головной мозг, печень, почки) сохранялась на более высоком уровне, чем у животных контрольной группы, характеризуя продолжающуюся интенсификацию радикалообразования. В тканях в этой группе крыс также на повышенном уровне оставалась и амплитуда быстрой вспышки. Более того, в печени и почках этот показатель практически не снижался, статистически не отличаясь от уровня крыс опытной группы. У животных третьей группы оставались на повышенных уровнях максимальная светимость, или амплитуда индуцированной медленной вспышки, и светосумма во всех исследуемых биоматериалах (Рисунок 7).

У животных четвертой группы (основная), получавших ежедневно в восстановительном периоде йодсахаридный комплекс в дозе 2,5 мкг йода на 100 г массы тела, все изучаемые показатели хемилюминесценции в плазме

крови и тканях снижались и статистически значимо не отличались от данных контрольной группы крыс.

Для характеристики свободнорадикальных процессов при гипотиреозе мы использовали и другой метод оценки – образование продуктов перекисного окисления липидов. Содержание продуктов ПОЛ изучали при помощи экстракционно-спектрографического метода с отдельной регистрацией липопероксидов в гептановой и изопропанольной средах липидного экстракта, который позволяет осуществлять дифференцированное определение перекисленные радикалы жирных кислот в структуре фосфолипидов, извлекаемых изопропанолом, и неэстерифицированные интермедиаты перекиса жирных кислот, экстрагируемые гептановой фазой [106]. Первичными продуктами ПОЛ являются диеновые конъюгаты (ДК) и гидроксирадикалы жирных кислот, вторичными – кетодиены и сопряженные триены (КД и СТ). Кроме того определяли продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой. Результаты исследования представлены в таблице 8.

У животных второй группы (опытная) с экспериментальным гипотиреозом выявилось значительное увеличение первичных продуктов ПОЛ во всех изучаемых биосубстратах как в гептановой, так и изопропаноловой фазах (Рисунок 8).

Наиболее выраженное повышение содержания диеновых конъюгатов наблюдалось в тканях головного мозга и печени крыс. Так, концентрация диеновых конъюгатов в гептановой фазе липидного экстракта головного мозга составляла 223,8% ($p=0,0002$), в изопропаноловой фазе – 171,2% ($p=0,0002$) по отношению к показателям животных контрольной группы, в печени соответственно – 175,3% ($p=0,0002$) и 170,8% ($p=0,0002$).

Содержание крыс на виварном питании после завершения введения тиреостатика приводило к снижению уровня первичных продуктов липоперекиса как в плазме крови, так и в тканях.

Таблица 8 – Уровень продуктов липопероксидации в плазме крови и тканях при экспериментальном гипотиреозе у крыс и его коррекции йодсахаридным комплексом, $M \pm \sigma$

Ткани	Группа животных, n=10	Показатели, усл. ед.			
		Гептановая фаза		Изопропаноловая фаза	
		ДК	КД и СТ	ДК	КД и СТ
Плазма крови	1-я, контрольная	0,80±0,06	0,27±0,03	2,32±0,11	1,15±0,17
	2-я, опытная	1,32±0,18 p=0,0002	0,36±0,04 p=0,0002	2,83±0,16 p=0,0001	2,04±0,12 p=0,0002
	3-я, сравнения	1,06±0,13 p=0,0038 p₁=0,0002	0,30±0,05 p=0,2597 p₁=0,0005	2,77±0,14 p=0,0001 p ₁ =0,4576	1,59±0,20 p=0,0002 p₁=0,0012
	4-я, основная	0,97±0,12 p=0,0076 p₁=0,0001 p ₂ =0,1291	0,28±0,03 p=0,7246 p₁=0,0002 p ₂ =0,2218	2,44±0,26 p=0,1555 p₁=0,0016 p₂=0,0025	1,42±0,13 p=0,0007 p₁=0,0002 p₂=0,0199
Головной мозг	1-я, контрольная	0,30±0,03	0,16±0,02	0,59±0,06	0,14±0,02
	2-я, опытная	0,67±0,12 p=0,0002	0,24±0,03 p=0,0002	1,01±0,12 p=0,0002	0,35±0,05 p=0,0001
	3-я, сравнения	0,42±0,06 p=0,0047 p₁=0,0012	0,19±0,02 p=0,0293 p₁=0,0039	0,79±0,11 p=0,0002 p₁=0,0013	0,23±0,05 p=0,0002 p₁=0,0025
	4-я, основная	0,37±0,06 p=0,0514 p₁=0,0013 p ₂ =0,1748	0,17±0,02 p=0,9295 p₁=0,0002 p₂=0,0139	0,65±0,07 p=0,1012 p₁=0,0012 p₂=0,0019	0,19±0,03 p=0,0103 p₁=0,0013 p₂=0,0012
Печень	1-я, контрольная	0,54±0,05	0,20±0,03	0,89±0,04	0,31±0,04
	2-я, опытная	0,95±0,08 p=0,0002	0,46±0,05 p=0,0001	1,52±0,13 p=0,0002	0,66±0,06 p=0,0001
	3-я, сравнения	0,78±0,07 p=0,0001 p₁=0,0012	0,34±0,04 p=0,0001 p₁=0,0012	0,97±0,12 p=0,1614 p₁=0,0001	0,42±0,07 p=0,0008 p₁=0,0012
	4-я, основная	0,57±0,06 p=0,2323 p₁=0,0003 p₂=0,0007	0,25±0,06 p=0,0139 p₁=0,0002 p₂=0,0012	0,95±0,10 p=0,1947 p₁=0,0001 p ₂ =0,5853	0,37±0,06 p=0,0445 p₁=0,0002 p ₂ =0,0522
Почки	1-я, контрольная	0,18±0,03	0,07±0,02	0,75±0,06	0,30±0,03
	2-я, опытная	0,23±0,03 p=0,0002	0,12±0,01 p=0,0002	0,92±0,08 p=0,0002	0,57±0,05 p=0,0002
	3-я, сравнения	0,19±0,02 p=0,5755 p₁=0,0003	0,11±0,01 p=0,0002 p ₁ =0,4459	0,87±0,04 p=0,0004 p ₁ =0,0576	0,42±0,04 p=0,0002 p₁=0,0001
	4-я, основная	0,18±0,02 p=0,7637 p₁=0,0002 p ₂ =0,4843	0,08±0,01 p=0,0854 p₁=0,0002 p₂=0,0003	0,81±0,04 p=0,0421 p₁=0,0005 p₂=0,0301	0,34±0,03 p=0,0324 p₁=0,0001 p₂=0,0015
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p ₁ – со 2-й, p ₂ – с 3-й группами, тест Бонферрони					

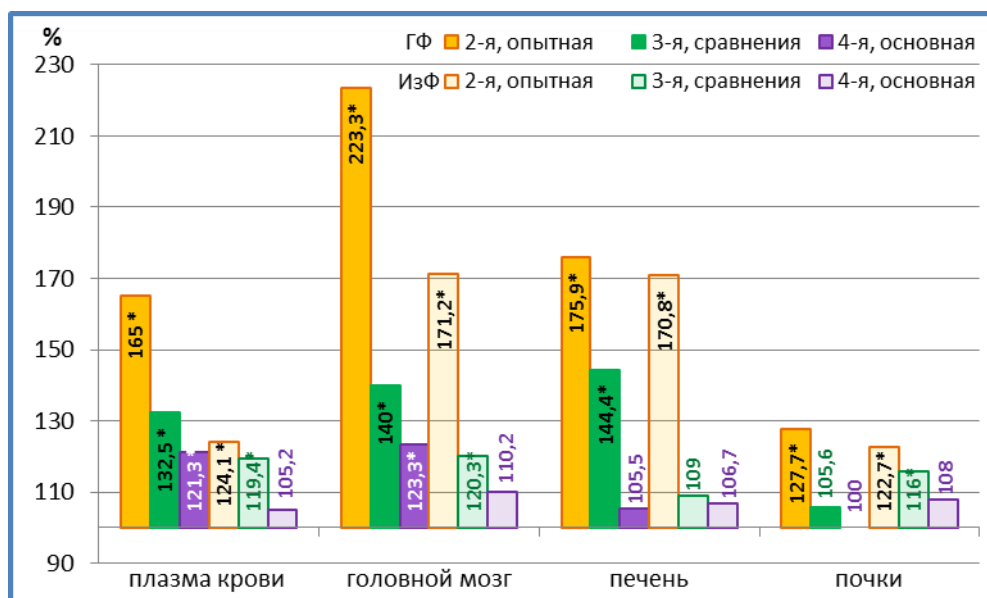


Рисунок 8 – Динамика изменений концентрации диеновых конъюгатов в гептановой и изопропаноловой фазах липидного экстракта плазмы крови и некоторых тканей крыс при экспериментальном гипотиреозе и его коррекции йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

Примечание: ГФ – гептановая фаза, ИзФ – изопропаноловая фаза

Однако уровень диеновых конъюгатов в гептановой фазе у животных третьей группы (сравнения) в плазме крови, тканях головного мозга, печени и через 30 суток восстановительного периода сохранялся на статистически более высоких значениях, чем у крыс контрольной группы, хотя и был достоверно ниже показателей животных опытной (2-й) группы во всех исследуемых биосубстратах. В изопропаноловой фазе липидного экстракта, преимущественно содержащего перекисленные ацилы дифильных липидов, содержание диеновых конъюгатов в плазме крови, головном мозге и почках сохранялось на статистически более высоком уровне, чем в контрольной группе, в то же время снижение концентрации первичных продуктов ПОЛ наблюдалось во всех тканях ($p < 0,001$).

Использование в восстановительном периоде йодирования пищевого рациона из расчета 2,5 мкг йода на 100 г массы тела животного ежедневно в течение 30 дней в виде композиции йода со стевиолгликозидом ребаудиозида А как органической матрицы, биоразлагаемой в пищеварительном тракте (4-я,

основная группа), способствовало статистически значимому снижению интенсивности липопероксидации в плазме крови и тканях с образованием первичных продуктов ПОЛ (Рисунок 8). У животных этой группы содержание диеновых конъюгатов в головном мозге и почках статистически не отличалось от показателей крыс контрольной группы, но в плазме крови и печени были на более высоком, чем в контроле уровне, отражая сохранение метаболических изменений, характерных для гипотиреозного состояния. Более существенно эти процессы проявились при определении концентрации первичных продуктов ПОЛ в изопропаноловой фракции. В плазме крови, гомогенатах тканей головного мозга, печени и почек у крыс 4-й группы уровень диеновых конъюгатов оказался статистически значимо выше, чем в контрольной группе, хотя и незначительно (от 5,2% до 10,2%).

Изучение содержания вторичных продуктов липопероксидации – кетодиенов и сопряженных триенов в обеих фазах гептан-изопропаноловой экстрактов липидов выявило аналогичную динамику изменений (Рисунок 9).

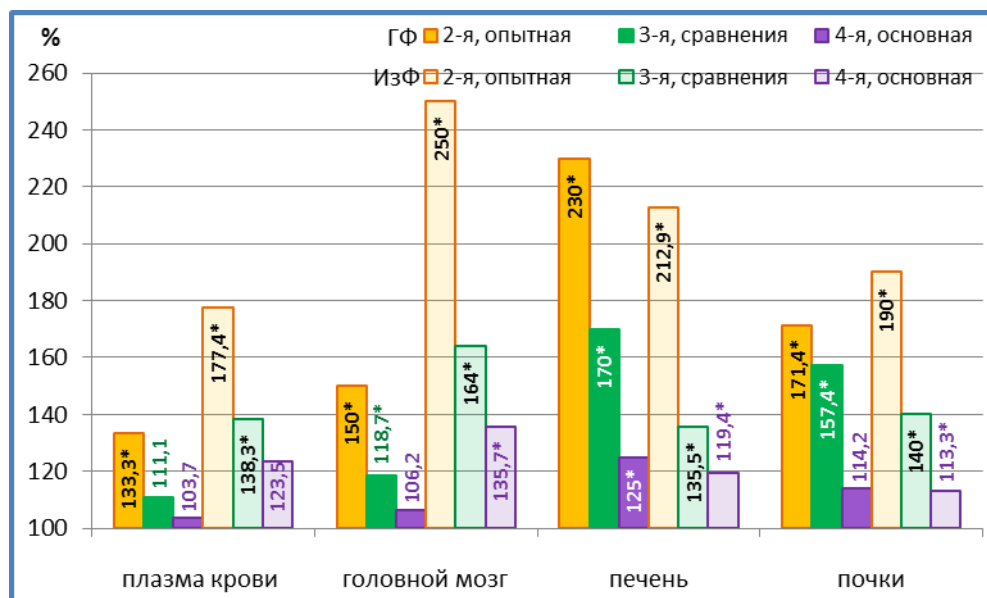


Рисунок 9 – Уровень вторичных продуктов (кетодиенов и сопряженных триенов) в гептановой и изопропаноловой фазах липидного экстракта плазмы крови и некоторых тканей у крыс с экспериментальным гипотиреозом и его коррекции йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

Примечание: ГФ – гептановая фаза, ИзФ – изопропаноловая фаза

У животных опытной группы с экспериментальным гипотиреозом было установлено выраженное увеличение их концентрации. Уровень кетодиенов и сопряженных триенов в гептановой фазе липидного экстракта в плазме крови крыс с гипотиреозом увеличился по сравнению с контролем на 33,3% ($p=0,0002$), в головном мозге на 50% ($p=0,0002$), в печени на 130% ($p=0,0001$), в почках на 71,4% ($p=0,0002$). В изопропаноловой фазе уровень вторичных продуктов ПОЛ во всех тканях, кроме печени, у крыс с гипотиреозом оказался выше, чем в гептановой. Так, содержание кетодиенов и сопряженных триенов в опытной группе крыс было больше, чем у контрольных в плазме крови на 77,4% ($p=0,0002$), в тканях головного мозга – на 150% ($p=0,0001$), в печени на 112,9% ($p=0,0001$), в почках на 90% ($p=0,0002$).

У крыс третьей группы после восстановительного периода концентрация вторичных продуктов липопероксидации достоверно снижалась, но не достигала контрольных значений ни в гептановой, ни в изопропаноловой фазах липидного экстракта тканей и плазмы крови. Содержание кетодиенов и сопряженных триенов в гептановой фазе у животных 4-й группы в биосубстратах на фоне коррекции гипотиреоза йодированием рациона питания в восстановительном периоде существенно снижалось, достигая в головном мозге, почках, плазме крови уровня физиологических колебаний. В изопропаноловой фазе во всех исследуемых тканях и плазме крови, несмотря на значительное снижение, концентрация вторичных продуктов ПОЛ у животных этой группы оказалась на достоверно более высоком уровне, чем в контроле. Эти результаты отражают сохранение в ацилах дифильных липидов (фосфолипиды, гликолипиды), составляющих основу биологических мембран в тканях, явлений, характерных для интенсификации свободнорадикальных процессов, хотя гормональный статус животных этой группы практически не отличался от нормы.

Вещества, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, преимущественно являются вторичными продуктами перекисного окисления липидов и других соединений (малоновый диальдегид, 4-гидрокси-2-ноненаль, другие альдегиды, кетоны). Результаты определения ТБК-активных продуктов подтверждают

данные изучения свободнорадикальных процессов, полученные в наших экспериментах другими методами (Таблица 9).

Таблица 9 – Содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой в плазме крови и некоторых тканях крыс с гипотиреозом и при его коррекции йодсахаридным комплексом, $M \pm \sigma$

Гормоны	Группы животных, n=10			
	1-я, контрольная	2-я, опытная	3-я, сравнения	4-я, основная
Плазма крови, мкмоль/л	1,81±0,08	2,20±0,14 p=0,0016	1,91±0,11 p=0,0981 p ₁ =0,0634	1,83±0,07 p=0,7354 p₁=0,0021 p ₂ =0,0822
Головной мозг, нмоль/л	2,56±0,27	3,93±0,32 p=0,0002	3,24±0,17 p=0,0001 p₁=0,0012	2,82±0,23 p=0,0227 p₁=0,0002 p₂=0,0008
Печень, нмоль/г	3,51±0,21	5,41±0,32 p=0,0001	4,31±0,32 p=0,0002 p₁=0,0002	3,84±0,22 p=0,0119 p₁=0,0001 p₂=0,0005
Почки, нмоль/г	1,99±0,11	3,16±0,28 p=0,0002	2,37±0,26 p=0,0069 p₁=0,0001	2,19±0,13 p=0,0344 p₁=0,0001 p ₂ =0,0615
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p ₁ – со 2-й, p ₂ – с 3-й группами, ANOVA, тест Бонферрони				

У крыс опытной группы в тканях и плазме крови наблюдается повышенный уровень этих веществ. Содержание ТБК-реагирующих соединений в плазме крови повышается у крыс с мерказолиловым гипотиреозом до 121,5%, в головном мозге до 153,5%, печени – до 154,1%, в почках – до 158,8% (Рисунок 10).

У группы животных, у которых с использованием йодсахаридного комплекса в восстановительном периоде осуществлялась коррекция гипотиреоза (4-я группа), содержание ТБК-активных веществ в тканях резко снижалась, но не достагало уровня контроля, хотя было статистически значимо ниже, чем в третьей группе (сравнения).

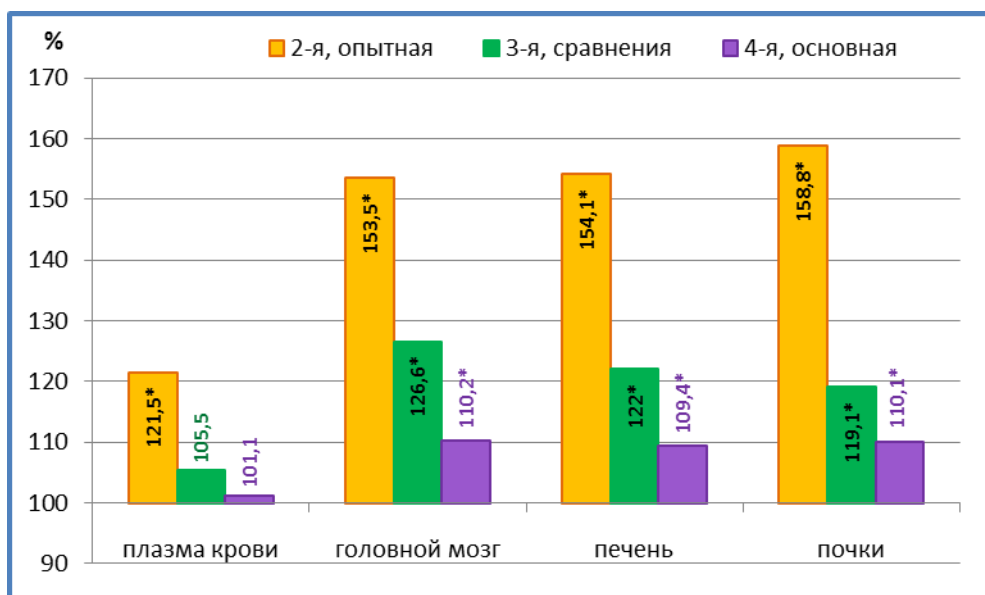


Рисунок 10 – Уровень ТБК-активных продуктов в плазме крови и тканях крыс с экспериментальным гипотиреозом и при его коррекции йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

Таким образом, результаты изучения состояния процессов свободнорадикального окисления в тканях головного мозга, печени и почек, в плазме крови методами железоиндуцированной хемилюминесценции и определения уровня первичных и вторичных продуктов ПОЛ показывают, что при гипотиреозе у животных наблюдается усиление окислительных процессов с развитием оксидативного стресса, выраженного в разных тканях с различной интенсивностью. Применение нового йодсодержащего комплекса на основе стевиолгликозида ребаудиозида А после прекращения интоксикации мерказолилом в дозах йода 2,5 мкг на 100 г массы крысы приводило к более выраженному снижению и нормализации свободнорадикальных процессов на фоне восстановления функционального состояния ЩЖ с достижением физиологического уровня секреции йодированных гормонов и тиреотропина.

Однако до настоящего времени нет единого мнения о механизмах влияния ТГ на процессы свободнорадикального окисления, хотя имеется множество данных, свидетельствующих о том, что дисфункция ЩЖ, как гипертиреоз, так и гипотиреоз, приводит к изменению содержания в тканях

продуктов ПОЛ и интенсивности образования АФК с развитием окислительного стресса [54, 60, 74, 83, 90, 144]. При обсуждении механизмов развития окислительного стресса дискутируются влияние тиреоидных гормонов на окислительно-восстановительные процессы и их способность модулировать митохондриальную функцию (массу митохондрий, течение окислительного фосфорилирования, интенсивность биосинтеза митохондриальных белков, фосфолипидов и ДНК) и, как следствие, изменение уровня и активности прооксидантов, развитие и выраженность свободнорадикальных процессов [126, 211], а также сдвиги степени насыщенности жирных кислот, как основных объектов СРО липидных компонентов биологических мембран, изменения уровня рецепторов и повышение чувствительности к катехоламинам и другие механизмы [83, 205, 207]. Дисбаланс в системе про-/антиоксиданты при дисфункции ЩЖ возможно связан с развитием недостаточности механизмов антиоксидантной системы. Так, у пациентов с токсическим зобом, гипотиреозом вследствие аутоиммунного тиреоидита первичного медикаментозно компенсированного, после тиреоидэктомии наблюдалось повышение уровня продуктов ПОЛ и окислительной модификации биомолекул на фоне снижения активности СОД и каталазы, концентрации тиоловых групп и общей антиоксидантной активности плазмы крови [90]. Повышение продуктов липопероксидации (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид) после тиреоидэктомии обнаружили и другие авторы [54]. Поскольку при этом выражено снижались в крови активность СОД и каталазы, содержание α -токоферола и восстановленного глутатиона, исследователи пришли к заключению, что развитие гипотиреоидного статуса сопряжено с процессами расходования резервов и недостаточности антиоксидантной системы, которая происходит на фоне вторичной активации перекисного окисления липидов. В то же время, по данным других авторов [83], при экспериментальном гипотиреозе, вызванном введением тиреостатика, интенсификация перекисного окисления липидов

сопровождается повышением активности ферментов антиоксидантной защиты, хотя и статистически не значимо.

3.1.3 Активность ферментов антиоксидантной защиты

В этой связи в следующей серии экспериментов в тканях головного мозга, печени и почках было проведено определение активности основных антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГПО) и каталазы (КАТ). Результаты представлены в таблице 10.

Развитие гипотиреоза под влиянием тиреостатика у животных второй группы сопровождалось статистически значимым снижением активности антиоксидантных ферментов практически во всех исследуемых тканях. Активность глутатионпероксидазы в тканях головного мозга и печени уменьшилась более чем на 30% (Рисунок 11), что согласуется с данными других авторов [60, 74]. Активность каталазы снижалась в печени и почках до 62,1% и 66,4% соответственно, активность СОД – до 87,7% и 85,7% от уровня контрольных животных, что возможно связано с индуцирующим влиянием тиреоидных гормонов на дельта-аминолевулинатсинтетазу, лимитирующую скорость биосинтеза гема.

У животных третьей группы активность антиоксидантных ферментов несколько восстанавливалась, однако их активность оставалась на более низком уровне, чем в контроле. Стимуляция восстановления функции ЩЖ йодом путем ежедневного введения йодсахаридного комплекса на основе стевиолгликозида ребаудиозида А повышала активность основных антиоксидантных ферментов тканей до контрольных значений.

Таблица 10 – Активность ферментов антиоксидантной защиты в некоторых тканях крыс при экспериментальном гипотиреозе и его коррекции йодсахаридным комплексом, $M \pm \sigma$

Ткани	Ферменты	Группы животных, n=10			
		1-я, контрольная	2-я, опытная	3-я, сравнения	4-я, основная
Головной мозг	СОД, Ед/мг белка	1,24±0,27	0,84±0,09 p=0,0007	0,89±0,22 p=0,0030 p ₁ =1,0	1,19±0,21 p=1,0 p₁=0,0032 p₂=0,0132
	ГПО, Е/мг белка	0,46±0,08	0,29±0,08 p=0,0002	0,40±0,10 p=0,8105 p₁=0,0202	0,44±0,07 p=1,0 p₁=0,0011 p ₂ =1,0
	КАТ, мкмоль/ мин·мг белка	0,87±0,19	0,72±0,13 p=1,0	0,80±0,14 p=1,0 p ₁ =1,0	0,88±0,13 p=1,0 p ₁ =1,0 p ₂ =1,0
Печень	СОД, Ед/мг белка	20,84±1,96	18,27±1,26 p=0,0229	19,12±2,22 p=0,2743 p ₁ =1,0	22,42±1,86 p=0,3918 p₁<0,0001 p₂=0,0019
	ГПО, Е/мг белка	0,86±0,09	0,58±0,09 p<0,0001	0,63±0,07 p<0,0001 p ₁ =0,4611	0,94±0,14 p=0,4612 p₁<0,0001 p₂<0,0001
	КАТ, мкмоль/ мин·мг белка	5,10±0,05	3,18±0,17 p<0,0001	4,0±0,09 p<0,0001 p ₁ =1,0	5,37±0,20 p=1,0 p₁<0,0001 p₂<0,0001
Почки	СОД, Ед/мг белка	8,27±0,62	7,09±0,54 p<0,0001	7,78±0,47 p=0,2656 p₁=0,0337	8,85±0,14 p=0,1085 p₁<0,0001 p₂=0,0003
	ГПО, Е/мг белка	14,24±1,32	12,79±0,70 p=0,0110	12,7±0,72 p=0,0062 p ₁ =1,0	13,98±1,01 p=1,0 p ₁ =0,0541 p₂=0,0317
	КАТ, мкмоль/ мин·мг белка	1,46±0,23	0,97±0,18 p<0,0001	1,06±0,17 p=0,0006 p ₁ =1,0	1,38±0,22 p=1,0 p₁=0,0004 p₂=0,0082
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p ₁ – со 2-й, p ₂ – с 3-й группами, ANOVA, тест Бонферрони					

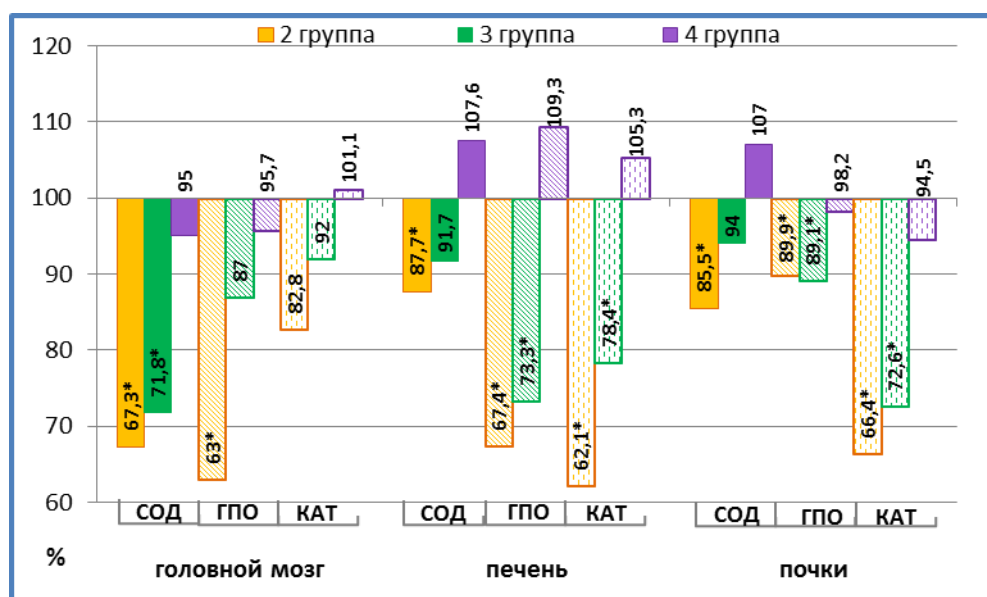


Рисунок 11 – Динамика активности антиоксидантных ферментов в тканях крыс с экспериментальным гипотиреозом при его коррекции йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

Таким образом, развитие гипотиреоза со снижением секреции ТГ – общего и свободного тироксина, общего трийодтиронина и повышением секреции ТТГ при ежедневном внутрижелудочном введении мерказолила (тиамазола) в течение 21 суток из расчета 2,5 мг йода / 100 г массы животного вызывает нарушения гормонального статуса со снижением выработки у самцов крыс тестостерона, активацией продукции гонадотропных гормонов (ЛГ, ФСГ), паратиреоидного гормона. Уровень секреции глюкокортикоидов при этом практически не изменяется. В тканях развитие гипотиреоидного статуса сопровождается усилением процессов свободнорадикального окисления и снижением активности основных антиоксидантных ферментов. Йодсахаридный комплекс на основе ребаудиозида А представляется эффективным средством для стимуляции йодом функции щитовидной железы и других желёз внутренней секреции, коррекции окислительных процессов в тканях со снижением интенсивности радикалообразования спонтанного и железоиндуцированного, уровня продуктов ПОЛ и активацией ферментов антиоксидантной защиты.

3.2 Когнитивная функция и окислительный баланс у потомства животных с экспериментальным гипотиреозом и его коррекции йодсахаридным комплексом

На втором этапе исследования решали две основные задачи: как влияет экспериментальный мерказолиловый гипотиреоз у родителей на когнитивную функцию и состояние оксидантной и антиоксидантной систем в ткани головного мозга потомства, во-первых, и как влияет на эти процессы коррекция функции ЩЖ у родителей новым йодсахаридным комплексом на основе стевиолгликозида ребаудиозида А, во-вторых. Эксперименты проводили на крысятах-самцах, родившихся у животных соответствующих групп: 1-й – контрольной, 2-й – опытной, 3-ей – сравнения, 4-й – основной. У контрольной группы родителям (самки и самцы) в течение 21 суток внутрижелудочно вводили воду. Родителям опытной группы в течение 21 суток внутрижелудочно ежедневно вводили мерказолил (тиамазол) по 2,5 мг / 100 г массы тела. На 22-е сутки животных 1-й и 2-й групп (каждую в отдельности) спаривали, помещая в отдельные клетки по 2 самки и 1 самцу. Крыс 3-й и 4-й групп в течение 21 суток так же, как и животных 2-й группы, подвергали воздействию тиреостатика, затем в течение 30 суток они проходили период восстановления, после чего крыс соответствующих групп спаривали. В восстановительном периоде крысы 3-й группы находились на виварном рационе, а 4-й группы на йодобогатённом рационе из расчета 2,5 мкг йода / 100 г массы тела в виде йодстевиолгликозида ребаудиозида А.

Оценивали количество крысят, родившихся в помете, их массу тела через 1, 2 и 3 месяца. У крысят-самцов в возрасте 2-х месяцев по 10 в каждой группе (контрольной, опытной, сравнения и основной) изучали гормональный статус, когнитивные функции и окислительный баланс тканей головного мозга и печени. Количество крысят на одну самку в 10 пометах в отдельных группах статистически значимо не отличалось, хотя их и было несколько меньше во 2-й

опытной группе: 1-я – $9,25 \pm 0,80$ ($M \pm \sigma$), 2-я – $8,75 \pm 1,04$, 3-я – $9,0 \pm 1,22$, 4-я – $9,5 \pm 1,15$.

3.2.1 Изменения массы тела крысят

Результаты измерения массы тела крысят приведены в таблице 11.

Потомство животных, перенесших экспериментальный гипотиреоз (2-я группа), статистически значимо отставала в массе тела во все сроки исследования. Животные 3-й (сравнения) и 4-й (основная), родившиеся от родителей, перенесших экспериментальный гипотиреоз, но прошедших 30-суточный период восстановления, также отставали в росте от группы контроля. При этом у крысят 3-й группы масса тела была статистически значимо выше, чем у крысят 2-й группы на второй и третий месяцы исследования, а у 4-й группы за весь период наблюдения. Различия в массе тела животных 3-й и 4-й групп были достоверными на 1-й и 3-й месяцы эксперимента.

Таблица 11 – Масса тела крысят у потомства животных с экспериментальным гипотиреозом и его коррекции йодсахаридным комплексом, $M \pm \sigma$

Возраст крысят	Группы животных			
	1-я контрольная	2-я опытная	3-я сравнения	4-я основная
1 месяц, n=40	$45,1 \pm 1,42$	$36,8 \pm 2,12$ p=0,0001	$35,6 \pm 3,42$ p=0,0001 $p_1=0,0796$	$39,4 \pm 3,54$ p=0,0008 p₁=0,0007 p₂=0,0005
2 месяц, n=40	$86,1 \pm 2,85$	$72,9 \pm 2,86$ p=0,0001	$78,1 \pm 7,05$ p=0,0112 p₁=0,0004	$80,5 \pm 3,88$ p=0,0024 p₁=0,0001 $p_2=0,0916$
3 месяц, n=30	$170,1 \pm 3,67$	$146,2 \pm 3,44$ p=0,0001	$155,4 \pm 3,41$ p=0,0001 p₁=0,0022	$161,1 \pm 3,11$ p=0,0001 p₁=0,0021 p₂=0,0061
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p ₁ – со 2-й, p ₂ – с 3-й группами, ANOVA, тест Бонферрони				

3.2.2 Характеристика тиреоидного статуса

У крысят животных разных групп в двухмесячном возрасте также изучали гормональный статус. У потомства гипотиреозных крыс выявились изменения, характерные для недостаточности функции щитовидной железы. У крысят 2-й опытной группы в плазме крови уровень ТТГ был увеличен до 136,8% от показателей животных контрольной группы, а общего и свободного тироксина, общего трийодтиронина снижен соответственно на 25,1%, 18,5% и 28,4% (Таблица 12, Рисунок 12).

У крыс 3-й группы сохранялись признаки гипотиреоза, несколько повышенной оказалась концентрация тиреотропина, 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 12 – 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 p ₂ =0,9682
оТ 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 p ₂ =1,0
оТ 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
сТ 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				

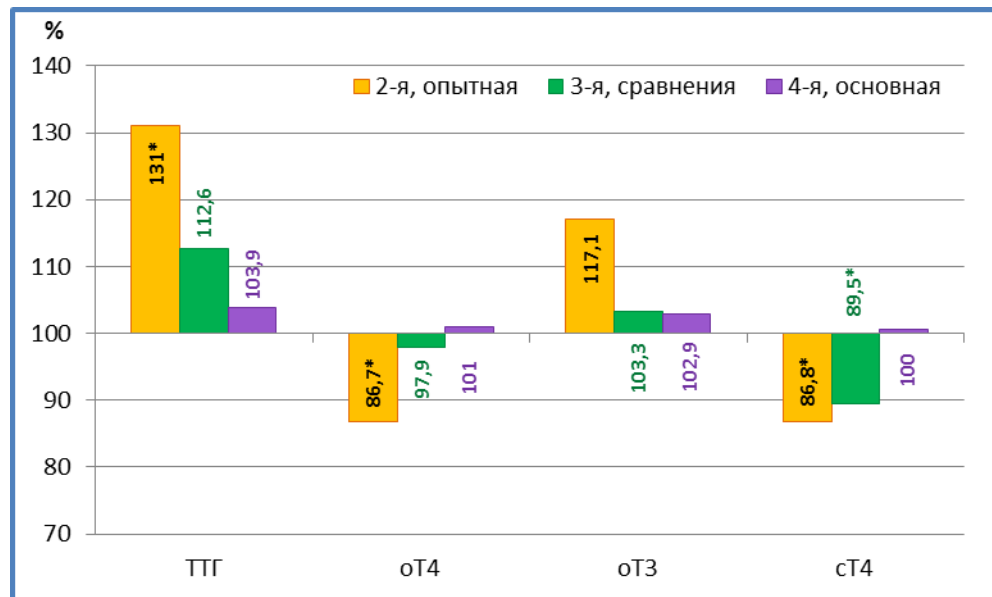


Рисунок 12 – Тиреоидный статус потомства крыс с экспериментальным гипотиреозом и с коррекцией гипотиреоза йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

Учитывая высокую восприимчивость к йододефициту и крайнюю чувствительность плода и новорождённого к опосредованному через организм матери или прямому действию избытка йода, приводящего к подавлению функции ЩЖ [16], с целью характеристики состояния тиреоцитов у крысят рассчитали индекс конверсии (oT_4/oT_3) и индекс чувствительности тиреоцитов к действию тиреотропина ($oT_4+oT_3/ТТГ$). Результаты расчетов представлены в таблице 13. Индекс конверсии у потомства животных, подвергнутых воздействию тиреостатика (2-я и 4-я группы), по сравнению с крысами контрольной группы снижен. Индекс конверсии можно рассматривать с разных позиций: во-первых, как тест, косвенно отражающий активность дейодиназ Д1 и Д2 типов, осуществляющих превращение T_4 в T_3 ; во-вторых, увеличение относительного содержания T_3 , приводящее к снижению индекса, может быть следствием не только смещения периферического превращения T_4 в T_3 , но и изменения процессов йодизации радикалов тирозина в тиреоглобулине с превалированием образования T_3 в тиреоцитах в условиях йододефицита. Снижение индекса чувствительности указывает на стимуляцию ТТГ у

потомства животных, перенесших гипотиреоз без последующей коррекции йододефицита (2-я и 3-я группы). У крысят 2-й группы индекс чувствительности был статистически значимо ниже, чем в группе контроля и основной группе (Рисунок 13).

Таблица 12 – Индексы конверсии и чувствительности тиреоцитов к действию тиреотропина у потомства крыс с экспериментальным гипотиреозом и с коррекцией гипотиреоза йодсахаридным комплексом, $M \pm \sigma$

Индексы	Группы животных, n=10			
	1-я, контрольная	2-я, опытная	3-я, сравнения	4-я, основная
Конверсии (oT_4/oT_3)	30,9±4,66	22,3±2,49 p=0,0011	27,8±4,50 p=0,8679 p ₁ =0,0647	30,6±6,06 p=1,0 p₁=0,0015 p ₂ =1,0
Чувствительности тиреоцитов ($oT_4+oT_3/TTГ$)	72,6±4,70	47,4±6,91 p<0,0001	64,1±5,81 p=0,0131 p₁<0,0001	70,6±6,02 p=1,0 p₁<0,0001 p ₂ =0,1006
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p ₁ – со 2-й, p ₂ – с 3-й группами, ANOVA, тест Бонферрони				

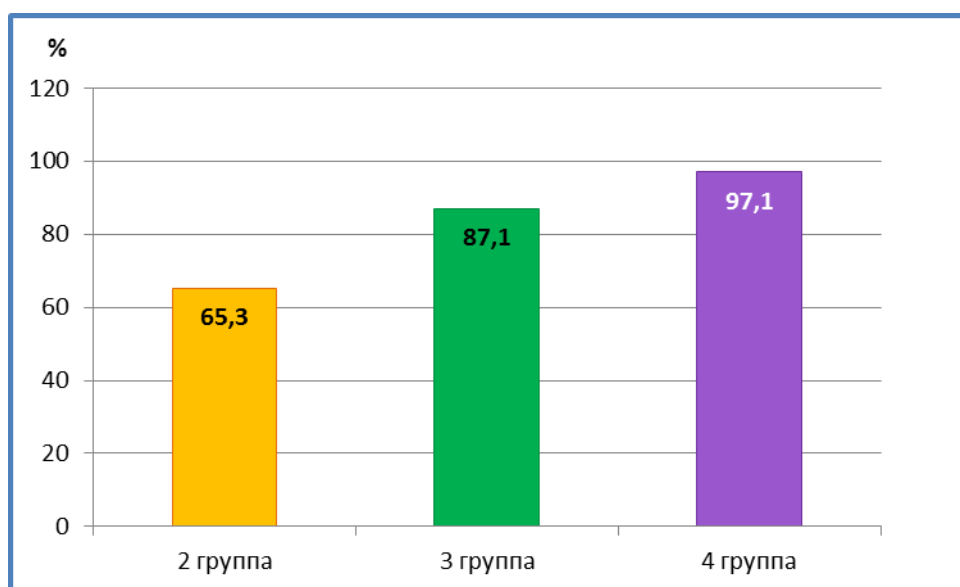


Рисунок 13 – Индекс чувствительности тиреоцитов к ТТГ у крысят-самцов двухмесячного возраста – потомства крыс с экспериментальным гипотиреозом и его коррекцией йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

Таким образом, гипотиреоз вызывает у потомства животных изменение функционального состояния щитовидной железы, снижая секрецию йодированных гормонов и чувствительность тиреоцитов к регуляторному воздействию тиреотропного гормона и, возможно, вызывая изменения внутриклеточных процессов образования и секреции йодированных гормонов в фолликулярных клетках.

У потомства крыс, перенесших экспериментальный гипотиреоз, выявились некоторые изменения и в оси гипофиз-гонады. У крысят-самцов наблюдалось снижение секреции тестостерона на фоне незначительного увеличения уровней ЛГ и ФСГ (Таблица 14).

Таблица 14 – Уровень некоторых гормонов в плазме крови у двухмесячного потомства крыс, перенесших экспериментальный гипотиреоз и его коррекцию йодсахаридным комплексом, $M \pm \sigma$

Гормоны	Группы животных, n=10			
	1-я, контрольная	2-я, опытная	3-я, сравнения	4-я, основная
Тестостерон, нмоль/л	19,6±1,93	17,0±0,99 p=0,0008	17,5±1,05 p=0,0024 p ₁ =0,4311	20,1±1,44 p=0,3701 p₁=0,0002 p₂=0,0006
ЛГ, МЕ/л	2,35±0,24	2,87±0,25 p=0,0002	2,69±0,18 p=0,0037 p ₁ =0,0794	2,39±0,20 p=0,6563 p₁=0,0002 p₂=0,0045
ФСГ, МЕ/л	3,05±0,12	3,23±0,37 p=0,1844	3,07±0,09 p=0,6318 p ₁ =0,2533	3,13±0,15 p=0,4458 p ₁ =0,7914 p ₂ =0,3118
Кортикостерон, нмоль/л	295±6,49	307±8,01 p=0,1036	306±7,55 p=0,2670 p ₁ =0,4425	310±4,50 p=0,1593 p ₁ =0,6340 p ₂ =0,4572
Паратгормон, пг/л	16,2±2,03	18,4±1,68 p=0,0185	18,9±2,82 p=0,0244 p ₁ =0,7216	15,7±2,05 p=0,6122 p₁=0,0042 p₂=0,0084
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p ₁ – со 2-й, p ₂ – с 3-й группами, ANOVA, тест Бонферрони				

Эти результаты, возможно, связаны также со снижением чувствительности клеток Лейдига семенников к стимулирующим эффектам гонадотропинов, прежде всего ЛГ. В литературе имеются указания на возможные влияния ТГ на биологическую доступность и действие андрогенов и эстрогенов [168]. При усилении секреции ТГ в крови повышается уровень глобулина, связывающего половые гормоны (SHBG), тестостерона и эстрадиола, а при развитии гипотиреоза наблюдается уменьшение его содержания. В тестикулах выявлены различные рецепторы тиреоидных гормонов $TR\alpha$ и $TR\beta$ изоформ, преимущественно $TR\alpha_1$, и ТГ оказывают регулирующее влияние на развитие тестикулярной функции [139]. Информационные РНК $TR\alpha_1$, $TR\beta_1$, $TR\beta_2$ и С-ЕКВ- $TR\alpha_2$ выявлены в ооцитах человека [227].

О существовании строгого взаимодействия между осями гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа и гипоталамус-гипофиз-гонады свидетельствуют и клинические данные, в частности, гинекологические расстройства у женщин, задержка полового развития, снижение либидо и импотенция у мужчин с гипотиреозом [21, 41, 47, 49, 67, 87, 91].

У потомства крыс с гипотиреозом усилена секреция паратгормона. Содержание ПТГ у крысят 2-й группы, родившихся от родителей с экспериментальным гипотиреозом, а также у крысят 3-й группы, родившихся от родителей группы сравнения, оказалась статистически значимо выше, чем в 1-й контрольной группе. Полученные результаты еще раз подчеркивают наличие феномена контррегуляции между ТГ и ПТГ.

У крысят 3-й группы, родители которых прошли 30-дневный период восстановления после завершения интоксикации мерказолилом, наблюдаются изменения в направлении нормализации функции желез внутренней секреции. Однако сохраняются статистически значимые повышенные уровни ЛГ и ПТГ и сниженная концентрация тестостерона.

Лишь у крысят 4-й группы концентрации всех изучаемых гормонов статистически не различаются с группой контроля, что подчеркивает важность

обеспечения йодом родителей, перенесших йоддефицитный гипотиреоз, для восстановления физиологических функций не только тиреоидной системы, но и других желез внутренней секреции.

Таким образом, у потомства крыс с гипотиреозом, получавших тиреотоксикант в периоде зачатия и беременности, наблюдается снижение темпов роста массы тела, дисфункция тиреоидной системы и некоторых других желез внутренней секреции, приводящие в плазме крови к снижению тестостерона и повышению паратиреоидного гормона. Содержание животных на йодобогатённом рационе питания в течение 30 суток оказывает положительный эффект на потомство, снижая и снимая указанные нарушения в гормональном статусе.

3.2.3 Оценка когнитивной функции крысят по состоянию пространственного обучения и памяти

Тест «Восьмирукавный радиальный лабиринт»

Способность эффективно находить и добывать пищу за минимальное время является важной стратегией выживания для грызунов. Крысы обладают замечательной способностью запоминать пространственное положение целевых объектов [180]. Снижение или нарушение этой способности отражает когнитивную дисфункцию, для оценки которой использовали восьмирукавный радиальный лабиринт, являющийся надежным инструментом изучения оперативной (рабочей) и долговременной пространственной памяти [116].

Время тестирования

Существенная разница в затрачиваемом времени на обход всех подкрепляемых рукавов лабиринта, усредненном за весь период обучения, была вызвана различиями между животными разных экспериментальных групп, о чем свидетельствует высокий уровень статистической значимости для критерия Фишера ($F_{3,196}=15,679$, $p<0,0001$). Наибольшее время на прохождение

испытания затрачивали крысы из опытной группы ($523,8 \pm 58,14$ сек) (Рисунок 14), т.е. потомство животных, получавших тиреотоксикант.

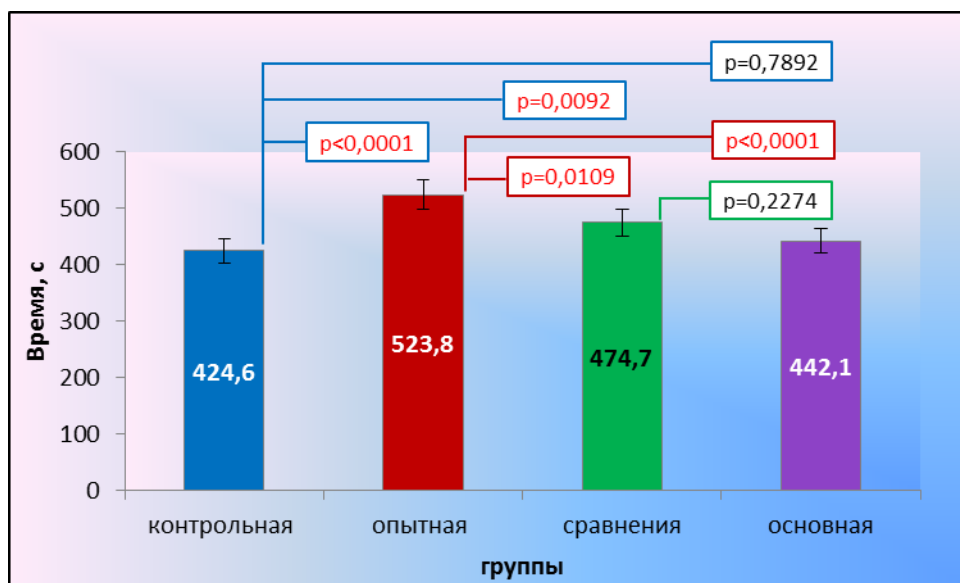


Рисунок 14 – Среднее время, затраченное на завершение фаз тестирования на 2 и 3 этапе теста за весь период обучения в различных экспериментальных группах по результатам ANOVA, апостериорное сравнение post-hoc, тест Бонферрони

Апостериорное (попарное) сравнение post-hoc с использованием поправки на множественность сравнений Бонферрони выявило статистическую значимость различий как с контрольными животными ($424,6 \pm 88,48$ сек, $p < 0,0001$), так и с животными групп сравнения ($474,7 \pm 86,18$ сек, $p = 0,0109$) и основной ($442,1 \pm 91,03$ сек, $p < 0,0001$). У крыс контрольной (не получавших мерказолил) и основной групп (потомство животных, получавших после экспонирования тиреотоксиканта йодсахаридный комплекс) средние значения этого показателя статистически значимых различий не имели.

По ходу обучения у всех крыс значимо сокращалось время поиска и нахождения подкрепления в лабиринте, о чем свидетельствует достоверный эффект влияния на этот показатель фактора «дни исследования» ($F_{16,13} = 1,79$, $p = 0,0389$). Наиболее значительное сокращение времени (на 27%) на прохождение теста отмечалось у контрольных животных: если в первый день исследования на выполнение задания им потребовалось $480,1 \pm 83,47$ сек, то в

последний $349,8 \pm 56,21$ сек ($p=0,0057$) (Рисунок 15, Таблица 15). Почти так же эффективно проходили обучение крысы 4-ой группы. Их показатели улучшились на 25,3%, снизившись с $495,3 \pm 60,57$ сек до $370,1,2 \pm 107,07$ сек ($p=0,0150$). Сокращение времени тестирования на 18,3% отмечалось и в 3-ей группе животных (с $519,8 \pm 52,49$ сек до $424,9 \pm 64,91$ сек, $p=0,0168$).

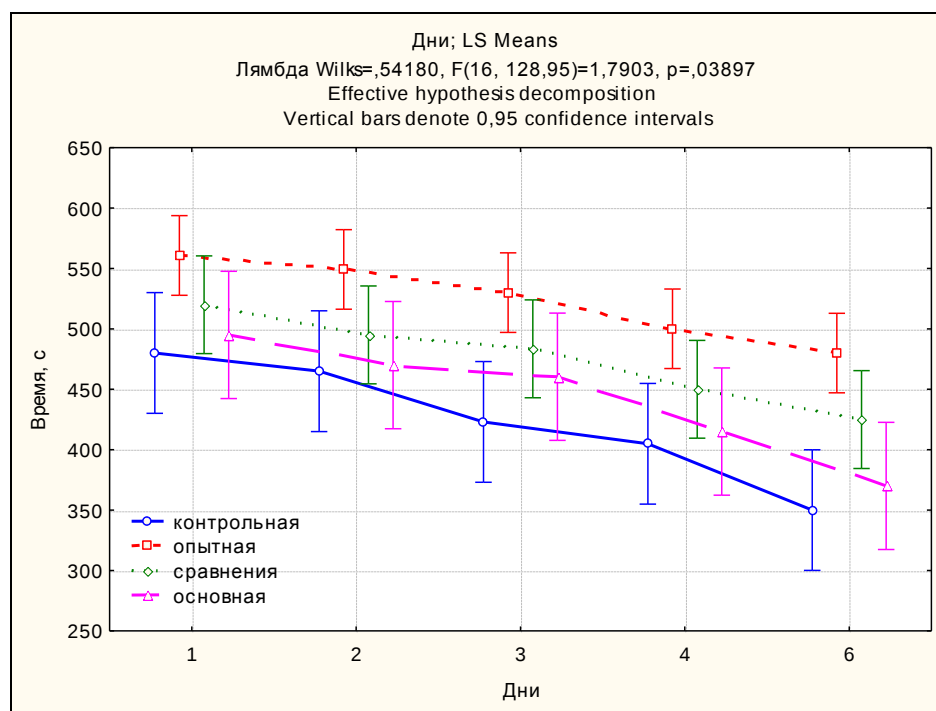


Рисунок 15 – Среднее время, затраченное на завершение фаз тестирования на 2 и 3 этапе теста за каждый день исследования в различных экспериментальных группах по результатам ANOVA

Таблица 15 – Уровень значимости различий (p) между показателем времени, затраченного на завершение фаз тестирования на 2 и 3 этапе теста в различные дни исследования (ANOVA, post-hoc, тест Бонферрони)

Группы \ $p_{\text{дни}}$	$p_{1-2 \text{ дни}}$	$p_{1-3 \text{ дни}}$	$p_{1-4 \text{ дни}}$	$p_{1-6 \text{ дни}}$	$p_{2-3 \text{ дни}}$	$p_{2-4 \text{ дни}}$	$p_{2-6 \text{ дни}}$	$p_{3-4 \text{ дни}}$	$p_{3-6 \text{ дни}}$	$p_{4-6 \text{ дни}}$
1, контрольная	0,6502	0,2570	0,0820	0,0057	0,3258	0,1118	0,0202	0,4960	0,0703	0,0699
2, опытная	0,2573	0,2570	0,0940	0,0108	0,6502	0,3937	0,0447	0,2123	0,0819	0,5448
3, сравнения	0,8804	0,1733	0,1364	0,0168	0,8214	0,2229	0,1512	0,4958	0,2259	0,7618
4, основная	0,7051	0,3262	0,7149	0,0150	0,4959	0,0958	0,0264	0,3363	0,0058	0,1992

Наименьшая положительная динамика была у крыс второй опытной группы: улучшение составило 14,4% ($p=0,0108$), а результат последнего дня обучения был сопоставим с начальными показателями 1-ой и 4-ой групп. Другими словами, скорость обучения в этой группе была статистически значимо ниже, чем в контрольной в каждый экспериментальный день, и ниже, чем в основной группе, в 4-ый и 6-ой день исследования (Таблица 16).

Таблица 16 – Уровень значимости различий (p) между показателем времени, затраченного на завершение фаз тестирования на 2 и 3 этапе теста, в различных экспериментальных группах в каждый день исследования (ANOVA, post-hoc, тест Бонферрони)

Дни Группы	1	2	3	4	6
1, контрольная	-	-	-	-	-
2, опытная	$p=0,0279$	$p=0,0478$	$p=0,0288$	$p=0,0137$	$p=0,0030$
3, сравнения	$p=0,8642$ $p_1=0,8144$	$p=0,7903$ $p_1=0,5382$	$p=0,5912$ $p_1=0,7960$	$p=0,7814$ $p_1=0,563$	$p=0,1904$ $p_1=0,6576$
4, основная	$p=0,9499$ $p_1=0,1132$ $p_2=0,9262$	$p=0,8908$ $p_1=0,0912$ $p_2=0,8497$	$p=0,8477$ $p_1=0,3539$ $p_2=0,8971$	$p=0,9800$ $p_1=0,0358$ $p_2=0,9890$	$p=0,9780$ $p_1=0,0136$ $p_2=0,6601$
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p_1 – со 2-й, p_2 – с 3-й группами					

Оценка памяти

Проверка на нормальность распределения количественных переменных показала, что расчетная переменная «Балл памяти» имеет близкое к нормальному распределение для 1 и 2 групп и отличное от нормального для 3 и 4 экспериментальных групп, поэтому для анализа этой переменной использовали критерии непараметрической статистики.

Для оценки референтной (долговременной) пространственной памяти анализировали динамику ежедневного обобщенного значения среднего балла памяти в фазе тестирования в течение всего периода обучения. Статистические исследования с использованием непараметрического критерия Крускала-Уоллиса свидетельствуют о влиянии на этот показатель фактора «Группа» ($N=11,20$, $p=0,0113$). Иначе говоря, разница в среднем балле памяти у крыс обусловлена различиями между животными разных экспериментальных групп.

Лучшую обучаемость по показателю среднего балла памяти, зависящего от количества корректных и ошибочных входов в рукава, в течение всего обучения показывали животные контрольной группы (Рисунок 16, Таблица 17). В первый день тестирования после предварительной тренировки средний балл памяти составил $-0,58 \pm 0,11$. После незначительного ухудшения показателя на второй день исследования ($-0,60 \pm 0,10$) к 6-му дню наблюдалось его статистически значимое повышение (на 26,7%) до уровня $-0,44 \pm 0,11$ баллов ($p=0,0307$).

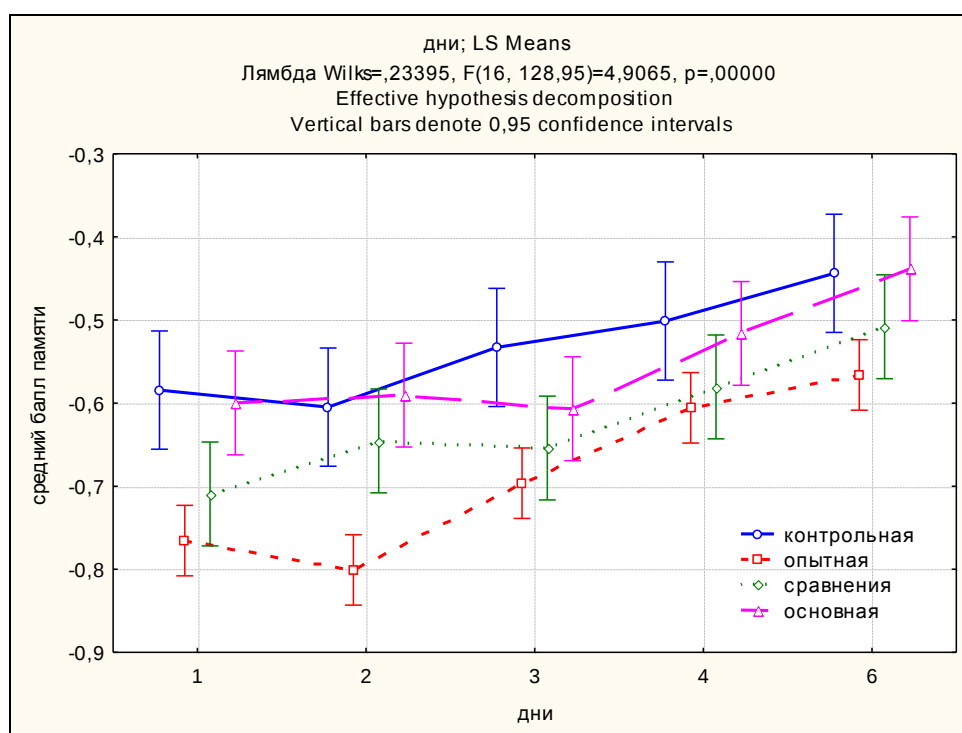


Рисунок 16 – Среднее значение балла памяти в фазе тестирования на 2 и 3 этапе теста за каждый день исследования в различных экспериментальных группах

Таблица 17 – Уровень значимости различий (p) между показателем среднего балла памяти на 2 и 3 этапе теста в разные дни исследования (критерии Крускала-Уоллиса и Данна)

Группы \ Рдни	Рдни									
	Р1-2 дни	Р1-3 дни	Р1-4 дни	Р1-6 дни	Р2-3 дни	Р2-4 дни	Р2-6 дни	Р3-4 дни	Р3-6 дни	Р4-6 дни
1 контрольная	0,9753	0,8844	0,2628	0,1473	0,6997	0,5716	0,0307	0,8202	0,6514	0,6267
2 опытная	0,7052	0,5974	0,0044	0,0003	0,5919	0,0002	<0,001	0,1892	0,0264	0,8790
3 сравнения	0,6746	0,6406	0,0576	0,0003	0,8855	0,5901	0,1019	0,6679	0,0108	0,4582
4 основная	0,9869	0,8545	0,7149	0,0179	0,9820	0,9154	0,0264	0,3363	0,0057	0,9082

Показатели 4-ой основной группы (потомство животных, получавших после экспонирования тиреостатика йодсахаридный комплекс) были близки к таковым контрольной группы и не имели с ними значимых различий во все дни исследования (Таблица 18). Средний балл памяти в первый день обучения составил $-0,60 \pm 0,07$, в последний – $-0,44 \pm 0,12$, свидетельствуя о статистически значимой (на 25%, $p=0,0179$) активации когнитивных функций (Таблица 17).

Таблица 18 – Уровень значимости различий (p) между показателем среднего балла памяти на 2 и 3 этапе теста в каждый день исследования в различных экспериментальных группах (критерии Крускала-Уоллиса и Данна)

Группы \ Дни	1	2	3	4	6
1 контрольная	-	-	-	-	-
2 опытная	$p=0,0036$	$p=0,0009$	$p=0,0062$	$p=0,1370$	$p=0,0296$
3 сравнения	$p=0,0363$ $p_1=0,9488$	$p=1,0000$ $p_1=0,0076$	$p=0,0232$ $p_1=0,9777$	$p=1977$ $p_1=0,9554$	$p=1,0000$ $p_1=0,8922$
4 основная	$p=0,9436$ $p_1=0,0044$ $p_2=0,0432$	$p=1,0000$ $p_1=0,0001$ $p_2=1,0000$	$p=0,9916$ $p_1=0,0861$ $p_2=0,2385$	$p=0,9875$ $p_1=0,2173$ $p_2=0,3064$	$p=1,0000$ $p_1=0,0225$ $p_2=0,8762$
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p_1 – со 2-й, p_2 – с 3-й группами					

Наибольшие нарушения референтной памяти отмечались у потомства крыс с мерказолиловым гипотиреозом, получавших тиреотоксикант без последующей коррекции йодсахаридным комплексом (2-ая опытная группа). У этих животных были зафиксированы самые низкие средние баллы памяти в первый ($-0,77 \pm 0,10$) и второй ($-0,80 \pm 0,04$) дни исследования (Рисунок 16). К концу наблюдения этот параметр составил у них $-0,57 \pm 0,08$ балла ($p=0,0002$) (Таблица 17), показав рост 28,8%. Показатели этой группы были достоверно отличны от показателей 1 и 4 группы почти во все дни обучения (Таблица 18).

Животные 3-ей группы сравнения в динамике исследования также показали тенденцию к повышению среднего балла памяти (Рисунок 16). Если в первый день обучения его уровень составлял $-0,71 \pm 0,04$ балла, то в последний – $-0,51 \pm 0,08$ балла, демонстрируя улучшение на 28,2% ($p=0,0003$).

Следует подчеркнуть, что перерыв между 4-м и 6-м днем не нарушает тенденции к повышению среднего балла памяти ни в одной из групп (Рисунок

16, Таблица 17) что указывает на активацию долговременной пространственной памяти независимо от факта воздействия тиреостатика, однако степень активации зависит от длительности патогенного воздействия и результата коррекции йодсахаридным комплексом.

Оперативную память анализировали, используя оценку памяти на разных этапах теста в фазе тестирования в каждый день обучения.

При двукратном тестировании в течение одного дня с перерывом в течение 60 минут наблюдалась тенденция к повышению среднего балла памяти, что свидетельствует об активации оперативной (рабочей) пространственной памяти. Хотя и в разной степени, это отмечалось в каждой группе животных на протяжении всего периода исследования.

У животных контрольной и основной групп скачок активации рабочей памяти отмечался на 4-й и 6-й дни обучения, что характерно для неинbredных животных без серьезных нарушений когнитивных функций [10, 28, 89] (Рисунок 17, А и Г).

В третьей группе крыс статистическая достоверность между этапами отмечалась только в первый день. После 60-минутного перерыва животные более эффективно выполняли поставленную задачу, повысив средние показатели с $-0,76 \pm 0,06$ до $-0,65 \pm 0,03$ ($p < 0,0001$). Стабильная тенденция к прогрессирующему улучшению рабочей памяти была очевидна во все последующие дни обучения (Рисунок 17, В).

Особенностью животных второй группы было большое количество ошибок в течение первого дня обучения и отсутствие различий в прохождении фаз тестирования 2 и 3 этапов. Хотя обобщенный показатель балла памяти во второй день еще более снизился, появилась положительная динамика между этапами (соответственно $-0,83 \pm 0,05$ и $-0,78 \pm 0,04$, $p = 0,0214$), которая в третий день обучения усилилась ($-0,75 \pm 0,03$, $-0,65 \pm 0,04$, $p < 0,0001$) (Рисунок 17, Б). В последние два дня исследования, несмотря на снижение общего количества ошибок и повышение среднего балла памяти, различия между этапами были недостоверны.

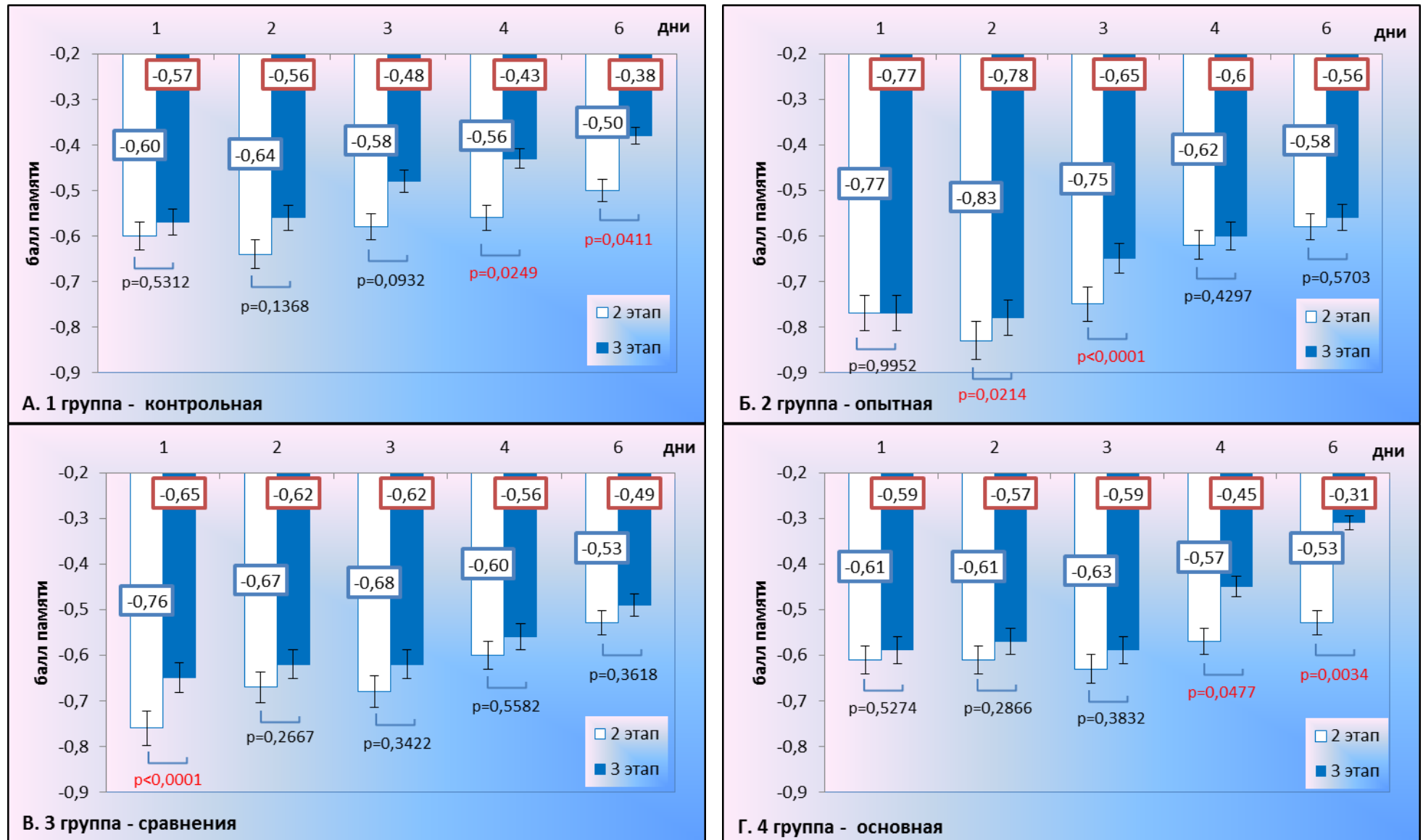


Рисунок 17 – Средний балл памяти на 2 и 3 этапе теста в фазе тестирования. В выносках указаны средние значения балла памяти на каждом этапе за один день и значимость различий между ними (критерий Манна-Уитни)

Вышесказанное подтверждает анализ количества *относительных ошибок* – отношения общего количества ошибочных входов в рукава за оба этапа в фазе тестирования к общему количеству корректных входов в рукава за оба этапа в фазе тестирования. Поскольку показатели памяти являются расчетными и зависят от количества корректных и ошибочных входов, то их уровни статистической значимости экстраполируются на показатель относительного количества ошибок (Таблица 17, 18).

Нормированная гистограмма с накоплением наглядно показывает, что наибольшее количество относительных ошибок отмечалось в первые два дня обучения у животных 2-ой опытной группы ($9,23 \pm 4,54$ и $9,42 \pm 2,27$ соответственно) (Рисунок 18). Несмотря на улучшение исследуемого показателя в динамике обучения, доля животных этой группы в общей массе ошибок остается преобладающей, что свидетельствует о нарушениях долговременной памяти.

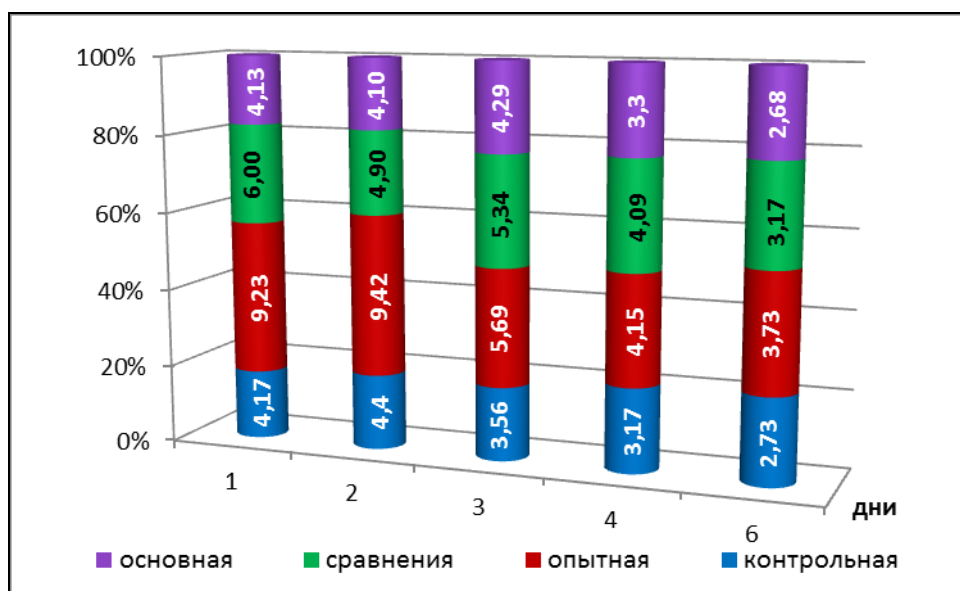


Рисунок 18 – Гистограмма с накоплением количества относительных ошибок в экспериментальных группах в разные дни исследования. В выносках указаны абсолютные значения относительной ошибки, на оси ординат – доля каждой группы в общем количестве ошибок на каждый день обучения в процентах

Логику предыдущих расчетов подтверждают также данные по 1-ой контрольной и 4-ой основной группам. В общем числе ошибок, совершенных животными в один экспериментальный день, их доля оказалась наименьшей и приблизительно одинаковой, что нашло закономерное отражение в результатах оценки референтной пространственной памяти.

Динамика количества относительных ошибок у крыс группы сравнения была несколько отлична от прочих. Вместо градуального снижения их числа в процессе обучения, наблюдаемого в оппозитных группах, в середине эксперимента отмечался рост некорректных входов в неподкрепляемые рукава. Поэтому даже в совокупности с тем, что к концу исследования эти животные показывали неплохую положительную динамику, в целом можно констатировать более низкие показатели долговременной памяти, чем в 1-ой и 4-ой экспериментальных группах.

Тест «Распознавание новых объектов»

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, что свидетельствует об отсутствии влияния гипотиреоза, перенесенного первым поколением крыс, на двигательную активность потомства (второго поколения) этих животных (Рисунок 19).

Не было статистически значимых различий и в первую (тренировочную) сессию с предъявлением животным первой пары объектов (№1 и №2). Крысы всех групп при исследовании не отдавали предпочтения ни одному из объектов, проводя в непосредственном контакте с каждым приблизительно одинаковое количество времени (Рисунок 20, А).

Замена одного из объектов исследования как в первой тестовой фазе через 10 минут, так и во второй через 24 часа после тренировочной сессии, вызвала однонаправленную перестройку поведения животных (Рисунок 20, Б и

В). Крысы первой (контрольной), третьей (сравнения) и четвертой (основной) групп тратили значительно больше времени на исследование нового объекта в знакомой обстановке, проявляя тем самым типичное поведение. Особенно демонстративно это показали животные из контрольной группы – потомство интактных крыс, не получавших мерказолил.

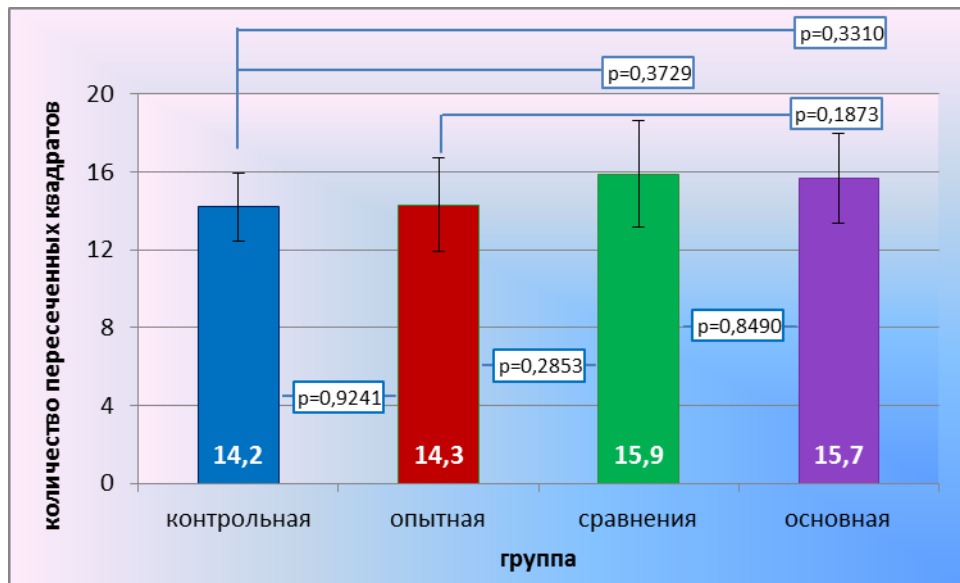


Рисунок 19 – Двигательная активность крыс по количеству пересеченных квадратов в фазе адаптации в тесте «Распознавание новых объектов». В выносках указана статистическая значимость различий между группами.

ANOVA, post-hoc тест Бонферрони

Крысы опытной группы не отдавали новому объекту явного предпочтения. Такие животные тратили одинаковое время на исследование знакомого и нового объектов как через 10 минут при предъявлении 3-го, так и через 24 часа при предъявлении 4-го предмета ($53,46 \pm 4,78$ и $46,54 \pm 4,12$, $52,72 \pm 4,26$ и $47,28 \pm 4,47$ % времени соответственно).

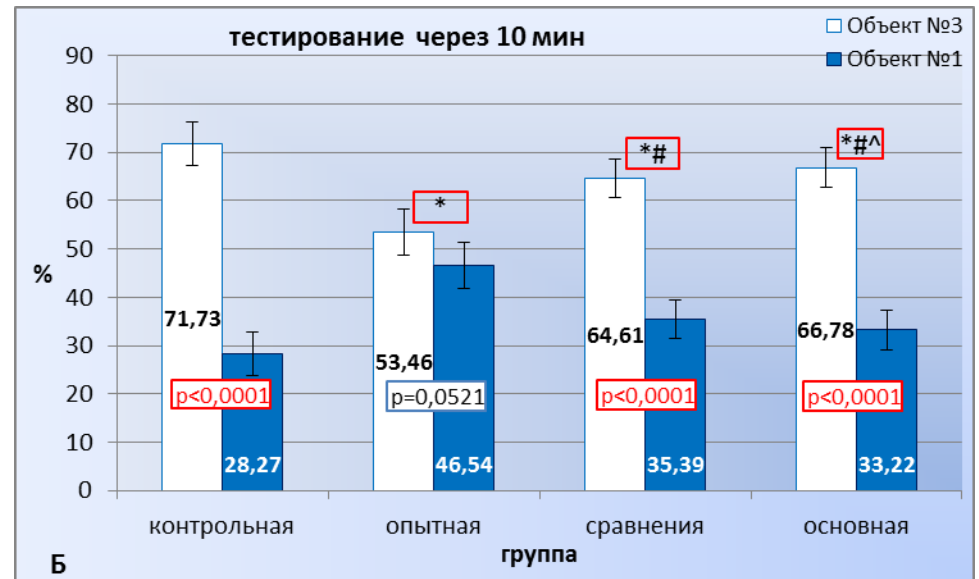
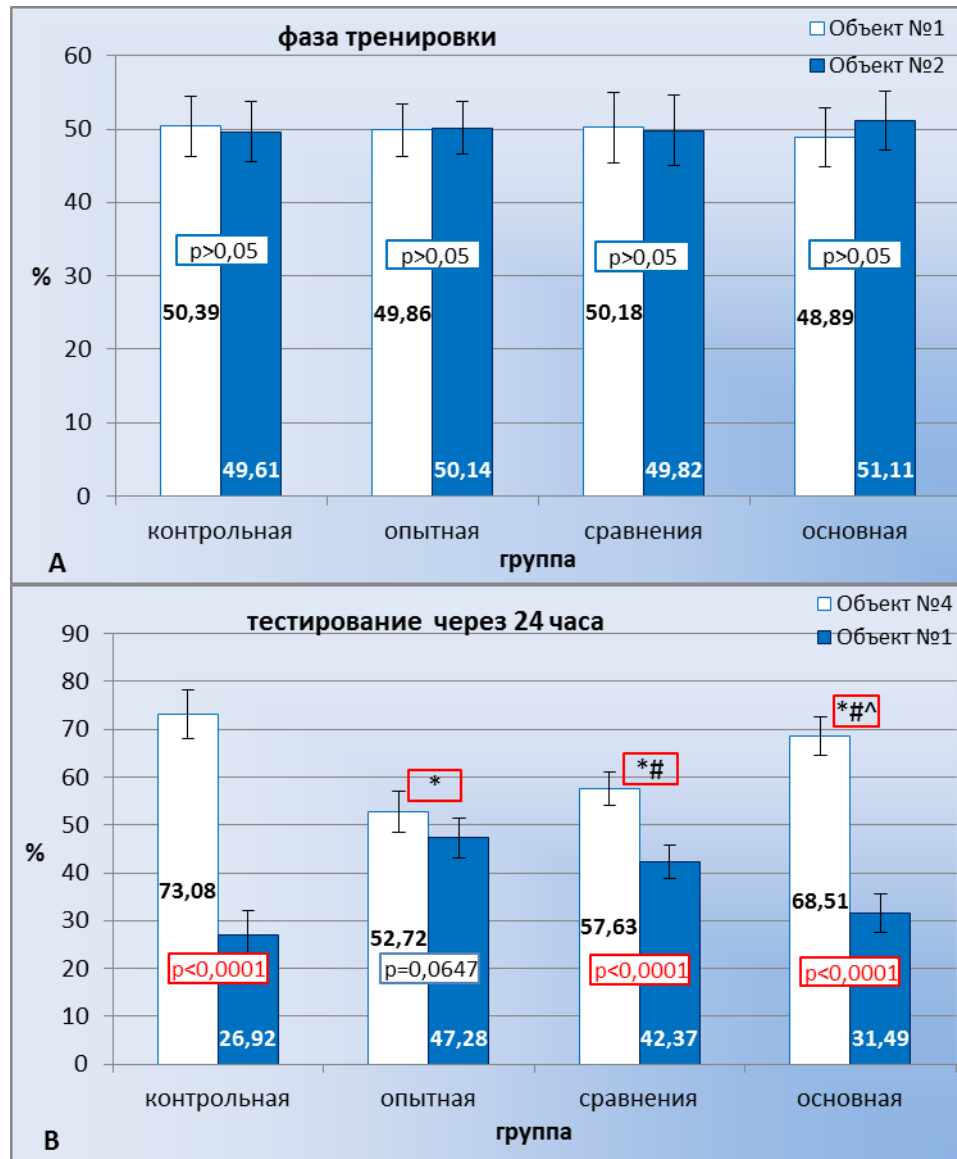


Рисунок 20 – Время распознавания новых объектов в процентах по отношению к общему времени исследования: А – в фазу тренировки, Б – через 10 мин, В – через 24 часа после тренировочного предъявления пары объектов. В выносках указана статистическая значимость различий между показателем времени предпочтения каждого из пары объектов, * – значимость различий с контрольной, # – с опытной, ^ – с группой сравнения при $p < 0,01$. ANOVA, post-hoc тест Бонферрони

На рисунке 21 представлены результаты однофакторного дисперсионного анализа интегрального расчетного показателя состояния функций памяти – дискриминационного времени исследования нового объекта DIR. Наиболее высокие значения этого показателя без значимых различий между двумя тестовыми фазами, характеризующими состояние кратковременной и долговременной памяти, ожидаемо определялись у контрольных животных.

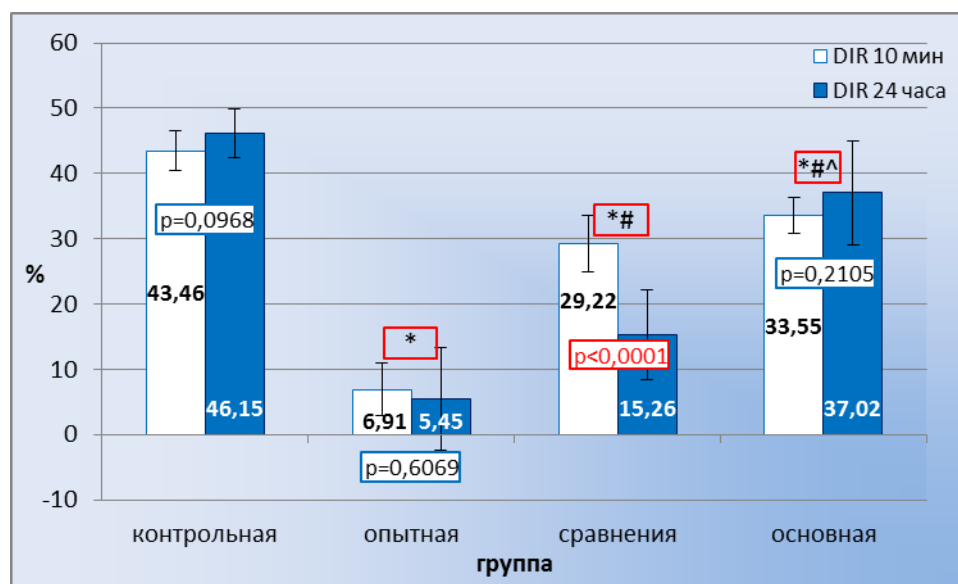


Рисунок 21 – Средние значения дискриминационного времени исследования нового объекта (DIR). В выносках указана статистическая значимость различий между показателем DIR в первую (через 10 мин) и вторую (через 24 часа) тестовые фазы; * – значимость различий с контрольной, # – с опытной, ^ – с группой сравнения при $p<0,01$. ANOVA, post-hoc тест Бонферрони

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.

У потомства крыс, которые после экспозиции мерказолила не получали для коррекции гипотиреоза йодсахаридный комплекс (группа сравнения), в тесте «Распознавание новых объектов» было выявлено полуторакратное снижение показателя кратковременной памяти по сравнению с контрольной группой ($DIR=29,22\pm4,32\%$, $p<0,0001$). Результаты теста свидетельствуют и о значительном нарушении долговременной памяти: DIR в этой группе был в 3 раза ниже, чем в контрольной ($DIR=15,26\pm6,87\%$, $p<0,0001$).

Наибольшие когнитивные нарушения отмечались у потомства животных, получавших тиреотоксикант без коррекции впоследствии йодсахаридным комплексом. Дискриминационное время исследования нового объекта было минимальным в обеих тестовых сериях без различий между собой ($DIR=6,91\pm3,98\%$ и $DIR=5,45\pm7,9\%$), что указывает на значительную степень нарушения как кратковременной, так и долговременной памяти.

3.2.4 Интенсивность процессов перекисного окисления липидов в тканях головного мозга и печени крысят

В тканях головного мозга и печени у двухмесячных крысят-самцов – потомков крыс, перенесших мерказолиловый гипотиреоз и подвергнутых его коррекции путем содержания на йодобогатённом рационе, изучали содержание продуктов липопероксидации: диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряжённых триенов, соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой.

Результаты определения первичных (диеновые конъюгаты) и вторичных (кетодиены и сопряжённые триены) продуктов перекисного окисления ацилов нейтральных и бифильных липидов показывает наличие определенных изменений (Таблица 19). У крысят, рожденных от родителей с экспериментальным гипотиреозом, наблюдалось увеличение содержания диеновых конъюгатов в

гептановой и изопропаноловых фракциях липидного экстракта головного мозга и печени (Рисунок 22).

Таблица 19 – 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	КД и СТ	ДК	КД и СТ
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 $p_1=0,3641$	0,20±0,02 $p=0,9371$ $p_1=0,6634$	0,71±0,07 p=0,0012 p₁=0,0014	0,21±0,03 p=0,0002 $p_1=0,5923$
	4-я, основная	0,33±0,05 $p=0,8333$ p₁=0,0012 p₂=0,0013	0,19±0,02 $p=1,0000$ $p_1=0,0768$ $p_2=0,8747$	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 $p_2=0,2332$	0,30±0,03 $p=0,6344$ p₁=0,0002 p₂=0,0018	0,49±0,05 $p=0,2908$ p₁=0,0003 $p_2=0,0021$	0,30±0,03 p=0,0316 p₁=0,0002 p₂=0,0014
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p_1 – со 2-й, p_2 – с 3-й группами, ANOVA, тест Бонферрони					

Концентрация первичных продуктов ПОЛ в гептановой фазе в головном мозге была на 38,4% ($p=0,0001$), печени на 24,6% ($p=0,0002$), в изопропаноловой фазе в головном мозге на 36,2% ($p=0,0002$), печени на 29,8% ($p=0,0004$) выше, чем в группе контроля. У животных 3-й группы сохранялась статистически значимая более высокая концентрация первичных продуктов ПОЛ в обеих фазах липидного экстракта тканей головного мозга и печени. У животных 4-й группы достоверных изменений по сравнению с контрольной группой в содержании диеновых

конъюгатов в обеих фракциях липидного экстракта в изучаемых тканях не выявилось, при этом они были существенно ниже, чем во 2-й и 3-й группах.

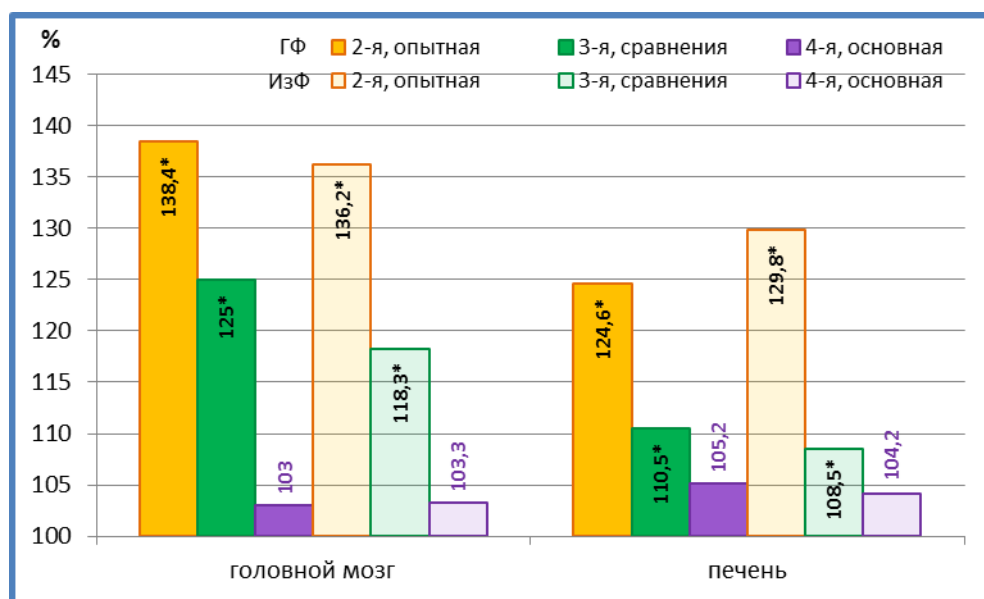


Рисунок 22 – Концентрация диеновых конъюгатов в гептановой и изопропаноловой фазах липидного экстракта тканей потомков крыс с экспериментальным гипотиреозом и его коррекцией йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

Примечание: ГФ – гептановая фаза, ИзФ – изопропаноловая фаза

Определение вторичных продуктов ПОЛ в гептан-изопропаноловом экстракте липидов выявило аналогичную динамику изменений интенсивности течения процессов свободнорадикального окисления липидов (Рисунок 23). Уровень кетодиенов и сопряженных триенов в гептановой фазе, в которую преимущественно экстрагируются нейтральные липиды, в ткани головного мозга у животных 2-й опытной группы увеличивалось до 115,8% ($p=0,0410$), печени до 144,8% ($p=0,0004$), а в изопропаноловой фазе, в которую преимущественно экстрагируются фосфолипиды и гликолипиды, в ткани головного мозга – до 143,3% ($p=0,0002$), печени – до 133,3% ($p=0,0003$) относительно показателей контрольных животных.

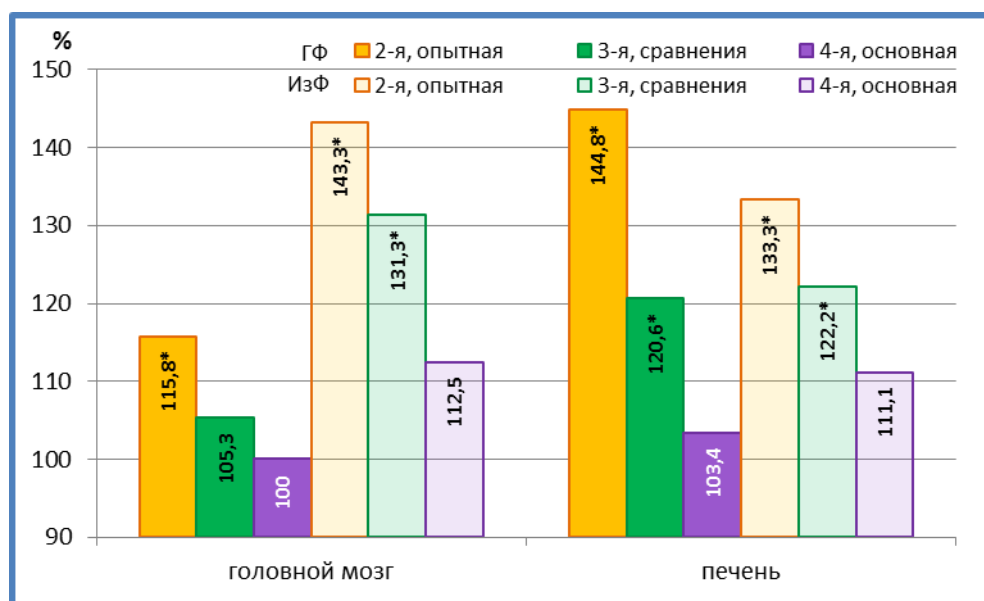


Рисунок 23 – Содержание вторичных продуктов липопероксидации в гептановой и изопропаноловой фазах липидного экстракта тканей потомков крыс с экспериментальным гипотиреозом и его коррекцией йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

Примечание: ГФ – гептановая фаза, ИзФ – изопропаноловая фаза

У потомков животных, перенесших экспериментальный гипотиреоз, в плазме крови и тканях статистически значимо повышено и содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (Таблица 20, Рисунок 24). Таким образом, у двухмесячных крысят, родители которых были подвергнуты мерказолиловому гипотиреозу до беременности, в плазме крови и тканях (головной мозг и печень) наблюдалась интенсификация процессов липопероксидации с увеличением в обеих фазах липидного экстракта тканей первичных и вторичных продуктов ПОЛ, а также таких вторичных продуктов свободнорадикального окисления как ТБК-активные соединения. Содержание животных после развития гипотиреоза на виварном питании (3-я группа) способствовало снижению у потомства липопероксидации, однако она, как правило, не достигала контрольных значений. Лишь у крысят, родители которых в восстановительном периоде находились на йодобогатённом рационе (4-я группа),

интенсивность свободнорадикальных процессов не отличалась от показателей животных контрольной группы.

Таблица 20 – Содержание ТБК-активных продуктов в плазме крови и тканях потомков крыс с экспериментальным гипотиреозом и при его коррекции йодсахаридным комплексом, $M \pm \sigma$

Ткани	Группы животных, n=10			
	1-я, контрольная	2-я, опытная	3-я, сравнения	4-я, основная
Плазма крови, мкмоль/л	1,92±0,11	2,14±0,19 p=0,0066	1,99±0,12 p=0,5048 p₁=0,0228	1,96±0,13 p=0,4644 p₁=0,0237 p ₂ =0,7019
Головной мозг, нмоль/г ткани	2,13±0,21	2,52±0,16 p=0,0022	2,19±0,13 p=0,0984 p₁=0,0002	2,15±0,14 p=0,8051 p₁=0,0034 p ₂ =0,1057
Печень, нмоль/г ткани	3,42±0,24	4,23±0,31 p=0,0002	4,05±0,18 p=0,0002 p ₁ =0,0918	3,50±0,02 p=0,4974 p₁=0,0013 p₂=0,0015
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p ₁ – со 2-й, p ₂ – с 3-й группами, ANOVA, тест Бонферрони				

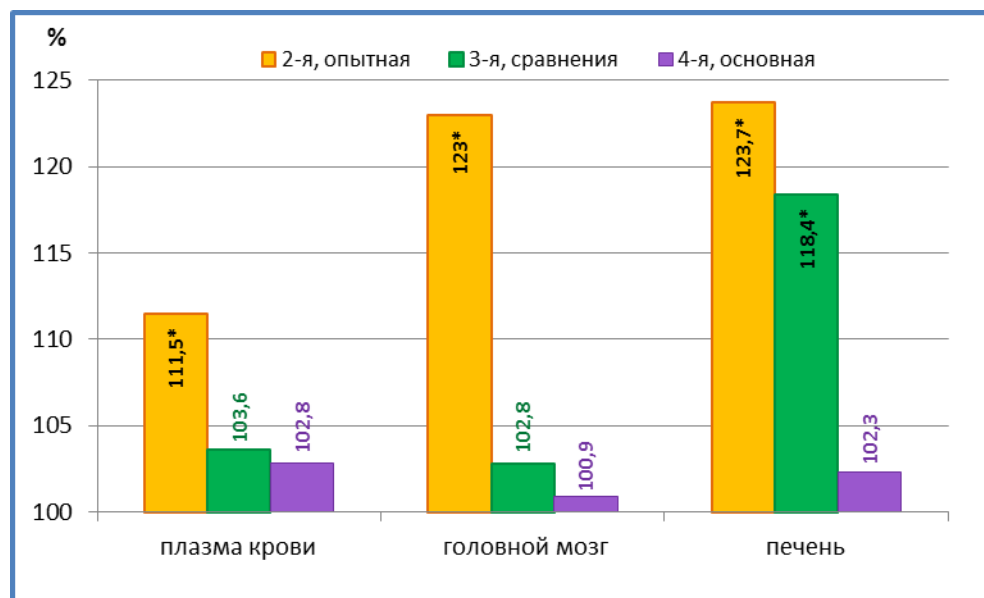


Рисунок 24 – Содержание ТБК-реагирующих продуктов в плазме крови и тканях потомков крыс, перенесших экспериментальный гипотиреоз и его коррекцию йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

3.2.5 Активность антиоксидантных ферментов

Изучение активности основных ферментов антиокислительной защиты в тканях у двухмесячных крысят-самцов выявило их снижение у животных второй группы (Таблица 21). Активность фермента первой линии защиты от действия активных форм кислорода – СОД в тканях головного мозга оказалась сниженной по сравнению с контролем до 87,4%, в печени – до 89,6% (Рисунок 24).

Таблица 21 – Активность антиоксидантных ферментов в тканях потомков крыс, перенесших мерказолиловый гипотиреоз и его коррекцию йодсахаридным комплексом, $M \pm \sigma$

Ткани	Ферменты	Группы животных, n=10			
		1-я, контрольная	2-я, опытная	3-я, сравнения	4-я, основная
Головно й мозг	СОД, Ед/мг белка	1,35±0,05	1,18±0,12 p=0,0020	1,23±0,10 p=0,0096 p ₁ =0,2662	1,37±0,11 p=0,0526 p₁=0,0051 p₂=0,0381
	ГПО, Е/мг белка	0,50±0,07	0,38±0,03 p=0,0003	0,43±0,07 p=0,0008 p ₁ =0,0627	0,51±0,06 p=0,7994 p₁=0,0002 p₂=0,0118
	КАТ, мкмоль/ мин·мг белка	0,86±0,08	0,68±0,05 p=0,0008	0,79±0,04 p=0,0105 p ₁ =0,1832	0,88±0,05 p=0,5232 p₁=0,0004 p₂=0,0054
Печень	СОД, Ед/мг белка	21,12±1,15	19,0±1,04 p=0,0022	19,70±1,17 p=0,0028 p ₁ =0,6564	21,90±2,01 p=0,8861 p₁=0,0027 p₂=0,0029
	ГПО, Е/мг белка	1,21±0,08	0,96±0,06 p=0,0002	1,04±0,12 p=0,0003 p ₁ =0,0431	1,20±0,07 p=0,7321 p₁=0,0001 p₂=0,0003
	КАТ, мкмоль/ мин·мг белка	5,70±0,37	4,84±0,28 p=0,0129	5,41±0,20 p=0,9953 p₁=0,0481	5,66±0,16 p=0,9896 p₁=0,0043 p ₂ =0,9367
Примечание: статистическая значимость различий p – с 1-й, p ₁ – со 2-й, p ₂ – с 3-й группами, ANOVA, тест Бонферрони					

Активность ферментов второй линии защиты от активных форм кислорода – ГПО и каталазы была снижена больше, чем активность СОД. Так, активность ГПО в мозге составила 76,0%, в печени – 79,3%, каталазы в головном мозге – 79,0%, в печени 84,9% от показателей контрольной группы крыс. У животных 3-й группы активность СОД и ГПО в ткани головного мозга и печени была на статистически значимом более низком, чем в контроле, уровне, так же как и активность каталазы в ткани головного мозга. У крысят 4-й группы активность ферментов антиоксидантной защиты не отличалась от показателей интактных животных.

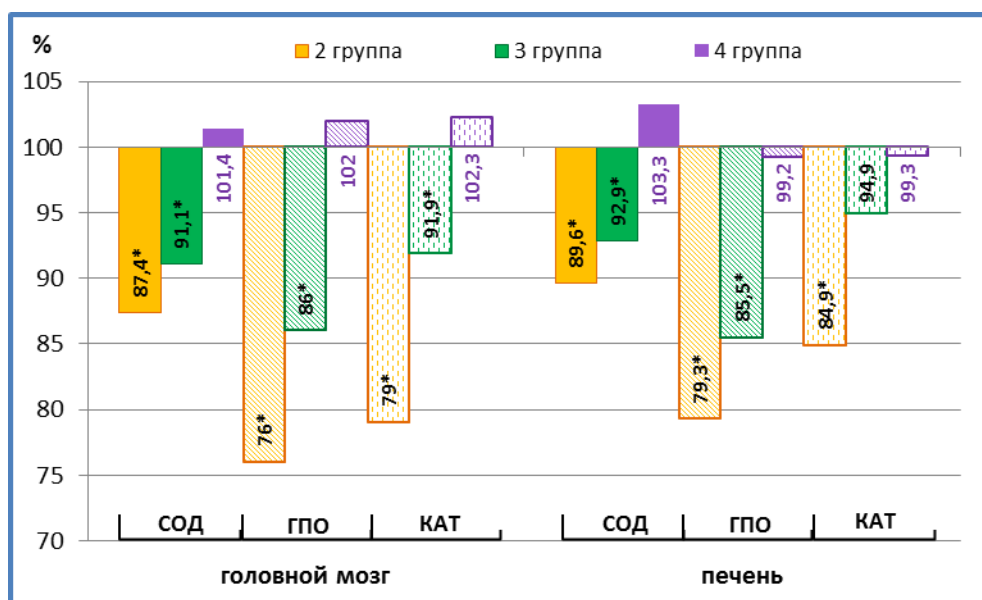


Рисунок 25 – Активность ферментов антиоксидантной защиты в тканях крысят – потомков животных, перенесших экспериментальный гипотиреоз и его коррекцию йодсахаридным комплексом (в % к контролю, принятому за 100%)

Таким образом, некоторая активация процессов свободнорадикального окисления в тканях головного мозга и печени животных, родители (самцы и самки) которых находились в состоянии гипотиреоза в периодах скрещивания и беременности, вероятно, связана со снижением активности основных антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и

каталазы. При этом обращает внимание дисбаланс активности этих ферментов у животных 2-й группы в ткани головного мозга и печени. Так, соотношение СОД/каталаза+ГПО в тканях головного мозга у животных этой группы на 12% превышает соотношение данных ферментов первой и второй линии защиты, чем у крыс контрольной группы, что является одним из источников дополнительной генерации активных форм кислорода [38]. Более высокая активность СОД может сопровождаться повышением количества H_2O_2 и разрушительным действием пероксида водорода на клетки, учитывая его способность проходить через биологические мембраны. Кроме того, активность и стабильность ключевых ферментов антиоксидантной защиты взаимосвязаны, и согласованное действие этих энзимов становится необходимым для защиты их от непосредственного инактивирующего воздействия образующихся АФК. СОД, каталаза и ГПО могут инактивироваться одним из продуктов их ферментативной реакции. СОД, дисмутируя супероксиданионрадикал, защищает каталазу от его инактивирующего влияния благодаря снижению вероятности восстановления Fe^{3+} и возможности образования гидроксилрадикала, который служит прооксидантом ПОЛ. Продукты ПОЛ являются потенциальными ингибиторами ГПО. ГПО, используя восстановленную форму глутатиона, расщепляет не только пероксид водорода, но и органические гидроперекисные соединения, в том числе и гидроперекиси полиненасыщенных жирных кислот. Действие каталазы ограничено пероксисомами, ГПО имеет более высокое сродство к H_2O_2 , и это определяет ее ключевую роль в метаболизме H_2O_2 при более низких концентрациях каталазы. В тканях мозга, сердца и легких, где активность каталазы низкая, обезвреживание H_2O_2 происходит, в основном, благодаря ГПО [38]. Некоторые отделы мозга обладают повышенной чувствительностью к активным формам кислорода, и их накопление приводит к повреждению макромолекул, включая белки, липиды, нуклеиновые кислоты, снижению активности антиоксидантных ферментов. Оксидативный стресс является ранним

патологическим проявлением болезни Альцгеймера, нейродегенеративных изменений при старении, развития сосудистой деменции, депрессии, болезни Дауна, эпилепсии [38]. ПОЛ рассматривают как избирательную реакцию общего патофизиологического процесса у больных с маниакально-депрессивными расстройствами и шизофренией и другими изменениями функционального состояния ЦНС. Гипотиреоз нередко демонстрирует сходные с этими состояниями клинические проявления, особенно с депрессией [194, 197]. С этих позиций значимая роль активации процессов свободнорадикального окисления в развитии тиреоидной энцефалопатии становится весьма вероятной. В доступной литературе имеется значительное число данных, указывающих на развитие окислительного стресса с дисбалансом про- и антиоксидантных систем в различных тканях, включая головной мозг при гипотиреозе, вызванном аутоиммунным тиреоидитом, оперативным вмешательством на ЩЖ или облучением радиоактивным ^{131}I , лечением тиреостатиками, а также йододефицитом у пациентов и при экспериментальном гипотиреозе [54, 60, 74, 90, 144].

Важно также, что гипотиреоз сопровождается активацией окислительных процессов в мононуклеарных клетках [147]. По данным этих авторов, у пациентов с тиреоидитом Хашимото наблюдается оксидативный стресс в периферических мононуклеарных клетках в условиях *in vitro*. Активированные моноциты/макрофаги являются важными источниками повышения в крови уровня цитокинов.

Таким образом, когнитивные нарушения, выявленные у потомства животных, перенесших экспериментальный гипотиреоз, наблюдаются на фоне явления тиреоидной дисфункции и дисбаланса оксидантной и антиоксидантной систем в тканях, включая кору головного мозга, и нарушений согласованного действия ключевых ферментов антиокислительной защиты – супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы. Адекватное обеспечение животных йодом в восстановительном периоде после

экспериментального гипотиреоза способствует нормализации функции системы гипофизарно-тиреоидной оси потомства, положительно влияет на когнитивные функции крысят и препятствует развитию окислительного стресса в головном мозге, повышая активность и улучшая согласованность ферментативного звена антиоксидантной защиты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гипотиреоз является распространенной патологией эндокринной системы. Основными причинами развития гипотиреоза являются хирургические вмешательства на ЩЖ, лечение гипотиреоза радиоактивным йодом, аутоиммунный тиреоидит, а также дефицит поступления в организм йода. Недостаточность поступления йода становится фактором, ограничивающим скорость образования и секреции тиреоидных гормонов. Медико-социальная значимость и последствия недостаточного потребления йода для социально-экономического прогресса населения явились основой для выделения экспертами ВОЗ йододефицитных заболеваний – патологических состояний, развивающихся в популяции, которые могут быть предотвращены достаточным потреблением йода. Йододефицит вызывает не одно заболевание, а спектр различных расстройств, зависящих от периода жизни, таких как гипотиреоз, зоб, мертворождения, врожденные аномалии и нарушения роста и развития детей, повышает детскую смертность. Недостаток этого микроэлемента является основной предотвратимой причиной умственного дефицита и замедленного психомоторного развития детей. Около 1,2 млн детей ежегодно рождаются кретинами, умственно и физически отсталыми, глухонемыми или парализованными в результате йододефицита [181, 222]. Таким образом, йод необходим для синтеза тиреоидных гормонов, а T_3 и T_4 важны для развития мозга и его правильной работы на протяжении всей жизни организма. Не случайно наиболее распространенными проявлениями йододефицита у взрослых являются гипотиреоз, зоб и его осложнения и когнитивные расстройства.

Для массовой йодной профилактики экспертами ВОЗ рекомендовано йодирование поваренной соли йодидом или йодатом калия путем добавления в среднем от 20 до 40 мг йода на 1 кг соли. Благодаря активным программам обогащения соли количество йододефицитных заболеваний во всем мире

сокращается, но проблема йододефицита сохраняется в различных уязвимых группах населения – дети, беременные и кормящие женщины [130]. В литературе также появляется все больше сообщений о побочных эффектах потребления йодированной соли, таких как йодиндуцированные гипертиреоз и гипотиреоз, аутоиммунный тиреоидит, узловой зоб. Патогенетические механизмы этих побочных эффектов дискутируются. Возможно, в их основе лежат изменения характера модуляции йодидом ответа тироцитов на действие ТТГ и метаболизма в фолликулярных клетках ЩЖ. Йодид, поступающий с поваренной солью, всасывается достаточно быстро, повышая уровень йода в плазме крови, с последующим развитием временной гиперйодизации и эффекта Вольфа-Чайкова. Тем более, что лица с йододефицитом более подвержены нарушениям функции щитовидной железы даже при физиологическом уровне поступления микроэлемента [146]. Гиперйодизации можно избежать употреблением йодированных продуктов питания ежедневного сроса, так называемых фортифицированных продуктов. Особое внимание при производстве йодированных продуктов привлекают широко применяемые в пищевой промышленности органические полисахаридные структуры, обладающие адъювантными свойствами в отношении йода. В отличие от поваренной соли йод в этих органоминеральных комплексах сохраняется лучше, выдерживает повышение температуры при термической обработке пищи, не меняет органолептических свойств продуктов, не вызывает изменения стереотипов питания, лучше воспринимается психологически и, главное, более равномерно всасывается из желудочно-кишечного тракта, предотвращая развитие эффекта Вольфа-Чайкова [61, 154, 160, 185]. Таким образом, проблема рационального купирования йододефицита в отдельных группах повышенного риска и популяции в целом далека от окончательного решения, как и вопросы патогенеза развития нарушений когнитивных и других функций мозга при гипотиреозе.

Целью настоящей работы явились характеристика изменений оксидантно-антиоксидантной системы, когнитивных функций потомства крыс с экспериментальным гипотиреозом и оценка эффективности корректирующего действия нового йодсахаридного комплекса.

Эксперименты были выполнены на 140 белых беспородных крысах в два этапа. На первом этапе у животных вызывали гипофункцию щитовидной железы путем ежедневного введения тиамазола (мерказолила) из расчета 2,5 мг на 100 г массы тела внутривентрикулярно в течение 21 суток с соблюдением требований по гуманному отношению к экспериментальным животным. Мерказолил – широко используемый тиреостатик для моделирования экспериментального йододефицитного гипотиреоза – ингибирует ферментные системы, участвующие во включении (органификации) йода в гормоны щитовидной железы, а также вызывает истощение интратиреоидного содержания йода, ускоряя его выведение.

На первом этапе решали две основные задачи: 1) изучить интенсивность свободнорадикальных процессов и активность антиоксидантных ферментов в тканях мозга, печени и почек у крыс зрелого возраста при экспериментальном гипотиреозе; 2) оценить эффективность действия нового йодсахаридного комплекса на про- и антиоксидантную систему крыс при экспериментальном гипотиреозе.

При решении первой задачи у животных, которым течение 21 суток вводили тиреостатик, прежде всего, было изучено функциональное состояние щитовидной железы по уровню секреции гормонов гипофиз-тиреоидной оси. Результаты исследования подтвердили развитие гипотиреоза: у опытной группы животных к 22-м суткам наблюдалось повышение содержания в плазме крови тиреотропного гормона, снижение секреции общего и свободного тироксина, общего трийодтиронина. Кроме изменений тиреоидного статуса у животных наблюдались нарушения функциональной активности и других желез внутренней секреции, в частности, снизилась секреция тестостерона у самцов с увеличением продукции

гонадотропных гормонов, повысилась секреция паратирина. Эти результаты подтверждают данные литературы о взаимодействии ТГ с гонадами, приводящем к нарушениям половых функций при врожденном и приобретенном гипотиреозе [47, 67, 87, 139, 168, 227], а также о реципрокных отношениях между ТГ и ПТГ [127].

В исследованиях ряда авторов показано, что в патогенетических механизмах развития проявлений гипотиреоза определенную роль играют снижение устойчивости к стрессорным воздействиям и активация компонентов стресс-лимитирующих систем, изменения в процессах реализации адаптационно-компенсаторных реакций на разных уровнях, включая системные и короткодистантные (тканевые) факторы регуляции, окислительные и другие метаболические реакции.

При развитии гипотиреоза в наших экспериментах содержание в плазме крови кортикостерона не подвергалось статистически значимым колебаниям, наблюдалось повышение содержания ряда цитокинов провоспалительного действия – ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α , значительные изменения показателей про- и антиоксидантных систем. Повышение уровня цитокинов обнаружило прямую статистически значимую корреляцию с содержанием ТТГ и отрицательную с сТ₄. 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 функции тканей, особенно головного мозга, остаются предметом дискуссии.

Точками приложения ТГ в тканях могут быть не только ядерные рецепторы. ТГ могут оказывать влияние на эффекты цитокинов, факторов роста, нейромедиаторных процессов, активность дейодиназ и другие неядерные события [36, 120]. При гипотиреозе наблюдается повышение в сыворотке крови ФНО- α , ИЛ-6, растворимых рецепторов цитокинов на фоне снижения уровня Т₃ [123, 124, 137]. Увеличение содержания провоспалительных цитокинов (γ -ИНФ, ИЛ-1 β ,

ФНО- α) в крови может сопровождаться развитием депрессивного синдрома [1]. ИЛ-1 β и ИЛ-6 оказывают дозозависимый эффект на обучение и память взрослых животных. Показано, что ТГ непосредственно и с участием цитокинов регулируют процессы нейрогенеза нейронов, астроцитов, олигодендроцитов, а также ремиелинизации в ткани головного мозга взрослых животных [152, 215].

Данные литературы свидетельствуют о том, что дисфункция ЩЖ сопровождается нарушением оксидантно-антиоксидантного баланса. 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. На интенсификацию СРО в тканях при гипотиреозе указывает и уровень продуктов ПОЛ в гептан-изопропаноловых экстрактах, и содержание соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой.

Развитие гипотиреоза при введении мерказолила приводило к достоверному снижению активности основных антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы. В то же время механизмы развития окислительного стресса при недостаточности функции ЩЖ остаются неясными. Возможно, это связано с влиянием ТГ на функциональное состояние митохондрий, на состояние липидных компонентов биологических мембран, или со снижением метаболических процессов и активности биосинтетических процессов в тканях, а также дисрегуляцией активности

ферментов обмена различных клеточных компартментов с развитием недостаточности физиологических механизмов антиоксидантной системы.

Таким образом, экспериментальный гипотиреоз приводит к интенсификации процессов свободнорадикального окисления и снижению активности основных антиоксидантных ферментов в тканях мозга, печени и почек.

При решении второй задачи животные с гипотиреозом после введения мерказолила в течение 21 суток из расчета 2,5 мг на 100 г массы тела ежедневно в течение 30 суток получали новый йодсахаридный комплекс по 2,5 мкг йода на 100 г массы тела. Группа сравнения с гипотиреозом находилась в течение 30 суток на виварном питании. Йодобогатенное питание включало новый йодсодержащий органоминеральный комплекс (патент РФ №2716971 от 17.03.2020 г. «Йодсодержащая биологически активная добавка к пище» и патент РФ №2717045 от 17.03.2020 г. «Способ получения йодсодержащей биологически активной добавки к пище»), в которых органической матрицей является ребаудиозид А – стевиолгликозид растения *Stevia rebaudiana Bertoni*, используемый в пищевой промышленности как безопасный подсластитель, замещающий сахарозу. Новый йодсодержащий продукт стабилен, устойчив при хранении и термической обработке, совместим с пищевыми технологиями, биоразлагаем в желудочно-кишечном тракте, растворим в воде. Ребаудиозид А оказывает гипотензивное и гиполипидемическое действие, поэтому используется при лечении ожирения и снижении избыточного веса [165].

У животных, находящихся на йодобогатенном питании, к концу восстановительного периода в отличие от крыс, получавших полнорационный сухой комбикорм для лабораторных животных (производитель ООО «Ассортимент-Агро» Россия), наблюдалось восстановление уровней в плазме крови ТТГ ($p=0,0296$), oT_4 ($p=0,0030$), cT_4 ($p=0,0067$), а содержание oT_3 , ФСГ, ЛГ, тестостерона, паратгормона не имели статистически значимых различий с показателями интактных животных. Дополнительное введение йода

гипотиреозным крысам также приводило к снижению в плазме крови содержания ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α .

Изучение показателей развития оксидативного стресса у крыс, находящихся на йодобогатенном питании в восстановительном периоде, обнаружило снижение уровня хемилюминесценции, содержания первичных (диеновые конъюгаты) и вторичных (кетодиены и сопряженные триены) продуктов перекисления радикалов жирных кислот в гептановой (неэстерифицированные ацилы, нейтральные липиды – триацилглицеролы, эфиры холестерина и др.) и изопропаноловой (дифильные липиды – фосфолипиды, сфинголипиды и др.) фазах, ТБК-активных продуктов в плазме крови и тканях по сравнению с аналогичными показателями в группе крыс, получавших общевиварное 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.

Эти результаты, во-первых, являются дополнительным фактом, подтверждающим, что метаболические сдвиги, установленные у животных с экспериментальным гипотиреозом, связаны с изменениями гормонального статуса тиреоидной системы; во-вторых, указывают на эффективность влияния нового йодсахаридного комплекса на основе стевиолгликозида ребаудиозида А при йоддефицитных состояниях, вызывая коррекцию функции щитовидной железы.

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, сниженное содержание oT_4 , сT_3 и сT_4 , что отражало дисфункцию ЩЖ. Полученные результаты не противоречат данным литературы, характеризующим функциональное состояние щитовидной железы у потомства матерей с йододефицитом в периоде гестоза [17, 191, 228]. Так, показано, что плацента частично проницаема для ТГ, и в амниотической жидкости еще до начала функционирования ЩЖ плода определяется T_4 . Но через плаценту напрямую проникает лишь ограниченное количество T_4 и T_3 , поэтому важнейшее значение в поддержании уровня ТГ плода и обмена йода между матерью и плодом имеет функционирование плацентарных дейодиназ: Д1, Д2 и Д3. Дейодиназа Д1 на протяжении беременности активности не изменяет. Дейодиназа Д2 экспрессируется в плаценте, но ее активность также сохраняется достаточно постоянной. Активность дейодиназы Д3, инактивирующей T_3 и T_4 , в плаценте прогрессивно увеличивается на протяжении всей беременности. Ее функция сводится к обеспечению плода дополнительным количеством йода за счет дейодирования йодтиронинов матери. В условиях дефицита йода активность плацентарной дейодиназы Д3 значительно возрастает, а в крови плода ее активность снижается почти наполовину. Это, с одной стороны, является ключевым фактором в обеспечении плода йодом и поддержания достаточной концентрации ТГ в его организме, с другой, приводит к увеличению использования фетоплацентарным комплексом ТГ матери, повышению потребности в йоде и дополнительной стимуляции ЩЖ беременной [17, 228]. Фетальная ЩЖ в условиях дефицита йода подвергается постоянной (хронической)

стимуляции и использует все резервы йода для обеспечения собственного тиреоидного гормоногенеза, что и определяет повышенную чувствительность плода к йододефициту матери, организм которой является единственным источником данного микроэлемента [17, 191].

Таким образом, развитие мерказолилового гипотиреоза у родителей в наших исследованиях приводит к столь глубоким изменениям состояния ЩЖ и обмена в ней йода, которые негативно отражаются на тиреоидном гормоногенезе плода, интеллектуальном и психомоторном развитии потомства. Эти положения подтверждаются сохранением дисфункции щитовидной железы после развития экспериментального гипотиреоза у крыс в течение 30-дневного восстановительного периода (животные 3-й группы – группы сравнения), а также результатами гистологического изучения патоморфологического состояния железы, проведенными Козловым В.Н. [53]. По данным автора, трехнедельное ежедневное внутрижелудочное введение мерказолила в дозе 2,5 мг на 100 г массы тела у крыс приводит к выраженным деструктивным изменениям щитовидной железы: уменьшается размер фолликулов, значительная их часть лишена коллоида и заполнена прозрачной жидкостью; тироциты сильно деформированы, имеют кубическую или плоскую форму с измененными ядрами. При содержании животных в восстановительном периоде на общевиварном питании в течение 30 дней гистоструктура железы сохраняет ряд деструктивных изменений, не восстанавливаясь полностью. В наших исследованиях у потомства крыс с экспериментальным гипотиреозом даже после 30-дневного восстановительного периода на общевиварном питании (2-я и 3-я группы соответственно) были статистически значимо снижены индексы конверсии (oT_4/oT_3) и чувствительности тироцитов к действию ТТГ ($\text{oT}_4+\text{oT}_3/\text{ТТГ}$), также отражая изменения функциональной активности тироцитов.

У двухмесячных крысят, рожденных от родителей с мерказолиловым гипотиреозом, были установлены существенные изменения когнитивных

функций. Животные данной группы в тестах «Восьмирукавный радиальный лабиринт» [28, 221] и «Распознавание новых объектов» [3, 143] обнаружили достоверное снижение обучаемости, кратковременной и долговременной памяти. Так у крысят данной группы было установлено снижение показателя кратковременной памяти по сравнению с контрольной группой в 1,5 раза, а долговременной в 3 раза. У потомства животных, прошедших 30-дневный восстановительный период, были выявлены несколько лучшие показатели рабочей (оперативной) и долговременной памяти, которые, однако, не достигали уровней контрольной группы.

Содержание животных, подвергнутых интоксикации тиреостатиком до достижения гипотиреоза, на йодобогатенном рационе путем добавления йодсахаридного комплекса на основе стевиолгликозида ребаудиозида А в течение 30 суток, способствовало восстановлению у потомства функционирования щитовидной железы. У этой группы содержание ТТГ и гормонов ЩЖ (oT_4 , oT_3 и cT_3) в плазме крови не отличалось от контрольной, не обнаруживалось отставания в массе тела. Обучаемость крысят, являющихся потомством крыс, получавших после экспозиции тиреотоксиканта йодсахаридный комплекс, по показателю среднего балла памяти, зависящего от числа ошибочных и корректных входов в рукава восьмирукавного лабиринта, приближалась к контрольной группе и не имела с ней достоверных различий. Аналогичные результаты были получены и при исследовании кратковременной и референтной (долговременной) памяти. Важно, 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 «Восьмирукавный радиальный лабиринт» (Таблица 22) 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 (потомство животных, получавших после экспонирования тиреотоксиканта йодсахаридный комплекс) восстанавливается, но статистически значимо только с тироксином.

Таблица 22 – Корреляционные связи (r_s) тиреоидной гормональной функции с показателями пространственного обучения и памяти в тесте «Восьмирукавый радиальный лабиринт» двухмесячных крысят – потомства животных с экспериментальным гипотиреозом (данные на 6-е сутки исследования)

Гормоны	Группы животных							
	1-я, контрольная		2-я, опытная		3-я, сравнения		4-я, основная	
	Время прохождения теста	Средний балл памяти	Время прохождения теста	Средний балл памяти	Время прохождения теста	Средний балл памяти	Время прохождения теста	Средний балл памяти
ТТГ	0,405 p=0,009	-0,331 p=0,037	-0,061 p=0,657	0,161 p=0,657	-0,065 p=0,857	-0,204 p=0,571	0,385 p=0,272	-0,490 p=0,150
oT ₄	-0,448 p=0,004	0,396 p=0,011	0,797 p=0,006	-0,747 p=0,013	-0,078 p=0,830	0,196 p=0,586	-0,374 p=0,286	0,381 p=0,277
oT ₃	0,333 p=0,004	-0,422 p=0,007	-0,406 p=0,243	0,563 p=0,090	-0,149 p=0,681	0,047 p=0,896	0,310 p=0,383	-0,028 p=0,939
cT ₄	-0,444 p=0,004	0,325 p=0,041	-0,366 p=0,298	0,133 p=0,714	0,115 p=0,752	-0,183 p=0,612	-0,676 p=0,032	0,674 p=0,032

Полученные результаты не противоречат имеющимся в литературе данным о связи функционального состояния ЩЖ с психическими состояниями, расстройствами настроения и внимания, тревоги, депрессии и другими изменениями, указывающими на зависимость тяжести депрессии от концентрации ТГ. Кроме того, есть мнение, что повышение уровня ТТГ также влияет на тяжесть депрессии, предполагая связь между психическими расстройствами и состоянием оси гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа [186]. Вместе с тем результаты других исследований не согласуются с этим посылом. У пожилых мужчин не выявилась связь между состоянием ЩЖ и выраженностью депрессии [196], не была обнаружена также корреляционная связь между депрессией и уровнем

гормонов ЩЖ в синномозговой жидкости, а Medici M. [210] даже отметил, что повышенный риск депрессии связан с низким уровнем ТТГ в сыворотке крови.

Экспериментальные исследования с моделированием гипотиреоза однозначно указывают на возникновение поведения, подобного тревожности и депрессии [138, 203].

Одним из возможных объяснений несоответствия этих результатов является относительно слабая связь между параметрами гормонов ЩЖ в сыворотке крови и фактической передачей сигналов ТГ в мозге [194], поскольку последняя зависит не столько от циркулирующих уровней ТГ, сколько от локальных детерминант действия этих гормонов, включая переносчики гормонов ЩЖ и активность дейодиназ [121]. Таким образом, уровень ТГ, определяемый их концентрациями в крови, не обязательно отражает истинное содержание ТГ в головном мозге [194]. Авторы на модели мышей с генетическим дефицитом дейодиназы Д3, используя различные тесты (тесты «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «темно-светлая камера», принудительное плавание, подвешивание за хвост над плоской поверхностью), пришли к заключению, что дефицит в мозге Д3, вызывающий инактивацию ТГ, приводит к снижению уровня тревожности и депрессии, а также к повышению двигательной активности. И это сопровождается увеличением доступности ТГ в головном мозге. Гиперактивный фенотип мышей с генетическим дефицитом дейодиназы Д3 и их поведенческий профиль, по мнению авторов, отражает аспекты дефицита внимания и гиперактивного расстройства, которые наблюдаются у детей, подвергшихся воздействию повышенных уровней гормонов ЩЖ в период развития. Увеличение симптомов дефицита внимания и гиперактивности нередко наблюдается также у детей, рожденных матерями с гипотироксинемией на ранних сроках беременности [171].

На значительное несоответствие между изменениями концентраций гормонов ЩЖ в крови и конкретных тканях при экспериментальном гипотиреозе (введение пропилтиоурацила) и гипертиреозе (введение экзогенного T_3 и T_4)

указывают и данные, полученные Donzelli R. [142]. Авторы изучали изменения содержания T_3 и T_4 в различных тканях (головной мозг, печень, почки, сердце, жировая ткань) методом масс-спектрометрии с высокоэффективной жидкостной хроматографией и установили широкую вариабельность их концентраций в разных органах, охватывающую более двух порядков. Соотношение T_3/T_4 во всех тканях в среднем составляло 6-20%, но в мозге в среднем около 75%. Введение пропилтиоурацила кроме снижения как T_3 , так и T_4 , приводило к изменению этого соотношения, наиболее выраженному в мозге, печени и почках. Введение T_4 существенно влияло на содержание T_3 и T_4 в сыворотке крови, увеличивало их концентрацию в тканях, однако соотношение T_3/T_4 во всех тканях было сходным с базовыми значениями кроме мозга, где оно уменьшалось в два с лишним раза. Эти сдвиги авторы также объясняют изменением активности дейодиназы Д2, которая экспрессируется во многих тканях, включая мозг, сердце, скелетные мышцы, и ингибируется T_3 и T_4 на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях на фоне усиления ее прямого убиквитирования. Указанные исследования подчеркивают важность локальных факторов контроля ТГ и свидетельствуют о возможности развития селективного гипо- или гипертиреоза в тканях даже при наличии несущественных изменений в концентрации циркулирующих в крови гормонов ЩЖ. Снижение доступности ТГ в тканях приводит к индукции компенсаторных ответов, связанных с изменениями активности дейодиназ и/или трансмембранного переноса ТГ, что приводит к развитию несоответствия между их уровнем в крови и значительной неоднородностью степени тканевого гипотиреоза. Так, подсчитано, что только около 20% T_3 в мозге поступает непосредственно из крови, а подавляющее количество образуется локально под действием дейодиназы Д2 [224]. У некоторых пациентов, находящихся на заместительной терапии после тиреоидэктомии, несмотря на нормальный профиль ТГ в крови, все еще проявляются симптомы, связанные с гипотиреоидизмом [223].

Таким образом, материнская гипотироксинемия может сопровождаться не только снижением, но и усилением действия ТГ в головном мозге развивающегося плода из-за генетических или эпигенетических факторов. Локальный уровень тиреоидных гормонов, вызывающий изменения и расстройства настроения, когнитивных функций и психического состояния, не всегда коррелирует с концентрацией гормонов ЩЖ в периферической крови. Возможно, этим фактом объясняется нарушение корреляционных связей между полученными в наших экспериментах показателями, характеризующими когнитивные функции, и уровнем гормонов тиреоидной системы у потомства животных, подвергнутых воздействию тиреотоксиканта.

Когнитивные нарушения, выявленные у потомства животных, перенесших мерказолиловый гипотиреоз, наблюдались на фоне дисфункции щитовидной железы и сопровождались изменениями в состоянии про- и антиоксидантной системы 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. Аналогичные результаты были получены и при исследовании уровня ТБК-активных соединений в плазме крови и тканях. Содержание животных на йодобогатённом питании в восстановительном периоде приводило к нормализации уровня продуктов ПОЛ. У крысят 2-й группы наблюдались при этом снижение активности СОД, ГПО и каталазы в тканях. У животных 4-й группы, получавших дополнительно к виварному питанию йод, активность ферментов антиоксидантной защиты повышалась до значений контрольных животных.

Корреляционный анализ выявил наличие статистически значимой взаимосвязи между уровнями ТТГ и ТГ в плазме крови с содержанием продуктов липопероксидации в тканях головного мозга и печени (Таблица 23) у потомства животных, перенесших экспериментальный гипотиреоз: положительную с

концентрацией ТТГ и отрицательную с oT_4 и cT_4 слабой ($0,3 < r_s < 0,5$) и средней ($0,5 < r_s < 0,75$) силы.

Таблица 23 – Коэффициенты корреляции (r_s) содержания гормонов тиреоидной системы в плазме крови с уровнем продуктов липопероксидации в тканях у потомства животных, перенесших экспериментальный гипотиреоз

Ткани	Показатели	ТТГ	oT_4	oT_3	cT_4
Головной мозг	ДК, гептановая фаза	0,442, p=0,004	-0,344, p=0,030	0,289, p=0,071	-0,689, p<0,001
	КД и СТ, гептановая фаза	0,544, p<0,001	-0,541, p<0,001	-0,302, p=0,058	-0,613, p<0,001
	ДК, изопропаноловая фаза	0,531, p<0,001	-0,395, p=0,012	-0,259, p=0,106	-0,726, p<0,001
	КД и СТ, изопропаноловая фаза	0,549, p<0,001	-0,454, p=0,003	-0,274, p=0,087	-0,791, p<0,001
	ТБК-АП	0,420, p=0,007	-0,591, p=0,013	-0,205, p=0,204	-0,658, p<0,001
Печень	ДК, гептановая фаза	0,606, p<0,001	-0,421, p=0,007	-0,152, p=0,349	-0,621, p<0,001
	КД и СТ, гептановая фаза	0,596, p<0,001	-0,569, p<0,001	-0,217, p=0,178	-0,692, p<0,001
	ДК, изопропаноловая фаза	0,561, p<0,001	-0,416, p=0,008	-0,319, p=0,045	-0,759, p<0,001
	КД и СТ, изопропаноловая фаза	0,600, p<0,001	-0,518, p=0,001	-0,199, p=0,217	-0,789, p<0,001
	ТБК-АП	0,698, p<0,001	-0,497, p=0,001	-0,311, p<0,051	-0,723, p<0,001

Одновременно наблюдались корреляционные связи содержания гормонов тиреоидной системы с активностью антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы (Таблица 24). При этом уровень ТТГ имел отрицательный коэффициент, а общего и свободного тироксина и общего трийодтиронина положительный. Коэффициенты корреляции гормонов с активностью каталазы в печени были низкими и не имели статистической достоверности.

Таблица 24 – Коэффициенты корреляции (r_s) содержания гормонов тиреоидной системы в плазме крови с активностью ферментов антиоксидантной защиты в тканях у потомства животных, перенесших экспериментальный гипотиреоз

Ткани	Показатели	ТТГ	oT ₄	oT ₃	cT ₄
Головной мозг	СОД	-0,526, p<0,001	0,492, p<0,001	-0,371, p=0,018	0,687, p<0,001
	ГПО	-0,557, p<0,001	0,451, p=0,003	-0,283, p=0,077	0,565, p<0,001
	Каталаза	-0,450, p=0,004	0,453, p=0,003	-0,229, p=0,154	0,567, p<0,001
Печень	СОД	-0,395, p=0,012	0,291, p=0,068	-0,173, p=0,915	0,639, p<0,001
	ГПО	-0,658, p<0,001	0,514, p=0,001	-0,414, p=0,008	0,755, p<0,001
	Каталаза	-0,308, p=0,053	0,317, p=0,147	-0,219, p=0,175	0,148, p=0,362

Таким образом, у потомства животных, спаривание и беременность самок которых происходили непосредственно сразу после развития мерказолилового гипотиреоза, выявились нарушения функционального состояния щитовидной железы, проявляющиеся повышением уровня тиреотропина, снижением содержания общего и свободного тироксина и общего трийодтиронина. Вероятно, это связано со снижением чувствительности тиреоцитов к регуляторным воздействиям ТТГ, а также истощением интертиреоидного содержания йода с изменениями метаболизма микроэлемента в тиреоцитах и недостаточной секрецией тиреоидных гормонов у матери в периодах гестации и постнатального развития крысят в процессе лактации. У потомства крыс при этом наблюдается снижение когнитивных функций с нарушениями кратковременной и долговременной памяти с повышением в ткани головного мозга уровней первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов на фоне снижения активности антиоксидантных ферментов – СОД, ГПО и каталазы. На взаимосвязанность этих процессов указывают корреляционные связи, которые обнаруживаются у потомства крыс с экспериментальным гипотиреозом между показателями когнитивных функций и содержанием продуктов перекисного окисления липидов (Таблица 25), а также активностью антиоксидантных ферментов в ткани головного мозга (Таблица 26).

Таблица 25 – Коэффициенты корреляции (r_s) среднего балла памяти в тесте «Восьмирукавый радиальный лабиринт» с уровнем первичных и вторичных продуктов липопероксидации в ткани головного мозга у потомства крыс, перенесших экспериментальный гипотиреоз

Показатели	Дни исследования				
	1	2	3	4	6
ДК, гептановая фаза	-0,493 p=0,001	-0,340 p=0,032	-0,449, p=0,004	-0,207, p=0,200	-0,347, p=0,028
КД и СТ, гептановая фаза	-0,457, p=0,003	-0,38, p=0,016	-0,202, p=0,209	-0,342, p=0,031	-0,302 p=0,058
ДК, изопропаноловая фаза	-0,474, p=0,002	-0,428, p=0,006	-0,466, p=0,002	-0,301, p=0,059	-0,300 p=0,059
КД и СТ, изопропаноловая фаза	-0,551, p<0,001	-0,513, p=0,001	-0,473, p=0,002	-0,344, p=0,030	-0,437, p=0,005
ТБК-АП	-0,361, p=0,022	-0,432 p=0,005	-0,402, p=0,010	-0,246, p=0,126	-0,256, p=0,111

Таблица 26 – 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 26).

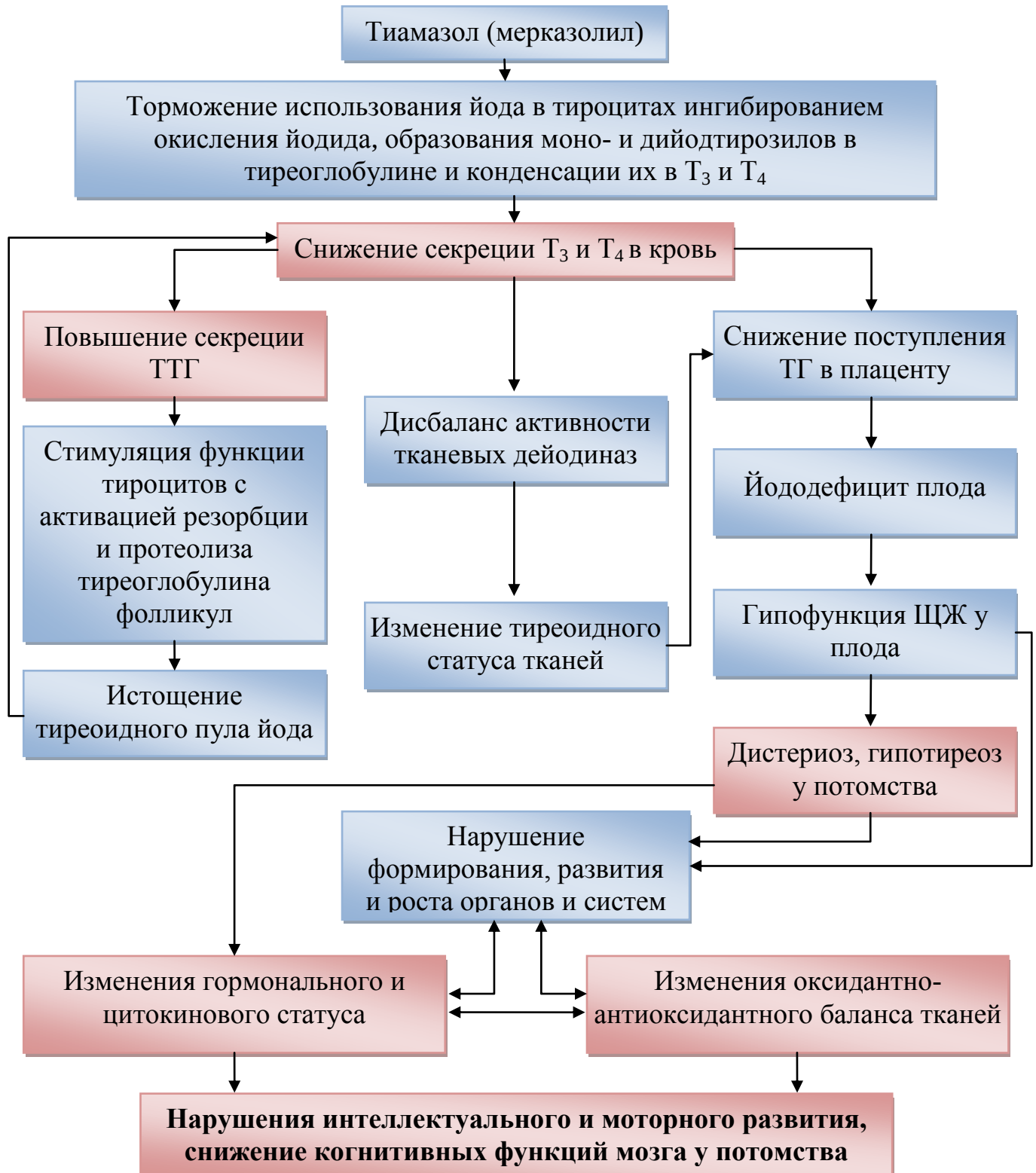


Рисунок 26 – Схема патогенеза развития когнитивных нарушений у потомства животных, перенесших экспериментальный мерказолиловый гипотиреоз (результаты, полученные автором, заключены в красную рамку)

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.

Содержание животных с экспериментальным гипотиреозом в восстановительном периоде на общевиварном питании с добавлением нового йодсахаридного комплекса в виде йодстевиолгликозида ребаудиозида А в суточной дозе 2,5 мкг йода на 100 г массы тела животного 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 подтверждают 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 механизмы 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.

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 хемилюминесценции, 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 cT_4 с

уровнем первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов и активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза) 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 супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза 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.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода
ГПО – глутатионпероксидаза
ДИТ – диийодтиронин
ДК – диеновые конъюгаты
ИЛ – интерлейкин
КАТ – калаза
КД – кетодиены
ЛГ – лютеинизирующий гормон
МИТ – монойодтиронин
НАД⁺ – никотинамидадениндинуклеотид
НАДФ⁺ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат
oT₃ – общий трийодтиронин
oT₄ – общий тироксин
ПВХ – поливинилхлорид
ПОЛ – перекисное окисление липидов
ПТГ – паратиреоидный гормон
СДГ – сукцинатдегидрогеназа
СОД – супероксиддисмутаза
СРО – свободнорадикальное окисление
СТ – сопряженные триены
сT₃ – свободный трийодтиронин
сT₄ – свободный тироксин
ТБК – тиобарбитуровая кислота
ТГ – тиреоидные гормоны
ТТГ – тиреотропный гормон
ФАД – флавинадениндинуклеотид

ФНО- α – фактор некроза опухолей-альфа

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ЩЖ – щитовидная железа

DIR – дискриминационное время исследования нового объекта

GSH – глутатион восстановленный

IQ – коэффициент интеллекта

гТ₃ – реверсный трийодтиронин

TR – тиреоидный рецептор

TRH – тиреотропин-рилизинг-гормон

WHO – Всемирная организация здравоохранения

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов, В.В. Интерлейкин-1 в цитокиновой сети: фундаментальные и прикладные аспекты / В.В. Абрамов, Т.Я. Абрамова // Успехи современной биологии. – 2007. – Т. 127, № 6. – С. 570-579.
2. Аверьянов, С.В. Взаимосвязь функционального состояния щитовидной железы, минеральной плотности костной ткани скелета и показателей стоматологического статуса пациентов / С.В. Аверьянов, Ф.Х. Камилов, Р.Р. Юнусов // Dental Forum. – 2020. – № 1. – С. 2-8.
3. Агонист ядерных ретиноидных X рецепторов бексаротен улучшает когнитивные функции у крыс, перенесших пренатальную гипоксию / Н.М. Дубровская, Д.С. Васильев, Н.Н. Наливаева [и др.] // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2019. – Т. 105, № 2. – С. 165-177.
4. Агунова, Л.В. Анализ производства мясных продуктов функционального назначения для коррекции йододефицитных состояний / Л.В. Агунова // Восточно-Европейский журнал передовых технологий. – 2015. – Т. 2, № 10 (74). – С. 9-14.
5. Активность антиоксидантных ферментов и процессы свободнорадикального окисления при экспериментальном гипотиреозе и коррекции тиреоидных сдвигов йодированным полисахаридным комплексом / Ф.Х. Камилов, А.Н. Мамцев, В.Н. Козлов [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2012. – Т. 93, № 1. – С. 116-119.
6. Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в тканях печени при экспериментальной тиреоидной дисфункции / А.Н. Мамцев, О.В. Лобарева, Ю.В. Касьянов [и др.] // Наукові праці: Одеської національної академії харчових технологій. – 2012. – Т. 2, вып. 42. – С. 134-136.
7. Активность прооксидантных и антиоксидантных ферментов крови у крыс с гипокортикоидными и гиперкортикоидными состояниями / А.И. Сеницкий,

М.В. Комелькова, Д.А. Козочкин [и др.] // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура. – 2014. – Т. 14, № 1. – С. 73-77.

8. Активность ферментов цикла Кребса у новорожденных и беременных матерей при гипотиреозе / Е.О. Мухамадиева, К.О. Шарипов, Д.Ж. Жетсибай, Р.Ф. Яхин // Вестник Казахского национального медицинского университета. – 2016. – № 1. – С. 289-291.

9. Алимова, И.Л. Маски тяжелого приобретенного гипотиреоза у детей дошкольного возраста / И.Л. Алимова, Ю.В. Лабузова // Проблемы эндокринологии. – 2017. – Т. 63, № 2. – С. 117-120. DOI: <http://dx.doi.org/10.14341/probl2017632117-120>.

10. Анализ пространственной памяти у NLRP3 – нокаутных животных / Я.В. Горина, А.М. Иптышев, О.Л. Лопатина [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2017. – № 6. – С. 50-56.

11. Аналитический обзор результатов мониторинга основных эпидемиологических характеристик йоддефицитных заболеваний у населения РФ за период 2009-2015г. / Е.А. Трошина, Н.М. Платонова, Е.А. Панфилова, К.О. Панфилов // Проблемы эндокринологии. – 2018. – Т. 64, № 1. – С. 21-37.

12. Арутюнян, А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. рек. / А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбина. – СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000. – 104 с.

13. Ахундова, Н.Э. Состояние гипоталамо-гипофизарно-надпочечниково-яичниковой системы и функциональной активности щитовидной железы у женщин с гипоандрогенией на фоне гиперпролактинемии / Н.Э. Ахундова // Вестник современной клинической медицины. – 2017. – Т. 10, № 5. – С. 7-11.

14. Байбурина, Г.А. Влияние экстремальной гипоксии на гормональный профиль и динамику свободнорадикальных процессов в головном мозге крыс с различным фенотипом устойчивости к гипоксии / Г.А. Байбурина, Е.А.

Нургалеева, Г.А. Дроздова // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – Т. 18, № 6. – С. 95-98.

15. Белей, О.А. Использование результатов скрининга неонатального тиреотропного гормона для оценки состояния йодного дефицита в Тюменской области / О.А. Белей // Университетская медицина Урала. – 2015. – Т. 1, № 1. – С. 4-6.

16. Белых, Н.А. Влияние гестационной гипотироксинемии на течение беременности и раннюю неонатальную адаптацию новорожденных / Н.А. Белых // Украинский журнал детской эндокринологии. – 2014. – № 4 (12). – С. 18-23.

17. Белых, Н.А. Йодный дефицит и интеллект ребенка: механизмы негативного влияния и пути профилактики / Н.А. Белых // Наука молодых. – 2017. – № 2. – С. 251-264.

18. Белых, Н.А. Психомоторное развитие детей раннего возраста в регионе легкого йодного дефицита / Н.А. Белых // Украинский журнал детской эндокринологии. – 2014. – № 2 (10). – С. 45-50.

19. Бирюкова, Е.В. Гипотиреоз: клиника, диагностика, подходы к терапии / Е.В. Бирюкова, М.В. Шинкин // Терапия. – 2017. – № 7. – С. 110-115.

20. Боташева, В.С. Оценка характера и динамики структурных изменений твердых тканей зуба при гипотиреозе (экспериментальное исследование) / В.С. Боташева, А.Б. Кубанова // Медицинский алфавит. – 2017. – Т. 24, № 3. – С. 59-61.

21. Бугаенко, О.А. Физическое и половое развитие мальчиков с тиреопатиями / О.А. Бугаенко, М.Ю. Сульженко, Н.Н. Головченко // Медико-социальные проблемы семьи. – 2017. – Т. 22, № 1. – С. 85-88.

22. Бурлуцкая, А.В. Патология щитовидной железы у подростков города Краснодара / А.В. Бурлуцкая, С.А. Шадрин, Н.В. Статова // Национальное здоровье. – 2015. – № 1. – С. 147-151.

23. Вернигородский, В.С. Патогенетическое значение провоспалительных цитокинов и дислипидемии в развитии сердечно-сосудистых осложнений у

больных с гипотиреозом / В.С. Вернигородский, Н.М. Фетисов, М.В. Вернигородская // Международный эндокринологический журнал. – 2017. – Т. 13, № 4. – С. 252-266.

24. Взаимосвязь параметров ТТГ, кортизола и пролактина у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом / Е.В. Попова, П.К. Акелла, Ю.В. Попова [и др.] // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2015. – Т. 5, № 12. – С. 1647-1649.

25. Влияние длительного введения высоких доз йодида калия на метаболизм йода в щитовидной железе крыс / С.В. Лупачик, Л.И. Надольник, З.В. Ненецкая, В.В. Виноградов // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, № 2. – С. 161-168.

26. Влияние неонатальных повышений уровня интерлейкина-1 β на формирование пространственной памяти взрослых крыс / А.Н. Трофимов, О.Е. Зубарева, А.С. Симбирцев, В.М. Клименко // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2012. – Т. 98, № 6. – С. 782-792.

27. Влияние низкодозированных эстроген-гестогенных препаратов на показатели минеральной плотности костной ткани у женщин постменопаузального периода с диффузно-узловым нетоксическим зобом и аутоиммунным тиреоидитом / В.А. Громова, Н.В. Ворохобина, О.Ф. Малыгина, А.В. Кузнецова // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2015. – Т. 7, № 3. – С. 38-42.

28. Восьмирукавный радиальный лабиринт как инструмент для оценки пространственного обучения и памяти у мышей / Я.В. Горина, О.Л. Лопатина, Ю.К. Комлева [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2016. – № 5. – С. 46-52.

29. Выбор способа применения и дозы тиамазола для моделирования гипотиреоза у лабораторных крыс / Ф.Х. Камилов, Т.И. Ганеев, В.Н. Козлов [и др.] // Биомедицина. – 2018. – № 1. – С. 59-70.

30. Гальмівний механізм впливу тиреоїдних гормонів на когнітивні функції мозку / О.Г. Родинський, О.М. Демченко, О.Ю. Кондратьєва [и др.] // Медичні перспективи. – 2017. – Т. 22, № 2. – С. 9-13.

31. Горелов, П.И. Оценка прокогнитивного эффекта дилепта и его основного метаболита ГЗР-125 в тесте распознавания объектов у крыс / П.И. Горелов, Р.У. Островская, Н.М. Сазонова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 7. – С. 3-5.

32. Городецкая, И.В. Влияние йодсодержащих гормонов на ткани челюстно-лицевой системы / И.В. Городецкая, Н.Ю. Масюк // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2018. – Т. 17, № 2. – С. 20-29.

33. Горшенева, Е.Б. Влияние гормонального дисбаланса на функциональные расстройства репродуктивной системы у женщин в Тамбовской области / Е.Б. Горшенева, А.С. Свиркова // Вестник Тамбовского университета. – 2017. – Т. 22, № 6-2. – С. 1655-1670.

34. Гржибовский, А.М. Сравнение количественных данных двух независимых выборок с использованием программного обеспечения Statistica и SPSS: параметрические и непараметрические критерии / А.М. Гржибовский, С.В. Иванов, М.А. Горбатова // Наука и здравоохранение. – 2016. – № 2. – С. 5-28.

35. Гриффин, Дж.Е. Щитовидная железа // Физиология эндокринной системы: пер. с англ. / Дж.Е. Гриффин, С. Охеда. – М.: БИНОМ, Лаборатория знаний, 2008. – С. 357-386.

36. Дёмин, Д.Б. Эффекты тиреоидных гормонов в развитии нервной системы (обзор) / Д.Б. Дёмин // Журнал медико-биологических исследований. – 2018. – Т. 6, № 2. – С. 115-127.

37. Деструктивные изменения тканей зуба на фоне гипотиреоза / В.С. Боташева, А.Б. Кубанова, М.Б. Уздеков, С.И. Кубанов // Современная наука и образование. – 2016. – № 1 (13). – С. 131-134.

38. Дубинина, Е.Е. Продукты метаболизма кислорода и функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты / Е.Е. Дубинина. – СПб.: Издательство Медицинская пресса, 2006. – 400 с.
39. Евдокимова, О.В. Влияние йодсодержащих тиреоидных гормонов на синтез белков теплового шока в головном мозге крыс при стрессе и адаптации / О.В. Евдокимова, И.В. Городецкая // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2015. – Т. 14, № 1. – С. 18-25.
40. Есина, М.М. Система репродукции при гипотиреозе / М.М. Есина // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. – 2017. – Т. 4, № 2. – С. 77-83.
41. Зелинская, Н.Б. Патология щитовидной железы у детского населения Украины / Н.Б. Зелинская, А.С. Ларин / Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2016. – Т. 55, № 3. – С. 76-81.
42. Инсулинорезистентность и тиреоидные гормоны / А.Ф. Вербовой, Ю.А. Долгих, О.В. Косарева [и др.] // Фарматека. – 2017. – № 5 (338). – С. 91-95.
43. Исследование послеоперационного гипотиреоза и путей его коррекции в эксперименте у крыс / А.Х. Каде, Е.И. Клещенко, Б.Б. Мусельян [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 5. – С. 68-72.
44. Йодная недостаточность и профилактика йододефицитных состояний / Ф.Х. Камилов, А.Н. Мамцев, В.Н. Козлов [и др.] – Уфа: Башкирская энциклопедия, 2017. – 160 с.
45. Йододефицитные заболевания в Байкальском регионе / М.В. Савченков, Н.В. Ефимова, Л.А. Николаева [и др.] // Медицина и высокие технологии. – 2019. – № 3. – С. 68-74.
46. К вопросу о нервно-психических расстройствах у больных гипотиреозом / В.А. Куташов, А.В. Будневский, О.В. Ульянова, Д.Н. Припутневич // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2016. – Т. 12, № 3. – С. 375-378.

47. Касимова, С.Д. Влияние йодного дефицита на половое развитие подростков / С.Д. Касимова, Н.М. Турдалиева // Вестник последипломного образования в сфере здравоохранения. – 2016. – № 2. – С. 23-25.
48. Киселёва, И.А. Исследование влияния комбинированного применения йода и селена на течение наиболее частой патологии щитовидной железы / И.А. Киселёва, А.В. Каминский // Международный эндокринологический журнал. – 2015. – Т. 66, № 2. – С. 117-121.
49. Климов, В.С. Нарушение репродуктивной функции при патологии щитовидной железы / В.С. Климов, Л.О. Абатурова, Д.Р. Любимая // Молодой ученый. – 2017. – Т. 148, № 14-2. – С. 22-25.
50. Когнитивно-психометрические показатели пациентов с первичным гипотиреозом до и после лечения / А.Л. Малев, Н.Н. Репинская, Н.Ю. Мельник [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2017. – № 8 (62). – С. 128-131.
51. Козлов, В.Н. Витаминный состав хлеба, обогащенного йодом / В.Н. Козлов, Е.Е. Пономарёв, Л.Ф. Пономарёва // Приволжский научный вестник. – 2012. – Т. 8, № 4. – С. 22-25.
52. Козлов, В.Н. Изучение тиреоидного статуса крыс при коррекции нарушений, индуцированных экспериментальным гипотиреозом / В.Н. Козлов // Российский ветеринарный журнал. – 2013. - № 3. – С. 36-38.
53. Козлов, В.Н. Морфофункциональные изменения в щитовидной железе у белых крыс при моделировании тиреоидной патологии / В.Н. Козлов // Ветеринарная медицина. – 2006. – № 1. – С. 18-19.
54. Коноплянко, В.А. Патофизиологические процессы при гипотиреозе в эксперименте / В.А. Коноплянко, Р.Д. Клебанов // Здоровье и окружающая среда. – 2015. – Т. 2, № 25. – С. 102-105.

55. Кравченко, А.Я. Гипотиреоз и сердечная недостаточность / А.Я. Кравченко, А.В. Будневский, М.С. Кузина // Клиническая медицина. – 2018. – Т. 96, № 5. – С. 397-400.
56. Кравченко, Е.Н. Распространённость патологии щитовидной железы у беременных в условиях Заполярья / Е.Н. Кравченко, М.А. Коваленко // Доктор.РУ. – 2018. – Т. 154, № 10. – С. 59-61.
57. Кулько, М.А. Содержание сиаловых кислот и фукозы в тканях печени, слизистых наложениях желудка и тонкой кишки крыс при экспериментальном гипотиреозе / М.А. Кулько, Э.Р. Карамуллина, В.А. Куликов // Инновационная наука. – 2019. – № 3. – С. 161-164.
58. Лобарева, О.А. Активность антиоксидантных ферментов печени крыс при экспериментальном гипотиреозе и его коррекция йодсодержащим полисахаридным комплексом / О.В. Лобарева, Г.М. Абдуллина, Ф.Х. Камилов // Омский научный вестник. – 2011. – № 1 (104). – С. 92-94.
59. Лобарева, О.А. Влияние йодполисахаридного комплекса на содержание пиридиновых нуклеотидов и АТФ в печени крыс с мерказолиловым гипотиреозом / О.В. Лобарева, Г.М. Абдуллина // Здоровье человека в XXI веке: сборник научных статей IV Российской научно-практической конференции. – Казань: Изд-во Казанского ГМУ, 2012. – С. 759-764.
60. Лыгденов, Д.В. Влияние органических форм йода и цинка на соотношение прооксидантных и антиоксидантных систем организма при йодной недостаточности / Д.В. Лыгденов, Е.В. Сердонова, С.Д. Жамсаранова // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2017. – Т. 7, № 4 (23). – С. 36-43.
61. Мамцев, А.Н. Технология производства кисломолочного напитка, обогащенного йодом / А.Н. Мамцев, В.Н. Козлов, М.В. Динякова // Переработка молока. – 2016. – № 11. – С. 42-45.

62. Мендельсон, К.Р. Механизмы действия гормонов / К.Р. Мендельсон // Физиология эндокринной системы: пер. с англ. / под ред. Дж. Гриффина, С. Охеды. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2008. – С. 67-113.
63. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарева // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
64. Микроструктура щитовидной железы при экспериментальном гипотиреозе и его коррекции йодбиоорганическими соединениями / А.Л. Даниленко, В.Н. Козлов, В.Н. Байматов [и др.] // Вестник АПК Ставрополя. – 2015. – Т. 18, № 2. – С. 98-103.
65. Морфологические изменения печени крыс, воспроизводящие картину неалкогольной жировой болезни печени в условиях экспериментального послеоперационного гипотиреоза / С.В. Щелоченков, М.Б. Петрова, Г.С. Джулай, Д.В. Килейников // Тверской медицинский журнал. – 2017. – № 2. – С. 85-94.
66. Муравьева, А.Б. Экспериментальная модель гипотиреоза. Оценка эффективности экспериментальной модели гипотиреоза / А.Б. Муравьева, Е.В. Пажитнева // Национальная Ассоциация Ученых. – 2016. – № 3-1 (19). – С. 44-45.
67. Нарушение морфофункционального состояния надпочечников при экспериментальном посттравматическом стрессовом расстройстве у крыс: корреляция с поведенческими маркерами / Кондашевская М.В., Цейликман В.Э., Манухина Е.Б. [и др.] // Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова. – 2017. – Т.103, № 7. – С. 808-818.
68. Новиков, В.И. Междисциплинарные аспекты синдрома гипотиреоза: диагностика и лечение / В.И. Новиков, К.Ю. Новиков // Эффективная фармакотерапия. – 2014. – № 46. – С. 50-55.
69. Особенности гемостаза при нарушениях функции щитовидной железы / И.В. Ральченко, М.В. Чепис, О.П. Тюшнякова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 1. – С. 77.

70. Охеда, С.Р. Передний гипофиз и гипоталамус / С.Р. Охеда // Физиология эндокринной системы: пер. с англ. / под ред. Дж. Е Гриффина и С.Р. Охеды. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2008. – С. 152-182.
71. Оценка качества коррекции тиреоидного статуса и показателей липидного спектра крови при гипотиреозе / Е.И. Ямашкина, Ю.В. Ямашкин, М.В. Есина [и др.] // Здоровье и образование в XXI веке. – 2017. – Т. 19, № 6. – С. 75-78.
72. Оценка нозологических проявлений субклинического гипотиреоза и состояний с высоконормальным уровнем тиреотропного гормона / Л.А. Жукова, Л.А. Гуламов, Н.С. Андреева, Е.В. Трегубенко // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 5. – С.3-8.
73. Оценка эффективности йодной профилактики в г. Уфе / Е.М. Степанова, Т.В. Моругова, Д.Ш. Авзалетдинова, С.А. Денисова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2016. – № 6. – С. 71-75.
74. Павлюченко, И.И. Сравнительный анализ показателей системы антиоксидантной защиты у пациентов с гипотиреозом и ХОБЛ / И.И. Павлюченко, Е.И. Дыдышко, О.С. Охременко // Кубанский научный медицинский вестник. – 2017. – Т. 24, № 5. – С. 59-62.
75. Платонова, Н.М. Йодный дефицит: решение проблемы в мире и России (25-летний опыт) / Н.М. Платонова, Е.А. Трошина // Consilium medicum. – 2015. – Т. 17, № 4. – С. 44-50.
76. Припутневич, Д.Н. Заместительная гормонотерапия как фактор, влияющий на скорость наступления и устойчивость ремиссии у больных депрессией, страдающих гипотиреозом / Д.Н. Припутневич, В.А. Куташов, А.В. Будневский // Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. – 2017. – №1. – С. 42-45.
77. Проблема йодной обеспеченности в республике Беларусь: результаты внедрения стратегии ликвидации йодного дефицита / Т.В. Мохорт, Н.Д.

Коломиец, С.В. Петренко [и др.] // Международный эндокринологический журнал. – 2016. – № 1 (73). – С. 11-18.

78. Различия агрегационной активности тромбоцитов в зависимости от патологии щитовидной железы / М.В. Чепис, Е.С. Ральченко, О.А. Русакова [и др.] // Медицинская наука и образование Урала. – 2016. – Т. 17, № 2 (86). – С. 71-73.

79. Распространённость диффузного эндемического зоба у населения Приморского края / К.В. Кондратьев, П.Ф. Кику, Б.Г. Андрюков [и др.] // Экология человека. – 2018. – № 5. – С. 52-57.

80. Роль инсулинорезистентности в формировании дислипидемий у пациентов с дисфункциями щитовидной железы / Д.М. Серкин, М.В. Серкина, О.М. Серебрякова, Н.О. Гринь // Забайкальский медицинский вестник. – 2017. – № 1. – С. 1-10.

81. Роти, Э. Заболевания щитовидной железы, индуцированные йодом / Э. Роти, Л.И. Браверман // Болезни щитовидной железы / под ред. Л.И. Бравермана. – М.: Медицина, 2000. – С. 401-417.

82. Русских, Е.С. Состояние проблемы йододефицита в разных странах мира на современном этапе / Е.С. Русских, А.И. Эмираджиева, С.В. Иванов // Modern Science. – 2019. – № 5-2. – С. 40-44.

83. Сабанов, В.И. Активность перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и состояние миокарда при экспериментальном гипер- и гипотиреозе / В.И. Сабанов, И.Г. Джигоев, А.Т. Лолаева // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – Т. 6, № 2. – С. 241-244.

84. Содержание биогенных аминов в головном мозге крыс в динамике развития экспериментального посттравматического стрессового расстройства / Р.В. Деев, Ю.М. Шатрова, А.И. Синицкий [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96, № 5. – С. 806-810.

85. Соколик, В.В. Реакция цитокинового звена нейровоспаления на действие β -амилоидного пептида 1-40 в гомоагрегатной и липосомной формах у

крыс / В.В. Соколик, А.В. Мальцев // Биомедицинская химия. – 2015. – Т. 61, вып. 3. – С. 373-380.

86. Соотношение гормонов гипофизарно-тиреоидной оси, дофамина и цАМФ у жителей Европейского и Азиатского Севера / И.Н. Горенко, Е.В. Типисова, В.А. Попкова, А.Э. Елфимова // Журнал медико-биологических исследований. – 2019. – Т. 7, № 2. – С. 140-150.

87. Спивак, Ж.С. Уровни холестерина в крови и функциональное состояние семенников у бесплодных мужчин больных первичным гипотиреозом / Ж.С. Спивак, В.А. Бондаренко // Проблемы эндокринной патологии (Харьков). – 2015. – № 1. – С. 53-58.

88. Спонтанная агрегация тромбоцитов и влияние на нее иммуноцитокінов и гормонов при патологии щитовидной железы / И.В. Ральченко, Е.В. Рудзевич, Е.С. Ральченко [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2019. – Т. 22, № 1. – С. 13-16.

89. Сравнение тестов «восьмирукавый радиальный лабиринт» и «водный лабиринт Моррисона» при оценке пространственной памяти у экспериментальных животных в ходе нейроповеденческого тестирования / А.М. Иптышев, Я.В. Горина, О.Л. Лопатина [и др.] // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2017. – Т. 2, № 2. – С. 62-39.

90. Сравнительный анализ состояния про-/антиоксидантной защиты у пациентов с дисфункцией щитовидной железы различного генеза / Е.И. Ременякина (Дыдышко), И.И. Павлюченко, О.С. Охременко, Ю.С. Панасенкова // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 2. URL: <http://www.science-education.ru/116-12596>

91. Субклинический гипотиреоз – фактор мужского бесплодия / Д.Н. Величко, Т.Е. Аббакумова, Ю.З. Струнина [и др.] // Амурский медицинский журнал. – 2017. – № 1 (17). – С. 59-60.

92. Таланцева, В.К. О поражаемости эндемическим зобом студентов Чувашской Республики на примере Чувашской ГСХА / В.К. Таланцева, Т.И. Волкова, Н.В. Алтынова // Медицина Кыргызстана. – 2018. – № 1. – С. 90-91.

93. Тиреоидный статус и его влияние на процессы ремиелинизации / Д.А. Качанов, Г.Я. Лапкина, А.А. Демкина, С.Н. Прошин // Устойчивое развитие науки и образования. – 2018. – № 9. – С. 258-266.

94. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов / под ред. проф. Н. И. Калетиной. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 1016 с.

95. Топологические особенности депрессивных нарушений при гипотиреозе / Д.Н. Припутневич, А.В. Будневский, В.А. Куташов, О.В. Ульянова // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. – 2017. – № 70. – С. 195-201.

96. У высоко импульсивных крыс сигнальная память в 8-канальном радиальном лабиринте проявляется лучше, чем у низко импульсивных / М.И. Зайченко, А.В. Шаркова, Г.А. Григорьян, Г.Х. Мержанова // Журнал высшей нервной деятельности. – 2016. – Т. 66, № 5. – С. 600-610.

97. Уильямс, Г.Р. Генетические структуры, воспринимающие действие тиреоидного гормона / Г.Р. Уильямс, Г.А. Брент // Молекулярная эндокринология. Фундаментальные исследования и их отражение в клинике / пер. с англ. под ред. Б.Д. Вайтрауба, Ю.А. Панкова. – М.: Медицина, 2003. – С. 213-233.

98. Утробина, Д.Д. Оценка уровня содержания йода в йодированной соли на протяжении всего срока годности / Д.Д. Утробина, Е.В. Береснева // Экология родного края: проблемы и пути решения: материалы всеросс. научно-практической конференции с международным участием. – Киров, 2015. – С. 432-436.

99. Фадеев, В.В. По материалам клинических рекомендаций по субклиническому гипотиреозу Европейской тиреоидной ассоциации 2013 года /

В.В. Фадеев // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2013. – Т. 9, № 4. – С. 10-14.

100. Факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний у больных первичным гипотиреозом в зависимости от степени тиреоидной недостаточности / А.В. Николаев, Л.Т. Пименов, М.В. Дударев, А.В. Мельников // Практическая медицина. – 2017. – Т. 2, № 1 (102). – С. 84-88.

101. Фролов, Б.А. Физиология и патология нейроэндокринной регуляции / Б.А. Фролов. – М.: Медицина, 2006. – 320 с.

102. Хамаева, Н.А. Влияние «Тиреотона» на энергетические процессы в головном мозге белых крыс при экспериментальном гипотиреозе: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.06 / Хамаева Надежда Антоновна. - Улан-Удэ, 2018. – 24 с.

103. Шестакова, Т.П. Субклинический гипотиреоз – современный взгляд на проблему / Т.П. Шестакова // Русский медицинский журнал «Медицинское обозрение». – 2016. – № 1. – С. 6-8.

104. Шпаков, А.О. Тиреоидная система в норме и при сахарном диабете 1-го и 2-го типов / А.О. Шпаков. – СПб.: Изд-во Политехнического университета, 2016. – 222 с.

105. Экспериментальная посттиреоидэктомическая жировая болезнь печени у крыс / Г.С. Джулай, С.В. Щелоченков, М.Б. Петрова, А.А. Бибикова // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2016. – Т. 126, № 2. – С. 35-39.

106. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / И.А. Волчегорский, И.И. Долгушин, О.Л. Колесников, В.Э. Цейликман. – Челябинск, изд-во ЧГПУ, 2000. – 152 с.

107. Экспрессия генов FGF-2 и TIMP1 в мозге взрослых крыс после введения интерлейкина-1 β в раннем постнатальном онтогенезе / А.Н. Трофимов, О.Е. Зубарева, А.П. Шварц [и др.] // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2014. – Т. 100, № 9. – С. 1025-1037.

108. Эффективность программ профилактики йодного дефицита в Тюменской области / О.Б. Макарова, Л.А. Суплотова, Г.В. Шаруха, Л.С. Ковальжина // Медицинская наука и образование Урала. – 2017. – Т. 18, № 4 (92). – С. 159-161.
109. Эффективность реализации программы «Школьное молоко» в профилактике йодной недостаточности / А.Л. Даниленко, Ф.Х. Камилов, А.Н. Мамцев [и др.] // Вопросы питания. – 2015. – Т. 84, № 2. – С. 53-58.
110. Яглова, Н.В. Проблемы экспериментального моделирования гипо- и гипертиреоидных состояний / Н.В. Яглова, В.В. Яглов, Т.Т. Березов // Вестник Российской АМН. – 2009. – № 3. – С. 30-35.
111. Якутхонов, О.Х. Особенности тиреоидного статуса новорожденных, родившихся от матерей с ЙДЗ / О.Х. Якутхонов // Биомедицина и социология. – 2018. – Т. 3, № 1. – С. 47-49.
112. Паньків І.В. Фактори ризику розвитку остеопорозу при первинному гіпотиреозі / І.В. Паньків // Травма. – 2015. – Т. 16, № 4. – С. 90-95.
113. Родинський, О.Г. Роль тиреоїдних гормонів у регуляції жирнокислотного спектру ліпідів мозку: онтогенетичний аспект / О.Г. Родинський, О.Ю. Кондратьєва, О.М. Демченко // Медичні перспективи. – 2016. – Т. 21, № 2. – С. 4-8.
114. A dual role for interleukin-1 in hippocampal-dependent memory processes / I. Goshen, T. Kreisel, H. Ounallah-Saad [et al.] // Psychoneuroendocrinology. – 2007. – Vol. 32, № 8-10. P. 1106-1115.
115. Agha-Hosseini, F. Evaluation of Xerostomia and salivary flow rate in Hashimoto's Thyroiditis. / F. Agha-Hosseini, N. Shirzad, M.S. Moosavi // Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal. – 2016. – Vol. 21, № 1. – P. e1-5.
116. An update on the cognitive impact of clinically-used hormone therapies in the female rat: Models, mazes and mechanisms / J.I. Acosta, R. Hiroi, B.W. Camp [et al.] // Brain Res. – 2013. – Vol. 13. – P. 18-39.

117. Association of antithyroglobulin antibody with iodine nutrition and thyroid dysfunction in Nepalese children / B. Tamang, S. Khatiwada, B. Gelal [et al.] // *Thyroid. Res.* – 2019. – № 12. – P. 6. doi: 10.1186/s13044-019-0067-z.
118. Bali, S. Iodine Deficiency and Toxicity Among School Children in Damoh District, Madhya Pradesh, India / S. Bali, A.R. Singh, P.K. Nayak // *Indian Pediatr.* – 2018. – Vol. 55, № 7. – P. 579-581.
119. Barbaro, D. Iodine and Myo-Inositol: A Novel Promising Combination for Iodine Deficiency. / D. Barbaro, B. Orrù, V. Unfer // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2019. – Vol. 10. – P. 457. doi: 10.3389/fendo.2019.00457.
120. Bassett, J.H.D. Thyroid hormone action: genomic and non-genomic effects / J.H.D. Bassett // *Endocrine Abstracts.* – 2011. – Vol. 25. – S6.1.
121. Bianco, A.C. Minireview: Cracking the Metabolic Code for Thyroid Hormone Signaling /A.C. Bianco // *Endocrinology.* – 2011. – Vol. 152, № 9. – P. 3306–3311. doi: 10.1210/en.2011-1104.
122. Biondi, B. Combination Treatment With T4 and T3: Toward Personalized Replacement Therapy in Hypothyroidism? / B. Biondi, L. Wartofsky // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – Vol. 97, № 7. – P. 2256-71. doi: 10.1210/jc.2011-3399.
123. Boelen, A. Association between serum interleukin-6 and serum 3,5,3'-triiodothyronine in nonthyroidal illness / A. Boelen, M.C. Platvoet-Ter Schiphorst, W.M. Wiersinga // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1993. – Vol. 77, № 6. – P. 1695-9.
124. Boelen, A. Soluble cytokine receptors and the low 3, 5, 3'-triiodothyronine syndrome in patients with nonthyroidal disease / A. Boelen, M.C. Platvoet-Ter Schiphorst, W.M. Wiersinga // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1995. – Vol. 80, № 3. – P. 971-976.
125. Burn, C.C. What is it like to be a rat? Rat sensory perception and its implications for experimental design and rat welfare / C.C. Burn // *App. Animal Behav. Sci.* – 2008. – Vol. 112, № 1–2. – P. 1-32. doi: 10.1016/j.applanim.2008.02.007.

126. Cardioprotective effects of thyroid hormones in a rat model of myocardial infarction are associated with oxidative stress reduction / A.L. De Castro, A.V. Tavares, C. Campos [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 391, № 1-2. – P. 22-9. doi: 10.1016/j.mce.2014.04.010.

127. Cardoso, L.F. The multiple effects of thyroid disorders on bone and mineral metabolism / L.F. Cardoso, L.M. Maciel, F.J. Paula // *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* – 2014. – Vol. 58, № 5. – P. 452-63.

128. Chen, Y. The effect of L-thyroxine substitution on oxidative stress in early-stage diabetic nephropathy patients with subclinical hypothyroidism: a randomized double-blind and placebo-controlled study / Y. Chen, G. Wu, M. Xu // *Int. Urol. Nephrol.* – 2018. – Vol. 50, № 1. – P. 97-103. doi: 10.1007/s11255-017-1756-y.

129. Cherella, C.E. Congenital hypothyroidism: insights into pathogenesis and treatment / C.E. Cherella, A.J. Wassner // *Int. J. Pediatr. Endocrinol.* – 2017. – 2017. – P. 11. doi: 10.1186/s13633-017-0051-0.

130. Choudhry, H. Iodine consumption and cognitive performance: Confirmation of adequate consumption / H. Choudhry, M. Nasrullah // *Food Sci. Nutr.* – 2018. – Vol. 6, № 6. – P. 1341-1351. doi: 10.1002/fsn3.694.

131. Cognitive profiles of patients with early detected and treated congenital hypothyroidism [Article in English, Spanish] / C.M.L. Pardo, M. Musso, A. Keselman [et al.] // *Arch. Argent. Pediatr.* – 2017. – Vol. 115, № 1. – P. 12-17. doi: 10.5546/aap.2017.eng.12.

132. Concurrent Hypoparathyroidism Is Associated With Impaired Physical Function and Quality of Life in Hypothyroidism / T. Sikjaer, E. Moser, L. Rolighed [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2016. – Vol. 31, № 7. – P. 1440-8. doi: 10.1002/jbmr.2812.

133. Congenital Hypothyroidism and Bone Remodeling Cycle / N.M. Karakaş, S. Tulgar Kınık, B. Özdemir [et al.] // *J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 9, № 2. – P. 106-110. doi: 10.4274/jcrpe.3532.

134. Davis, P.J. Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone / P.J. Davis, J.L. Leonard, F.B. Davis // *Front. Neuroendocrinol.* – 2008. – Vol. 29, № 2. – P. 211-218.
135. Dayan, C.M. Hypothyroidism and depression / C.M. Dayan, V. Panicker // *Eur. Thyroid. J.* – 2013. – Vol. 2, № 3. – P. 168-79. doi: 10.1159/000353777.
136. De Castro, A.L. Thyroid hormones improve cardiac function and decrease expression of pro-apoptotic proteins in the heart of rats 14 days after infarction / A.L. de Castro, R.O. Fernandes, V.D. Ortiz // *Apoptosis.* – 2016. – Vol. 21, № 2. – P. 184-94. doi: 10.1007/s10495-015-1204-3.
137. Decreased Serum Triiodothyronine Is Associated with Increased Concentrations of Tumor Necrosis Factor / A.D. Mooradian, R.L. Reed, D. Osterweil [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1990. – Vol. 71, № 5. – P. 1239–1242. doi.org/10.1210/jcem-71-5-1239.
138. Depression-like behavior in subclinical hypothyroidism rat induced by hemi-thyroid electrocauterization / J.F. Ge, Y.Y. Peng, C.C. Qi [et al.] // *Endocrine.* – 2014. – Vol. 45, № 3. – P. 430-8. doi: 10.1007/s12020-013-0001-4.
139. Developmental expression of thyroid hormone receptors in the rat testis / J.J. Buzzard, J.R. Morrison, O'Bryan [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2000. – Vol. 62. – P. 664-669.
140. Diminished Quality of Life and Increased Brain Functional Connectivity in Patients with Hypothyroidism After Total Thyroidectomy / Y.W. Shin, Y.M. Choi, H.S. Kim [et al.] // *Thyroid.* – 2016. – Vol. 26, № 5. – P. 641-9. doi: 10.1089/thy.2015.0452.
141. Dynamic Thiol/Disulphide Homeostasis in Children and Adolescents with Non-Autoimmune Subclinical Hypothyroidism / S.A. Uçaktürk, M. Alışık, Ç. Uğur [et al.] // *Med. Princ. Pract.* – 2018. – Vol. 27, № 1. – P. 44-48. doi: 10.1159/000487138.
142. Effect of Hypothyroidism and Hyperthyroidism on Tissue Thyroid Hormone Concentrations in Rat / R. Donzelli, D. Colligiani, C. Kusmic [et al.] // *Eur. Thyroid. J.* – 2016. – Vol. 5, № 1. – P. 27-34. doi: 10.1159/000443523.

143. Effects of acute and chronic physical exercise and stress on different types of memory in rats / P.B. Mello, F. Benetti, M. Cammarota, I. Izquierdo // *Ann. Acad. Bras. Cienc.* – 2008. – Vol. 80, № 2. – P. 301-9.

144. Epicardial fat thickness and oxidative stress parameters in patients with subclinical hypothyroidism / A. Aydogdu, E.Y. Karakas, E. Erkus [et al.] // *Arch. Med. Sci.* – 2017. – Vol. 13, № 2. – P. 383–389.

145. Excitotoxic lesions restricted to the dorsal CA1 field of the hippocampus impair spatial memory and extinction learning in C57BL/6 mice / G.M. Dillon, X. Qu, J.N. Marcus, J.C. Dodart // *Neurobiol. Learn. Mem.* – 2008. – Vol. 90, № 2. – P. 426-33. doi: 10.1016/j.nlm.2008.05.008.

146. Farebrother, J. Excess iodine intake: sources, assessment, and effects on thyroid function / J. Farebrother, M.B. Zimmermann, M. Andersson // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2019. – Vol. 1446, № 1. – P. 44-65. doi: 10.1111/nyas.14041.

147. Favorable effects of myo-inositol, selenomethionine or their combination on the hydrogen peroxide-induced oxidative stress of peripheral mononuclear cells from patients with Hashimoto's thyroiditis: preliminary in vitro studies / S. Benvenga, T. Vicchio, F. Di Bari [et al.] // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2017. – Vol. 21, Suppl. 2. – P. 89-101.

148. Gaffan, E.A. The role of exploration in win-shift and win-stay performance on a radial maze / E.A. Gaffan, J. Davies // *Learn. Motiv.* – 1981. – Vol. 12, № 3. – P. 282-299.

149. Girard, H. Normal development / H. Girard // *Handbook Clin. Neurol.* – 2016. – Vol. 136. – P. 1091-1119. DOI: 10.1016/B978-0-444-53486-6.00057-0 In book: *Neuroimaging Part II* (pp.1091-1119)

150. Hernández-Sandí, A. Delirium, Caused by Suspending Treatment of Hypothyroidism / A. Hernández-Sandí, D. Quirós-Baltodano, M. Oconitrillo-Chaves // *Ment. Illn.* – 2016. – Vol. 8, № 2. – P. 6787.

151. High androgen levels protect against hypothyroidism / J. Schmidt, E. Dahlgren, I. Bryman [et al.] // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2017. – Vol. 96, № 1. – P. 39-46. doi: 10.1111/aogs.13054.
152. Hippocampal adult neurogenesis: Its regulation and potential role in spatial learning and memory / C. Lieberwirth, Y. Pan, Y. Liu [et al.] // *Brain Res.* – 2016. – № 1644. – P. 127-40. doi: 10.1016/j.brainres.2016.05.015.
153. Hippocampal Functioning and Verbal Associative Memory in Adolescents with Congenital Hypothyroidism / S.M. Wheeler, V.C McLelland, E. Sheard [et al.] // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2015. – Vol. 6. – P. 163. doi: 10.3389/fendo.2015.00163.
154. Improved micronutrient status and health outcomes in low- and middle-income countries following large-scale fortification: evidence from a systematic review and meta-analysis / E.C. Keats, L.M. Neufeld, G.S. Garrett [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2019. – Vol. 109, № 6. – P. 1696-1708. doi: 10.1093/ajcn/nqz023.
155. Intermittent Hypoxic Condittoning Alleviates Post-Traumatic Stress Disorder-Induced Damage and Dysfunction of Rat Visceral Organs and Brain / E.B. Manurhina, V.E. Tseilikman, M.N. Karpenko [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 1. – P. 345. doi: 103390/ijms21010345.
156. Increased oxidative stress parameters in children with moderate iodine deficiency / H Kurku, A Gencer, O Pirgon [et al.] // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* – 2016. – Vol. 29, № 10. – P. 1159-1164. doi: 10.1515/jpem-2016-0077.
157. Influence of iodine deficiency on the dental status of the adult population residing in an area with natural iodine deficiency / S.V. Averyanov, F.K. Kamilov, T.S. Chemikosova [et al.] // *J. Crit. Rev.* – 2020. – Vol. 7, № 9. – P. 665-671.
158. Investigation of brain GABA+ in primary hypothyroidism using edited proton MR spectroscopy / B. Liu, H. Yang, F. Gao [et al.] // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* – 2017. – Vol. 86, № 2. – P. 256-262. doi: 10.1111/cen.13177.

159. Iodine fortification of foods and condiments, other than salt, for preventing iodine deficiency disorders / J.A.R. Santos, A. Christoforou, K. Trieu [et al.] // Cochrane Database Syst. Rev. – 2019. – Vol. 12, № 2. – CD010734. doi: 10.1002/14651858.CD010734.pub2.
160. Iodine Nutrition Status and Prevalence of Abnormal TSH Levels in Schoolchildren Aged 6-7 Years in the Autonomous Community of the Basque Country / J.J. Arrizabalaga, M. Jalón, M. Espada [et al.] // Endocrinol. Diabetes Nutr. – 2018. – Vol. 65, № 5. – P. 247-254. doi: 10.1016/j.endinu.2018.02.002.
161. Iodine Status in the Colombian Population and the Impact of Universal Salt Iodization: A Double-Edged Sword? / H. Vargas-Uricoechea, M.V. Pinzón-Fernández, B.E. Bastidas-Sánchez [et al.] // J. Nutr. Metab. – 2019. – 2019. – P. 6239243. doi: 10.1155/2019/6239243.
162. Iodine supplementation for women during the preconception, pregnancy and postpartum period / L.M. De-Regil, K.B. Harding, J.P. Peña-Rosas [et al.] // Cochrane Database Syst. Rev. – 2017. – Vol. 3. – CD011761. doi: 10.1002/14651858.CD011761.pub2.
163. Is thyroid autoimmunity itself associated with psychological well-being in euthyroid Hashimoto's thyroiditis? / M.M. Yalcin, A.E. Altinova, B. Cavnar [et al.] // Endocr. J. – 2017. – Vol. 64, № 4. – P. 425-429. doi: 10.1507/endocrj.EJ16-0418.
164. Jaruvongvanich, V. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Is Not Associated with Thyroid Hormone Levels and Hypothyroidism: A Systematic Review and Meta-Analysis / V. Jaruvongvanich, A. Sanguankeo, S. Upala // Eur. Thyroid J. – 2017. – Vol. 6, № 4. – P. 208-215. doi: 10.1159/000454920.
165. Jiewen, Z. Kinetics of Rebaudioside A Degradation in Buffer Solutions as Affected by UV Light Exposure / Z. Jiewen / A thesis submitted to the Graduate Faculty of Auburn University in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master of Science. – Auburn, Alabama, 2016. – 90 p.

166. Kinne, A. Primary and secondary thyroid hormone transporters / A. Kinne, R. Schüle, G. Krause // *Thyroid Res.* – 2011. – Vol. 4, Suppl. 1. – P. S7. doi: 10.1186/1756-6614-4-S1-S7.
167. Klein I. Thyroid Disease and the Heart / I. Klein, S. Danzi // *Curr. Probl. Cardiol.* – 2016. – Vol. 41, № 2. – P. 65-92. doi: 10.1016/j.cpcardiol.2015.04.002.
168. Krassas, G.E. Thyroid function and human reproductive health / G.E. Krassas, K. Poppe, D. Glinoer // *Endocr. Rev.* – 2010. – Vol. 31, № 5. – P. 702-55. doi: 10.1210/er.2009-0041.
169. Levothyroxine Replacement Improves Oxidative Status in Primary Hypothyroidism / L.F. Masullo, R.A. Magalhães, R.P.G. Lemes [et al.] // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2018. – Vol. 9. – P. 655. doi: 10.3389/fendo.2018.00655.
170. Maternal body burdens of PCDD/Fs and PBDEs are associated with maternal serum levels of thyroid hormones in early pregnancy: a cross-sectional study / S. Lignell, M. Aune, P.O. Darnerud [et al.] // *Environ. Health.* – 2016. – Vol. 15. – P. 55. doi: 10.1186/s12940-016-0139-7.
171. Maternal Mild Thyroid Hormone Insufficiency in Early Pregnancy and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Symptoms in Children / T. Modesto, T.H. Tiemeier, R.P. Peeters [et al.] // *JAMA Pediatr.* – 2015. – Vol. 169, № 9. – P. 838-845. doi:10.1001/jamapediatrics.2015.0498.
172. Maternal Thyroid Function During Pregnancy and the Child's Linguistic and Sensory Development in the Northern Finland Birth Cohort 1986 / F. Pääkkilä, T. Männistö, A.L. Hartikainen, E. Suvanto // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2018. – Vol. 9. – P. 127. doi: 10.3389/fendo.2018.00127.
173. Maternal thyroid hormone is required for parvalbumin neurone development in the anterior hypothalamic area / L. Harder, S. Dudazy-Gralla, H. Müller-Fielitz [et al.] // *J. Neuroendocrinol.* – 2018. – Vol. 30, № 3. – P. e12573. doi: 10.1111/jne.12573.

174. Micronutrients, iodine status and concentrations of thyroid hormones: a systematic review / S.M. O'Kane, M.S. Mulhern, L.K. Pourshahidi [et al.] // *Nutr. Rev.* – 2018. – Vol. 76, № 6. – P. 418-431. doi: 10.1093/nutrit/nuy008.

175. Ming, G.L. Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions / G.L. Ming, H. Song // *Neuron*. – 2011. – Vol. 70, № 4. – P. 687-702. doi: 10.1016/j.neuron.2011.05.001.

176. Molecular Iodine Has Extrathyroidal Effects as an Antioxidant, Differentiator, and Immunomodulator / C. Aceves, I. Mendieta, B. Anguiano, E. Delgado-González // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 3. – P. 1228. doi: 10.3390/ijms22031228.

177. Neonatal screening: 9% of children with filter paper thyroid-stimulating hormone levels between 5 and 10 μ IU/mL have congenital hypothyroidism / F.C. Christensen-Adad, C.T. Mendes-dos-Santos, M.M.F. Goto [et al.] // *J. Pediatr.* – 2017. – Vol. 93, № 6. – P. 649-654. doi: 10.1016/j.jpdp.2017.08.001.

178. No Longer Prevalent and Urinary Iodine Excretion Is above Normal among School Going Children in Jabalpur, India: Is This Major Health Problem Already Solved? / S. Bali, A. Tomar, P.K. Nayak, R. Belwal // *J. Trop. Pediatr.* – 2019. – Vol. 65, № 5. – P. 457-462. doi: 10.1093/tropej/fmy076.

179. Noda, M. Thyroid Hormone in the CNS: Contribution of Neuron-Glia Interaction / M. Noda // *Vitam. Horm.* – 2018. – Vol. 106. – P. 313-331. doi: 10.1016/bs.vh.2017.05.005.

180. Olton, D.S. Food-searching strategies in young rats: Win-shift predominates over win-stay / D.S. Olton, P. Schlosberg // *J. Comp. Physiol. Psychol.* – 1978. – Vol. 92. – P. 609–618.

181. On WHO Guidelines “Fortification of food grade salt with iodine for the prevention and control of iodine deficiency disorders”. – Geneva, WHO, 2014. – P. 1-45.

182. Pantos, C. The emerging role of TR α 1 in cardiac repair: potential therapeutic implications / C. Pantos, I. Mourouzis // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 481482. doi: 10.1155/2014/481482.

183. Penley, S.C. Use of an Eight-arm Radial Water Maze to Assess Working and Reference Memory Following Neonatal / S.C. Penley, C.M. Gaudet, S.W. Threlkeld // *Brain Injury J. Vis. Exp.* – 2013. – Vol. 82. – P. e50940. doi:10.3791/50940.

184. Potential harmful correlation between homocysteine and low-density lipoprotein cholesterol in patients with hypothyroidism / X. Dong, Z. Yao, Y. Hu [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2016. – Vol. 95, № 29. – P. e4291. doi: 10.1097/MD.0000000000004291.

185. Prevalence of goiter among children in Ethiopia and associated factors: a systematic review and meta-analysis / G. Dessie, D. Amare, A.B. Dagnew [et al.] // *BMC Public Health*. – 2019. – Vol. 19, № 1. – P. 1191. doi: 10.1186/s12889-019-7505-7.

186. Relationship between thyroid-stimulating hormone levels and risk of depression among the general population with normal free T4 levels / E.Y. Kim, S.H. Kim, S.J. Rhee [et al.] // *Psychoneuroendocrinology*. – 2015. – Vol. 58. – P. 114-9. doi: 10.1016/j.psyneuen.2015.04.016.

187. Roy, S. The Effects of Altered Membrane Cholesterol Levels on Sodium Pump Activity in Subclinical Hypothyroidism / S. Roy, A. Dasgupta // *Endocrinol. Metab. (Seoul)*. – 2017. – Vol. 32, № 1. – P. 129-139. doi: 10.3803/EnM.2017.32.1.129.

188. Samuels, M.H. Psychiatric and cognitive manifestations of hypothyroidism / M.H. Samuels // *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* – 2014. – Vol. 21, № 5. – P. 377-83. doi: 10.1097/MED.0000000000000089.

189. Serum fibroblast growth factor 19 is decreased in patients with overt hypothyroidism and subclinical hypothyroidism / Y. Lai, H. Wang, X. Xia [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2016. – Vol. 95, № 39. – P. e5001. doi: 10.1097/MD.0000000000005001.

190. Sing, J. Hypothyroidism and psychiatric syndromes / J. Sing, C.Y. Subarshan, S. Begum // *Indian J. Psychiatry*. – 2018. – Vol. 60, № 5. – P. 143.
191. Skeaff, S.A. Iodine deficiency in pregnancy: the effect on neurodevelopment in the child / S.A. Skeaff // *Nutrients*. – 2011. – Vol. 3, № 2. – P. 265-73. doi: 10.3390/nu3020265.
192. Spatial guidance of choice behavior in the radial-arm maze / M.F. Brown, P.A. Rish, J.E. VonCulin, J.A. Edberg // *J. Exp. Psychol.* – 1993. – Vol. 19, № 3. – P. 195–214. doi: 10.1037/0097-7403.19.3.195.
193. Stamatouli, A. Hypothyroidism: Cardiovascular Endpoints of Thyroid Hormone Replacemen / A. Stamatouli, P. Bedoya, S. Yavuz // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2020. – Vol. 10. P. 888. doi: 10.3389/fendo.2019.00888.
194. Stohn, J.P. Decreased anxiety- and depression-like behaviors and hyperactivity in a type 3 deiodinase-deficient mouse showing brain thyrotoxicosis and peripheral hypothyroidism / J.P. Stohn, M.E. Martinez, A. Hernandez // *Psychoneuroendocrinology*. – 2016. – Vol. 74. – P. 46-56. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.08.021.
195. Study of prevalence of depression in patients with hypothyroidism / S. Reshma, K. Sarada, S.R. Rani [et al.] // *Indian J. Psychiatry*. – 2017. – Vol. 59, № 6-2. – P. S214-S214.
196. Subclinical hypothyroidism (SCH) is not associated with metabolic derangement, cognitive impairment, depression or poor quality of life (QoL) in elderly subjects / Y.J. Park, E.J. Lee, Y.J. Lee [et al.] // *Arch. Gerontol. Geriatr.* – 2010. – Vol. 50, № 3. – P. e68-73. doi: 10.1016/j.archger.2009.05.015.
197. Subclinical Hypothyroidism after ¹³¹I-Treatment of Graves' Disease: A Risk Factor for Depression? / J. Yu, A.J. Tian, X. Yuan, X.X. Cheng // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11, № 5. – P. e0154846. doi: 10.1371/journal.pone.0154846.
198. Subclinical hypothyroidism is associated with atherogenic lipid profile in postmenopausal women / A. Godinjak, Z. Velija-Asimi, A. Burekovic [et al.] // *Turkish*

J. Endocrinol. Metab. – 2017. – Vol. 21, № 2. – P. 37-41. doi: 10.25179/tjem.2017-56539.

199. Subclinical hypothyroidism, lipid metabolism and cardiovascular disease / A.P. Delitala, G. Fanciulli, M. Maioli, G. Delitala // Eur. J. Intern. Med. – 2017. – Vol. 38. – P. 17-24. doi: 10.1016/j.ejim.2016.12.015.

200. Subclinical hypothyroidism: to treat or not to treat, that is the question! A systematic review with meta-analysis on lipid profile / I.M. Abreu, E. Lau, B. de Sousa Pinto, D. Carvalho // Endocr. Connect. – 2017. – Vol. 6, №3. – P. 188-199. doi: 10.1530/EC-17-0028.

201. Suh, S. Subclinical Hypothyroidism and Cardiovascular Disease / S. Suh, D.K. Kim // Endocrinol. Metab. (Seoul). – 2015. – Vol. 30, № 3. – P. 246-51. doi: 10.3803/EnM.2015.30.3.246.

202. The association between thyroid hormone balance and thyroid volume in patients with Hashimoto thyroiditis / M. Kawasaki, M. Ito, H. Danno [et al.] // Endocr. J. – 2019. – Vol. 66, № 9. – P. 763-768. doi: 10.1507/endocrj.EJ19-0063.

203. The bidirectional effects of hypothyroidism and hyperthyroidism on anxiety- and depression-like behaviors in rats / D. Yu, H. Zhou, Y. Yang [et al.] // Horm. Behav. – 2015. – Vol. 69. – P. 106-15. doi: 10.1016/j.yhbeh.2015.01.003.

204. The deiodinases and the control of intracellular thyroid hormone signaling during cellular differentiation / M. Dentice, A. Marsili, A. Zavacki [et al.] // Biochem. Biophys. Acta. – 2013. – Vol. 1830, № 7. – P. 3937-45. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.05.007.

205. The impact of levothyroxine sodium treatment on oxidative stress in Hashimoto's thyroiditis / I. Ates, M. Altay, F.M. Yilmaz [et al.] // Eur. J. Endocrinol. – 2016. – Vol. 174, № 6. – P. 727-34. doi: 10.1530/EJE-15-1061.

206. The impact of subclinical hypothyroidism on anthropometric characteristics, lipid, glucose and hormonal profile of PCOS patients: a systematic review and meta-analysis / V. Pergialiotis, P. Konstantopoulos, A. Prodromidou [et al.]

// Eur. J. Endocrinol. – 2017. – Vol. 176, № 3. – P. R159-R166. doi: 10.1530/EJE-16-0611.

207. The impact of thyroid hormone dysfunction on ischemic heart disease / M. von Hafe, J.S. Neves, C. Vale [et al.] // Endocr. Connect. – 2019. – Vol. 8, № 5. – P. R76-R90. doi: 10.1530/EC-19-0096.

208. The role of ginsenoside Rb1, a potential natural glutathione reductase agonist, in preventing oxidative stress-induced apoptosis of H9C2 cells / H.J. Fan, Z.B. Tan, Y.T. Wu [et al.] // J. Ginseng Res. – 2020. – Vol. 44, № 2. – P. 258-266. doi: 10.1016/j.jgr.2018.12.004.

209. Thymoquinone Upregulates Catalase Gene Expression and Preserves the Structure of the Renal Cortex of Propylthiouracil-Induced Hypothyroid Rats / N. Ayuob, M.J. Balgoon, A.A. El-Mansy [et al.] // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2020. – 2020. – P. 3295831. doi: 10.1155/2020/3295831.

210. Thyroid function within the normal range and the risk of depression: a population-based cohort study / M. Medici, N. Direk, W.E. Visser [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2014. – Vol. 99, № 4. – P. 1213-9. doi: 10.1210/jc.2013-3589. Epub 2014 Feb 24.

211. Thyroid hormones and cardiovascular disease / A. Jabbar, A. Pingitore, S.H. Pearce [et al.] // Nat. Rev. Cardiol. – 2017. – Vol. 14, №1. – P. 39-55. doi: 10.1038/nrcardio.2016.174.

212. Thyroid Hormones and Cardiovascular Function and Diseases / S. Razvi, A. Jabbar, A. Pingitore [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2018. – Vol. 71, № 16. – P. 1781-1796. doi: 10.1016/j.jacc.2018.02.045.

213. Thyroid Hormones Association With Depression Severity and Clinical Outcome in Patients With Major Depressive Disorder / D. Berent, K. Zboralski, A. Orzechowska, P. Gałeczki // Mol. Biol. Rep. – 2014. – Vol. 41, № 4. – P. 2419-25. doi: 10.1007/s11033-014-3097-6.

214. Transient Hypothyroidism During Lactation Arrests Myelination in the Anterior Commissure of Rats. A Magnetic Resonance Image and Electron Microscope Study / F.S. Lucia., J. Pacheco-Torres, S. González-Granero [et al.] // *Front. Neuroanatol.* – 2018. – Vol. 12. – P. 31. doi: 10.3389/fnana.2018.00031.

215. Transient hypothyroidism favors oligodendrocyte generation providing functional remyelination in the adult mouse brain / S. Remaud, F.C. Ortiz, M. Perret-Jeanneret [et al.] // *Elife.* – 2017. – № 6. – P. e29996. doi: 10.7554/eLife.29996.

216. Tsatsoulis, A. The Role of Insulin Resistance/Hyperinsulinism on the Rising Trend of Thyroid and Adrenal Nodular Disease in the Current Environment / A. Tsatsoulis // *J. Clin. Med.* – 2018. – Vol. 7, № 3. – P. E37. doi: 10.3390/jcm7030037.

217. Uraimova, A.A. Sanitary audit of iodine content in the diet and its impact on the health of school students / A.A. Uraimova // *Alatoo Acad. Stud.* – 2019. – № 4 (19). – P. 243-249.

218. Vella, K.R. The actions of thyroid hormone signaling in the nucleus / K.R. Vella, A.N. Hollenberg // *Mol. Cell Endocrinol.* – 2017. – Vol. 458. – P. 127-135. doi: 10.1016/j.mce.2017.03.001.

219. Vitamin C improves liver and renal functions in hypothyroid rats by reducing tissue oxidative injury / M. Esmaeilizadeh, M. Hosseini, F. Beheshti [et al.] // *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* – 2020. – Vol. 90, № 1-2. – P. 84-94. doi: 10.1024/0300-9831/a000495.

220. Wassie, M.M. Agreement between markers of population iodine status in classifying iodine status of populations: a systematic review / M.M. Wassie, P. Middleton, S.J. Zhou // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2019. – Vol. 110, № 4. – P. 949-958. doi: 10.1093/ajcn/nqz118.

221. Where have I been? Where should I go? Spatial working memory on a radial arm maze in a rat model of depression / S.H. Richter, B. Zeuch, K. Lankisch [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, № 4. – P. e62458.

222. WHO. Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination: a guide for programme managers. – 3rd ed. – Geneva, 2007.
223. Wiersinga, W.M. Paradigm Shifts in Thyroid Hormone Replacement Therapies for Hypothyroidism / W.M. Wiersinga // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 10, № 3. – P.164-74. doi: 10.1038/nrendo.2013.258.
224. Wirth, E.K. Transport of thyroid hormone in brain / E.K. Wirth, U. Schweizer, J. Köhrle // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2014. – № 5. – P. 98. doi: 10.3389/fendo.2014.00098.
225. Xiong, Y. Animal models of traumatic brain injury / Y. Xiong, A. Mahmood, M. Chopp // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2013. – Vol. 14, № 2. – P. 128-42. doi: 10.1038/nrn3407.
226. Yadav, K. National Iodine Deficiency Disorders Control Programme: Current status & future strategy / K. Yadav, C.S. Pandav // *Indian J. Med. Res.* – 2018. – Vol. 148, № 5. – P. 503-510. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1717_18.
227. Zhang, S.S. Expression of multiple thyroid hormone receptor mRNAs in human oocytes, cumulus cells, and granulosa cells / S.S. Zhang, A.J. Carrillo, D.S. Darling // *Mol. Hum. Reprod.* – 1997. – Vol. 3, № 7. – P. 555-62.
228. Zimmermann, M.B. The effects of iodine deficiency in pregnancy and infancy / M.B. Zimmermann // *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* – 2012. – Vol. 26, № 1. – P. 108-17. doi: 10.1111/j.1365-3016.2012.01275.x.
229. Zubair, S.M. Correlation between Thyrotropin and Fasting Lipid Profile in Patients of Sub Clinical Hypothyroidism / S.M. Zubair, F. Ijaz, R.Kh. Aftab // *Annals.* – 2017. – Vol. 23, № 2. – P. 137-144.