

Медицинский журнал. – 2012. – № 1. – С. 66–70

И.В. Романовский¹, О.Н. Ринейская¹, С.В. Глинник¹, Д.А. Шиманская²

**ДЕЙСТВИЕ КОМБИНАЦИИ ТИРОКСИНА С СЕЛЕНОСОДЕРЖАЩИМИ
ОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ НА ГИПОТИРЕОИДНЫЙ
И ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**

УО «Белорусский государственный медицинский университет», кафедра биоорганической химии¹, ООО «АнтесМед»²

Исследовано антиоксидантное и корригирующее гипотиреоидный статус действие комбинации L-тироксина с селеносодержащими органическими соединениями. Обнаружено, что использование для коррекции экспериментального гипотиреоза L-тироксина (1,5 мкг/кг) в комплексе как с диацетофенонилселенидом (50 мкг/кг), так и аминокислотами (селенометионин – 30 мкг/кг, метионин – 25 мкг/кг, серин – 16 мкг/кг) целесообразно и эффективно.

Ключевые слова: *экспериментальный гипотиреоз, комплекс аминокислот, прооксидантно-антиоксидантный статус, тироксин, трийодтиронин.*

I.V. Romanovsky, O.N. Ryneiskaya, S.V. Hlinnik, D.A. Shymanskaya

**THE EFFECTS OF COMBINATION OF THYROXINE WITH SE-ORGANIC DRUGS
TO THE HYPOTHYROID AND ANTIOXIDANT STATUS
OF EXPERIMENTAL ANIMALS**

Belorussian State Medical University, bioorganic chemistry department

It was investigate the effects of combination of L-thyroxine with Se-organic drugs to the antioxidant and hypothyroid status. It was observed that using the complex of L-thyroxine with diacetophenonylselenide (50 mcg/kg) or amino acid complex (Se-methionine – 30 mcg/kg,

methionine – 25 mcg/kg, serine – 16 mcg/kg) for correction of experimental hypothyroidism is effective.

Key words: *experimental hypothyroidism, amino acids complex, antioxidant state, thyroxine, triiodothyroxine.*

Важное место среди эндокринной патологии в Республике Беларусь занимают заболевания щитовидной железы и, в первую очередь, гипотиреоз. Распространенность этой патологии на территории Беларуси обусловлена особенностями микроэлементного состава ее почв и возделываемых сельскохозяйственных культур, в частности, дефицитом в них йода и селена, необходимых для биосинтеза и метаболизма тиреоидных гормонов, а также функционирования систем антиоксидантной защиты. Инкорпорация радиоактивных изотопов на радиационно-загрязненных территориях республики после аварии на ЧАЭС стала мощным дополнительным фактором, усугубляющим тиреоидную патологию [1, 6]. Поскольку недостаточность йода, селена и других микроэлементов в биосфере (воде, почве, воздухе, продуктах питания) является мало изменяющимся фактором, то медико-социальные проблемы, порождаемые эндемическими заболеваниями щитовидной железы, и вытекающие из этого задачи по охране здоровья населения носят непреходящий характер. Это требует проведения не только профилактических мероприятий по восполнению дефицита микроэлементов, но и глубокого изучения метаболических изменений, приводящих к формированию предпатологии, снижению адаптивных возможностей организма, а затем и существенному нарушению жизнедеятельности. Очевидность такого подхода делают актуальной проблему разработки адекватных экспериментальных моделей гипотиреоза, позволяющих в эксперименте не только изучать метаболические изменения, но и осуществлять скрининг потенциальных модуляторов тиреоидного статуса, в том числе и селеносодержащих.

Цель исследования – изучение антиоксидантного и корригирующего гипотиреодный статус действие комбинации L-тироксина с селеносодержащими органическими соединениями.

Материал и методы

Ранее нами была разработана и охарактеризована экспериментальная модель пропилтиоурацилового гипотиреоза, произведена ее оценка по динамике уровня тиреодных гормонов и изменению антиоксидантного статусу крови и тканей экспериментальных животных. Экспериментальный гипотиреоз (ЭГ) вызывали путем приема крысами-самцами 0,02% водного раствора пропилтиоурацила (ПТУ) (Sigma, Германия) из поилок при свободном доступе к ним в течение 21 дня. Согласно расчетным данным, каждая особь получала 0,74 мг ПТУ/100 г массы тела в сутки. Животных выводили из эксперимента под тиопенталовым наркозом путем забора крови из сонной артерии. Кровь и органы (печень, мозг, щитовидная железа) для исследования брали на 4-е, 7-е, 14-е и 21-е сутки. В сыворотке крови определяли содержание тироксина (T_4), трийодтиронина (T_3), тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ) методом РИА, при помощи тест-систем ИБОХ (Беларусь). Прооксидантно-антиоксидантный статус организма крыс исследовали при помощи стандартных биохимических методик. Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью пакетов программ «Microsoft Excel 2000» и «Statistica 6.0». Для оценки достоверности различий между группами использовали t-критерий Стьюдента и тест Манна-Уитни. Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На 7-е сутки у экспериментальных животных наблюдалось развитие выраженного гипотиреоза, который характеризовался вялостью, гиподинамией, выпадением шерсти, сонливостью, увеличением массы тела. В таблице 1 представлено изменение весовых коэффициентов щитовидной железы (отношение массы щитовидной железы к массе тела

крыс) в динамике эксперимента. Как видно из представленных данных этот показатель увеличивался, начиная с 7 суток, и достигал максимального значения по сравнению с контролем (в 3,6 раза) к 21 дню (табл. 1).

Таблица 1. Весовые коэффициенты щитовидной железы крыс при ЭГ

Группы животных	Весовой коэффициент, мг/100г
Контроль	5,38±0,49
Гипотиреоз	
7-е сутки	10,0±0,38*
14-е сутки	12,4±1,57*
21-е сутки	19,4±2,80*

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с группой «контроль».

Развитие гипотиреоза подтверждалось и увеличивающимся по мере эксперимента снижением уровней гормонов щитовидной железы (T_3 и T_4) в сыворотке крови и одновременным нарастанием в ней уровня ТТГ (табл. 2).

Таблица 2. Динамика изменения содержания T_3 , T_4 и ТТГ в сыворотке крови крыс при ЭГ

Группы животных	Уровень гормонов					
	T_4		T_3		ТТГ	
	нМоль/л	%	нМоль/л	%	нМоль/л	%
Контроль	1,23±0,07	100	29,2±3,16	100	0,96±0,12	100
Гипотиреоз						
4-е сутки	0,97±0,08*	79	23,2±2,82	80	1,07±0,06	112
p	0,03		0,17		0,4	
7-е сутки	0,46±0,05*	38	2,98±1,09*	10	0,85±0,11	89
p	$2 \cdot 10^{-8}$		$7 \cdot 10^{-8}$		0,5	
14-е сутки	0,54±0,16*	44	2,1±1,28*	7	1,54±0,19*	161
p	0,03		0,001		0,03	
21-е сутки	0,11±0,03*	9	0*	0	2,18±0,35*	222
p	0,002		$5 \cdot 10^{-6}$		0,007	

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с группой «контроль».

Так, на 4-е сутки уровень T_4 составил 79%, T_3 – 80%, ТТГ – 112% от контроля, принятого за 100%. На 7-е сутки уровень T_4 равнялся 38%, T_3 – 10%, ТТГ – 89%. К 14-м суткам уровень T_4 составлял 44%, T_3 – 7%, ТТГ – 161%. К 21-му T_3 практически не определялся, уровень T_4 составлял 9%, а уровень ТТГ достиг максимального значения –

222% от контроля (табл. 2). Развитие ЭГ под влиянием хронического воздействия ПТУ, обусловлено способностью производных тиомочевины, к которым относится и ПТУ, ингибировать продукцию тиреоидных гормонов и тем самым вызывать гиперпластический ответ щитовидной железы на повышенную секрецию ТТГ [5]. Повышение же уровня ТТГ вызывалось по принципу обратной связи снижением уровня тиреоидных гормонов в крови [4]. Одновременно наблюдалось и уменьшение индекса компенсации T_4/T_3 , характерное для развития гипотиреоза. Так, в контроле он составил 24,3, а в эксперименте на 7 сутки был 7,42, к 14 дню равнялся 6,19, и к 21 суткам уменьшился почти в 12 раз (табл. 2).

Далее в нашем исследовании мы решили проверить гипотезу, заключающуюся в том, что использование для коррекции ЭГ у животных L-тироксина в комплексе с органическим селеносодержащим препаратами диацетофенонилселенид (ДАФС-25) или «Селплекс» с аминокислотами (селенометионин, метионин, серин), позволит более полно устранить дисбаланс гормонов щитовидной железы, и будет способствовать повышению резерва антиоксидантных систем организма. Данная гипотеза сформировалась на полученных в последние годы данных о роли селена в функционировании дейодиназ и участии в окислительно-восстановительных процессах. Серин и метионин были внесены в этот комплекс как аминокислоты, способствующие, включению селена в состав селеноспецифических протеинов, к которым относятся дейодиназы и глутатионпероксидазы. [2, 3, 4, 5]. Поэтому целью следующего этапа исследований явилась сравнительная оценка эффективности схем коррекции ЭГ с помощью L-тироксина (LT_4) и селеносодержащего органического препарата диацетофенонилселенид, 1,5-дифенил-3-селенапентадион-1,5 (ДАФС-25), действующего начала лекарственного средства «Селенобел» (Беларусь); и LT_4 и комплекса аминокислот (АМК) (селенометионин, метионин, серин), в составе препарата «Селплекс» (Alltech, Ирландия) по гормональному статусу и состоянию антиоксидантной системы (АОС). Коррекцию ЭГ проводили эндогастральным введением в течение 14 суток

следующих препаратов: 1 гр. – LТ₄ в дозе 1,5 мкг/кг; 2 гр. – LТ₄ в дозе 1,5 мкг/кг + ДАФС-25 (50 мкг/кг); 3 гр. – LТ₄ в дозе 1,5 мкг/кг + комплекс АМК (селенометионин – 30 мкг/кг, метионин – 25 мкг/кг, серин – 16 мкг/кг).

ДАФС-25 оказывал существенное влияние на состояние АОС организма животных при применении его совместно с L-тироксидом (табл. 3).

Таблица 3. Изменение показателей ПОЛ и антиоксидантных систем организма крыс с ЭГ при введении L-тироксина, Se-содержащего соединения и их комбинации

Показатель	Контроль I (интактные)	Гипотиреоз		Гипотиреоз (ПТУ 7 суток) + 7 суток L-тироксин			
		ПТУ, 7 суток	ПТУ, 14 суток	Контроль II (H ₂ O)	L- тироксин	Se-содерж.	T ₄ + Se-содерж.
МДА мкмоль/мг Нв	1,57 ± 0,19	1,7 ± 0,16	1,36 ± 0,05	1,1 ± 0,03	1,26 ± 0,08	0,98 ± 0,04	1,14 ± 0,17
СОД ед. /мг Нв	14,1 ± 0,48	14,3 ± 1,45	15,0 ± 1,09	12,4 ± 0,5	11,52 ± 0,6	11,25 ± 0,9*	10,32 ± 1,1
Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ /мг Нв/мин	38,82 ± 3,36	35,33 ± 3,40	33,8 ± 3,16	31,12 ± 1,1	33,76 ± 1,5	31,2 ± 1,5*	37,01 ± 2,3**
Глутатион крови ммоль/л	0,64 ± 0,14	0,72 ± 0,11	1,24 ± 0,16*	0,82 ± 0,12	0,75 ± 0,07	2,03 ± 0,36*	0,91 ± 0,13
Глутатион печени ммоль/100мг г тк.	1,79 ± 0,31	1,05 ± 0,41	1,09 ± 0,30*	1,07 ± 0,24	1,02 ± 0,2	1,68 ± 0,52**	1,97 ± 0,29**
ГП крови мкмоль/мг Нв/мин	209,9 ± 33,9	334,9 ± 68,27*	234,6 ± 80,19	169,2 ± 4,8	126,2 ± 3,9**	136,1 ± 5,9***	102,29 ± 15,0**
ГП печени мкмоль/мг белка/мин	1,94 ± 0,104	1,81 ± 0,23	1,62 ± 0,19	1,16 ± 0,03	1,33 ± 0,09	1,56 ± 0,08	1,41 ± 0,12**
ГР крови ммоль/л/час	296,8 ± 50,1	198,2 ± 54,8*	185,5 ± 37,1*	230,8 ± 44,5	319,7 ± 61,04**	238,5 ± 63,1***	286,03 ± 34,7**

Примечание:

* – p<0,05 по сравнению с контролем I (гр.1);

** – p<0,05 по сравнению с контролем II (гр.4);

*** – p<0,05 по сравнению с группой 3.

Так, наблюдалось повышение уровня восстановленного глутатиона и увеличение активности каталазы и ГР в крови крыс (табл. 3).

Содержание МДА в мозге крыс с ЭГ при введении им L-тироксина в дозе 1,5 мкг/кг составляло 158% по сравнению со значением аналогичного показателя в группе №4 и превышало уровень у контрольных животных на 15% (табл. 4). Указанные изменения не сопровождались адекватной активацией ферментов антиоксидантной защиты мозга крыс. При использовании для коррекции ЭГ комплекса АМК вместе с L-T₄ как в дозе 1,5 мкг/кг, так и в дозе 1,0 мкг/кг также наблюдалось увеличение содержания МДА в мозге по сравнению с уровнем данного показателя у гипотиреоидных животных (группа №4), однако, оно находилось в пределах значений у контрольных животных (табл. 4).

Таблица 4. Состояние процессов ПОЛ и активность ферментов антиоксидантной защиты мозга крыс с ЭГ в зависимости от схемы коррекции

Группа животных	Показатель					
	ДК, мМоль/г ткани	МДА, мкМоль/г ткани	СОД, ед./мг белка	КАТ, мкМоль H ₂ O ₂ /мг белка·мин	ГР, мкМоль НАДФН·Н ⁺ /мг белка·ч	ГП, мкМоль восст. ГSH/белка·мин
1. ЭГ+T ₄ 1,5 мкг/кг	0,56: 0,54–0,57	0,82: 0,81–0,85 ***	3,42: 3,18–4,02	2,93: 1,46-3,10	37,76: 34,26–42,93 * **	7,63: 7,01–11,36
2. ЭГ+T ₄ 1,5 мкг/кг+АМК	0,58: 0,53–0,64	0,75: 0,72–0,78 **	3,11: 3,04–4,02	4,58: 4,37-7,26 * **	59,10: 55,90–67,90	11,70: 11,25–12,10 **
3. ЭГ+T ₄ 1,0 мкг/кг+АМК	0,66: 0,63–0,68	0,78: 0,75–0,83 **	2,42: 2,40–2,46 * **	2,41: 2,24–2,62	60,68: 58,11–63,29	9,40: 9,02–12,36
4. гипотиреоз	0,55: 0,47–0,65	0,52: 0,49–0,55	3,65: 3,40–3,68	2,68: 2,14–2,70	70,20: 62,90–71,10	9,30: 8,80–9,51
5. контроль	0,59: 0,50–0,67	0,71: 0,54–0,80	3,47: 2,90–4,17	2,78: 2,75–2,83	64,20: 63,10–74,10	11,27: 10,39–12,02

Примечание:

Данные представлены как медиана и 50% интерквартильный размах между 25-й и 75-й процентилями;

* – p<0,05 по сравнению с группой «контроль»;

** – p<0,05 по сравнению с группой «гипотиреоз».

Кроме того, в группе №2 отмечалось увеличение по сравнению с группой №4 активности каталазы на 71% и ГП – на 26% в мозге экспериментальных животных.

Применение для коррекции тиреоидной гиподисфункции у крыс комплекса АМК и L-T₄ в дозе 1,0 мкг/кг сопровождалось восстановлением активности всех исследованных ферментов антиоксидантной системы мозга крыс до уровней близких к значениям у контрольных животных (табл. 4).

В печени крыс с ЭГ, которые получали L-тироксин в дозе 1,5 мкг/кг уровни МДА и ДК составляли 129% и 79% соответственно от уровня данного показателя крыс группы №4 («гипотиреоз») (табл. 5).

Таблица 5. Состояние процессов ПОЛ и активность ферментов антиоксидантной защиты печени крыс с ЭГ в зависимости от схемы коррекции

Группа животных	Показатель					
	ДК, мМоль/г ткани	МДА, мкМоль/г ткани	СОД, ед./мг белка	КАТ, мкМоль Н ₂ O ₂ /мг белка·мин	ГР, мкМоль НАДФН·Н ⁺ /мг белка·ч	ГП, мкМоль восст. ГSH/белка·мин
1. ЭГ+T ₄ 1,5 мкг/кг	0,64: 0,63–0,64 ***	0,72: 0,69–0,73 **	49,70: 44,10–51,4 * **	545,10: 527,30– 611,10 **	44,95: 38,10–48,30 * **	10,04: 6,05–13,40
2. ЭГ+T ₄ 1,5 мкг/кг+АМК	0,84: 0,81–0,86 *	0,84: 0,79–0,90 **	29,50: 27,60– 31,20 *	345,35: 334,90– 411,10 *	24,60: 21,80–25,60 **	2,69: 1,24–6,43 **
3. ЭГ+T ₄ 1,0 мкг/кг+АМК	0,70: 0,69–0,73 ***	0,56: 0,54–0,68	37,40: 33,30– 43,70	425,30: 402,30– 453,80 ***	31,41: 28,50–31,70	7,34: 6,14–7,87
4. гипотиреоз	0,80: 0,74–0,86 *	0,56: 0,51–0,59 *	29,42: 24,00– 36,60	329,25: 262,30– 351,70 *	36,10: 31,90–37,10 *	10,03: 7,40–17,70
5. контроль	0,89: 0,87–0,99	0,79: 0,60–1,24	35,90: 33,30– 43,80	665,70: 594,00– 671,00	25,40: 25,10–29,20	10,82: 10,27–11,56

Примечание:

Данные представлены как медиана и 50% интерквартильный размах между 25-й и 75-й процентилями;

* – p<0,05 по сравнению с группой «контроль»;

** – p<0,05 по сравнению с группой «гипотиреоз».

Указанные изменения наблюдались на фоне повышения активности СОД на 69%, каталазы – на 65,6%, ГР – на 24,5%. При использовании для коррекции ЭГ комплекса АМК и

L-T₄ в дозе 1,5 мкг/кг отмечалось увеличение содержания МДА в печени на 50% по сравнению с уровнем его у крыс группы №4, однако, снижение дозы L-тироксина до 1,0 мкг/кг приводило к нормализации данного показателя (табл. 5). В группах животных №2 и №3 были выявлены однонаправленные изменения активности ферментов антиоксидантной защиты печени, а активность всех исследованных ферментов возрастала у животных 3-й группы по сравнению со второй.

Таким образом, использование для коррекции ЭГ LT₄ (1,5 мкг/кг) в комплексе как с ДАФС-25, так и АМК (селенометионин, метионин, серин) целесообразно и эффективно.

Выводы

Использование для коррекции экспериментального гипотиреоза у крыс L-тироксина (1,5 мкг/кг) в комплексе как с диацетофенонилселенидом (50 мкг/кг), так и аминокислотами (селенометионин – 30мкг/кг, метионин – 25мкг/кг, серин – 16мкг/кг) целесообразно и эффективно.

Литература

1. Герасимов Г.А. Влияние ионизирующей радиации на щитовидную железу / Г.А. Герасимов // Проблемы эндокринологии. – 1991. – Т. 37, № 4. – С. 64–67.
2. Дедов И.И. Эндокринология: учебник / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко, В.В. Фадеев. – М.: Медицина, 2000. – 632 с.
3. Микроэлемент селен: роль в процессах жизнедеятельности / И.В. Гмошинский [и др.] // Экология моря. – 2000. – № 54. – С. 5–19.
4. Фадеев В.В. Гипотиреоз: руководство для врачей / В.В. Фадеев, Мельниченко Г.А. – М.: РКИ Северо пресс, 2002. – 64 с.
5. Щитовидная железа. Фундаментальные аспекты / Минский медицинский институт, Медицинская школа Университета г. Нагасаки; редкол.: А.И. Кубарко [и др.]. – Минск – Нагасаки, 1998. – 368 с.

6. Эндемический зоб. Проблемы и решения / И.И. Дедов [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 1992. – Т. 38, № 3. – С. 6–15.