

РОЗВИТОК ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ПРИ РІЗНИХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МОДЕЛЯХ ГІПОТИРЕОЗУ В СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ**Розвиток оксидативного стресу при різних експериментальних моделях гіпотиреозу в статевонезрілих щурів****О. В. Денефіль, С. М. Чарнош**

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

Резюме. Однією серед поширених патологій у практиці лікаря-ендокринолога є гіпофункція щитоподібної залози. Причинами гіпотиреозу є аутоімунний тиреоїдит та аліментарний дефіцит йоду. Особливо небезпечним є гіпотиреоз у дітей. Для вивчення патології захворювання використовують експеримент. На сьогодні існує декілька моделей експериментального гіпотиреозу: оперативне видалення щитоподібної залози або введення тиреостатиків (похідних тіосечовини – пропілтіоурацил, метамазол, мерказоліл, блокаторів тиреопероксидази – тіамазол), per os протягом 1–8 тижнів.

Мета дослідження – вивчити процеси пероксидного окиснення ліпідів у статевонезрілих щурів при моделюванні гіпотиреозу шляхом тиреоїдектомії, введення мерказолілу та поєднання обидвох методів.

Матеріали і методи. Досліди виконано на 75 білих статевонезрілих щурах-самцях віком 1,5–2,0 місяці, яких поділили на 3 групи. У першій групі гіпотиреоз викликали за допомогою мерказолілу (75 мг/кг маси тіла протягом 14-ти діб), в другій шляхом тиреоїдектомії, у третій – комбінацією перших двох методів. Визначали у сироватці крові вміст дієнових кон'югатів (ДК), ТБК-активних продуктів, супероксиддисмутазу (СОД) і каталазну активності.

Результати. Результати обстеження щурів свідчать про те, що кожний із запропонованих способів впливу на щитоподібну залозу можна досягти глибокого гіпотиреоїдного стану. За ефективністю вираження моделей гіпотиреозу на процеси пероксидного окиснення ліпідів такі: тиреоїдектомія (51,2 %) → годування мерказолілом (76,8 %) → тиреоїдектомія + годування мерказолілом (119,5 %). У наших експериментах відмічено компенсаторне зростання СОД активності. Зміни наростання СОД активності виявилися такі: тиреоїдектомія + годування мерказолілом (у 1,6 раза) → годування мерказолілом (в 2,6 раза) → тиреоїдектомія (у 3,2 раза). Каталазна активність змінювалася неоднозначно: при тиреоїдектомії вона достовірно збільшувалася у 2,6 раза, при годуванні мерказолілом достовірно не змінювалася, а при поєднаній патології – зменшувалася на 44,4 %.

©О. В. Денефіль, С. М. Чарнош, 2022

Development of oxidative stress in different experimental models of hypothyroidism in immature rats**O. V. Denefil, S. M. Charnosh**

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

e-mail: denefil@tdmu.edu.ua

Summary. Hypothyroidism is one of the common pathologies in the practice of endocrinologist. Autoimmune thyroiditis and alimentary iodine deficiency are the causes of hypothyroidism. Hypothyroidism is especially dangerous in children. An experiment study the pathology of the disease. Today there are several models of experimental hypothyroidism: surgical removal of the thyroid gland or thyrostatics using (thiourea derivatives – propylthiouracil, metamazole, mercazole, thyroperoxidase blockers – thiamazole), per os for 1–8 weeks.

The aim of the study – to investigate the processes of lipid peroxidation in immature rats in the simulation of hypothyroidism by thyroidectomy, mercazole using and a combination of both methods.

Materials and Methods. The experiments performed on 75 white sexually immature male rats aged 1.5–2.0 months of 3 groups. Group 1 – hypothyroidism was induced by mercazole (75 mg/kg of body weight for 14 days), group 2 – by thyroidectomy, group 3 – by the combination of the first two methods. Serum levels of diene conjugates (DC), TBA-active products, superoxide dismutase (SOD) and catalase activity were determined.

Results. The results of the examination of rats indicate that each of the proposed methods can achieve a deep hypothyroid state. The efficiency of expression of hypothyroidism models for lipid peroxidation processes: thyroidectomy (51.2 %) → mercazole (76.8 %) → thyroidectomy + mercazole (119.5 %). In our experiments, a compensatory increase in SOD activity was noted. Changes in the increase in SOD activity were as follows: thyroidectomy + mercazole (1.6 times) → mercazole (2.6 times) → thyroidectomy (3.2 times). Catalase activity changed ambiguously: in thyroidectomy it significantly increased 2.6 times, in feeding mercazole did not change significantly, and in combined pathology – decreased by 44.4 %.

Conclusions. 1. Thyroidectomy, mercazole using and its combination are reliable methods of inducing hypothyroidism in immature rats. As the hypothyroid state increases, these methods can be presented in the following order: thyroidectomy → mercazole → thyroidectomy

Висновки. Тиреоїдектомія, вплив мерказолілу і поєднання цих впливів є надійними методами викликання гіпофункції щитоподібної залози у статевонезрілих щурів. За наростанням гіпотиреоїдного стану ці методи можна представити в такому порядку: тиреоїдектомія → годування мерказолілом → тиреоїдектомія + годування мерказолілом. При гіпотиреозі активуються процеси пероксидного окиснення ліпідів наступним чином: тиреоїдектомія → годування мерказолілом → тиреоїдектомія + годування мерказолілом. У відповідь на тиреоїдну патологію компенсаторно зростає супероксиддисмутазна активність крові наступним чином: тиреоїдектомія + годування мерказолілом → годування мерказолілом → тиреоїдектомія.

Ключові слова: гіпотиреоз; статевонезрілі щури; експеримент.

ВСТУП

Однією серед поширених патологій у практиці лікаря-ендокринолога є гіпофункція щитоподібної залози [1–3]. Причинами гіпотиреозу є аутоімунний тиреоїдит та аліментарний дефіцит йоду. Експерти вважають, що гіпотиреоз вражає до 8 % хворих населення планети, а ще 10–12 % людей можуть мати не діагностовану недостатність щитоподібної залози і не отримувати адекватного лікування [1, 3]. Особливо небезпечним є гіпотиреоз у дітей.

У пацієнтів, які страждають від гіпотиреозу, якість життя значно погіршується і підвищується ризик виникнення передчасної смерті [1, 4].

Розрізняють первинний гіпотиреоз, що виникає внаслідок ушкодження щитоподібної залози і вторинний – внаслідок ушкодження гіпофіза і/або гіпоталамуса. Найчастіше лікарі стикаються з первинним гіпотиреозом, а близько 5 % пацієнтів мають гіпотиреоз, зумовлений іншими причинами [1, 2, 5]. В Україні є понад 100 тис. пацієнтів із гіпотиреозом, а середня поширеність захворювання становить 250 випадків на 1 100 000 населення [6]. Для порівняння, в Європі поширеність гіпотиреозу серед населення становить 0,2–5,3 % [1, 7], а в США (дані NHANES) – 3,7 % [8].

Гіпотиреоз супроводжується появою слизового набряку дерми та слизових оболонок, дефіцитом макроергів, іонів калію в клітинах, активацією пероксидного окиснення ліпідів та ушкодженням мембран [9, 10].

Для повнішого вивчення патології захворювання використовують експеримент. На сьогодні існує декілька моделей експериментального гіпотиреозу: оперативне видалення щитоподібної залози або введення тиреостатиків (похідних тіосечовини – пропілтіоурацил [11], метамазол [12], мерказоліл [13], блокаторів тиреопероксидази – тіамазол), per os протягом 1–8 тижнів. Кожним із цих способів можна досягти гіпотиреоїдного стану, глибина якого визна-

+ mercazolyl. 2. In hypothyroidism, the processes of lipid peroxidation activated as follows: thyroidectomy → mercazolyl → thyroidectomy + mercazolyl. In response to thyroid pathology, the superoxide dismutase activity of the blood compensatory increases: thyroidectomy + mercazolyl → mercazolyl → thyroidectomy.

Key words: hypothyroidism; immature rats; experiment.

чатиметься тривалістю післяопераційного періоду або величиною дози тиреостатика.

Метою дослідження було вивчити процеси пероксидного окиснення ліпідів у статевонезрілих щурів при моделюванні гіпотиреозу шляхом тиреоїдектомії, введення мерказолілу та поєднання обидвох методів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Досліди виконано на 75 білих статевонезрілих щурах-самцях віком 1,5–2,0 місяці, яких поділили на 3 групи. У першій групі гіпотиреоз викликали за допомогою мерказолілу, в другій – шляхом тиреоїдектомії, у третій – комбінацією перших двох методів.

За оцінки критерію глибини гіпотиреоїдного стану було взято наступні показники: частоту серцевих скорочень, ректальну температуру та об'єм поглинутого кисню. Їх визначали двічі – до впливу на щитоподібну залозу і на 14-ту добу з початку моделювання гіпотиреозу. Частоту серцевих скорочень підраховували на електрокардіограмах, ректальну температуру вимірювали електричним медичним термометром, поглинання кисню визначали у спеціально змонтованій респіраційній камері. Визначали у сироватці крові вміст дієнових кон'югатів (ДК), ТБК-активних продуктів, супероксиддисмутази (СОД) і каталазну активності [14–16, 17].

Мерказолілову модель гіпотиреозу створювали шляхом згодовування тваринам синтетичного тиреостатику („Здоров'я”, Україна) у дозі 75 мг/кг маси тіла протягом 14-ти діб. Величину дози і тривалість годування запозичено з наукових джерел і уточнено в нашій лабораторії [18]. При виборі дози ми враховували дані літератури, що статевонезрілі щури менш чутливі до антитиреоїдних препаратів, ніж дорослі. Показано, що для досягнення однакового ефекту зниження концентрації антитиреоїдних гормонів у крові для статевонезрілих щурів потрібно

було 14 діб від початку годування мерказолілом, а у дорослих щурів – 9 діб [19].

Тваринам другої групи здійснювали оперативне видалення щитоподібної залози. Тваринам третьої групи видаляли щитоподібну залозу і щоденно протягом 14-ти діб, починаючи з дня операції згодували мерказоліл у дозі 75 мг/кг маси тіла.

Оперативні втручання і забій тварин проводили шляхом внутрішньочеревного введення тіопенталу натрію. Всі експериментальні дослідження проводили відповідно до принципів біоетики, що викладені у Гельсинській декларації та Законі України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759–VI від 15.12.2009).

Результати експериментів були піддані статистичному аналізу за допомогою параметричних методів. Різницю між середніми величинами вважали достовірною $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Порівняльну характеристику моделей гіпотиреозу, які ми створили, подано у таблиці 1.

Результати обстеження щурів у початковому стані й на 14-у добу гіпотиреозу свідчать про те, що кожний із запропонованих способів впливу на щитоподібну залозу можна досягти глибокого гіпотиреоїдного стану. Зміни частоти серцевих скорочень, ректальної температури і поглинання кисню були односпрямованими в усіх трьох групах статевонезрілих тварин, але вираження їх було різним.

Так, частота серцевих скорочень зменшилася найбільшою мірою при поєднанні тиреоїдектомії

та годування мерказолілом, що було достовірно менше порівняно з іншими експериментальними групами. Зміни ректальної температури при різних моделях гіпотиреозу не відрізнялися достовірно. Споживання ж кисню виявилось найменшим у двох групах, яким згодували мерказоліл.

За ефективністю вираження впливу на щитоподібну залозу такі (в порядку наростання глибини гіпотиреоїдного стану): тиреоїдектомія → годування мерказолілом → тиреоїдектомія + годування мерказолілом. Можливо меншу ефективність тиреоїдектомії можна пояснити не повністю видаленою щитоподібною залозою під час операції, коли ще залишалися її частинки. Компенсаторна гіперплазія тканини щитоподібної залози, що залишилася, зменшувала розвиток і, відповідно, прояви гіпотиреозу. При поєднанні тиреоїдектомії і застосуванні мерказолілу зміни показників були найвагомішими.

При аналізі показників пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантів виявлено наступне (табл. 2).

За ефективністю вираження моделей гіпотиреозу на процеси пероксидного окиснення ліпідів такі: тиреоїдектомія (51,2 %) → годування мерказолілом (76,8 %) → тиреоїдектомія + годування мерказолілом (119,5 %). У наших експериментах відмічено компенсаторне зростання СОД активності. Зміни наростання СОД активності виявилися такі: тиреоїдектомія + годування мерказолілом (у 1,6 раза) → годування мерказолілом (в 2,6 раза) → тиреоїдектомія (у 3,2 раза). Каталазна активність змінювалася

Таблиця 1. Характеристика трьох моделей гіпотиреозу ($M \pm m$)

Серія	Показник		
	частота серцевих скорочень, уд./хв	ректальна температура, °С	об'єм поглинутого кисню, мл/(кг·хв)
Контроль (n=13)	572±5	38,7±0,1	10,5±0,4
Мерказоліл (n=13)	450±8 $p < 0,001$	37,6±0,1 $p < 0,01$	7,2±0,2 $p < 0,001$
Тиреоїдектомія (n=13)	468±10 $p < 0,001$	37,5±0,1 $p < 0,001$	8,2±0,3 $p < 0,001$
Тиреоїдектомія + мерказоліл (n=13)	403±11 $p < 0,001$	37,3±0,1 $p < 0,001$	7,1±0,2 $p < 0,001$

Таблиця 2. Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантів при різних моделях гіпотиреозу ($M \pm m$)

Серія	Показник			
	ДК, ум. од./мл	ТБК-активні продукти, мкмоль/л	СОД, ум. од./мл	каталаза, мкат/л
Контроль (n=13)	0,82±0,01	2,03±0,07	0,16±0,01	0,18±0,01
Мерказоліл (n=13)	1,45±0,01 $p < 0,001$	2,78±0,06 $p < 0,001$	0,41±0,02 $p < 0,001$	0,23±0,02 $p < 0,001$
Тиреоїдектомія (n=13)	1,24±0,02 $p < 0,001$	2,32±0,08 $p < 0,001$	0,52±0,02 $p < 0,001$	0,47±0,02 $p < 0,001$
Тиреоїдектомія + мерказоліл (n=13)	1,80±0,03 $p < 0,001$	2,92±0,07 $p < 0,001$	0,26±0,03 $p < 0,001$	0,10±0,02 $p < 0,001$

неоднозначно: при тиреоїдектомії вона достовірно збільшувалася у 2,6 рази, при годуванні мерказолілом достовірно не змінювалася, а при поєднаній патології – зменшувалася на 44,4 %.

ВИСНОВКИ 1. Тиреоїдектомія, вплив мерказолілу і поєднання цих впливів є надійними методами викликання гіпофункції щитоподібної залози у статевонезрілих щурів. За наростанням гіпотиреоїдного стану ці методи можна представити в такому по-

рядку: тиреоїдектомія → годування мерказолілом → тиреоїдектомія + годування мерказолілом.

2. При гіпотиреозі активуються процеси пероксидного окиснення ліпідів наступним чином: тиреоїдектомія → годування мерказолілом → тиреоїдектомія + годування мерказолілом. У відповідь на тиреоїдну патологію компенсаторно зростає супероксиддисмутазна активність крові наступним чином: тиреоїдектомія + годування мерказолілом → годування мерказолілом → тиреоїдектомія.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Chiovato L. hypothyroidism in context: where we've been and where we're going / L. Chiovato, F. Magri, A. Carle // *Adv. Ther.* – 2019. – No. 36 (Suppl. 2). – P. 47–58.
2. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism / P. Taylor, D. Albrecht, A. Scholz [et al.] // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2018. – No. 5 (14). – P. 301–316.
3. Hennessey J. Subclinical hypothyroidism: a historical view and shifting prevalence / J. Hennessey, R. Espaillet // *Int. J. Clin. Pract.* – 2015. – No. 7 (69). – P. 771–782.
4. Lage M. J. Hypothyroidism treatment among older adults: evidence from a claims database / M. Lage, R. Espaillet, J. Vora, Z. Hepp // *Adv. Ther.* – 2020. – 37, No. 5. – P. 2275–2287.
5. Biondi B. Subclinical hypothyroidism: a review / B. Biondi, A. Cappola, D. Cooper // *JAMA.* – 2019. – No. 2 (322). – P. 153–160.
6. Raduchich O. Subclinical hypo- and hyperthyroidism. It should be observed or treated / O. Raduchich // *Ukrainian Medical Journal.* – 2019. – No. 2 (1). – P. 66–68.
7. The incidence and prevalence of thyroid dysfunction in Europe: a meta-analysis / A. Garmendia Madariaga, S. Santos Palacios, F. Guillen-Grima, J. C. Galofre // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – No. 3 (99). – P. 923–931.
8. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) / J. G. Hollowell, N. W. Staehling, W. D. Flanders [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2002. – No. 2 (87). – P. 489–499.
9. Hypothyroidism and the Heart / M. Udovcic, R. Pena, B. Patham [et al.] // *Methodist DeBakey Cardiovasc J.* – 2017. – No. 2 (13). – P. 55–59.
10. Jeddi S. Effects of ischemic postconditioning on the hemodynamic parameters and heart nitric oxide levels of hypothyroid rats / S. Jeddi, J. Zaman, A. Ghasemi // *Arq. Bras. Cardiol.* – 2015. – No. 2 (104). – P. 136–143.
11. Tomczyk T. Experimental hypothyroidism raises brain kynurenic acid – Novel aspect of thyroid dysfunction / T. Tomczyk, E. Urbanska // *Eur. J. Pharmacol.* – 2020. – No. 883. – P. 173363.
12. Both experimental hypothyroidism and hyperthyroidism increase cardiac irisin levels in rats / E. Atici, E. Menevse, A. Baltaci, R. Mogulkoc // *Bratisl Lek Listy.* – 2018. – No. 1 (119). – P. 32–35.
13. Потіха Н. Я. Обмін ацетилхоліну в міокарді статевонезрілих щурів з експериментальним гіпотиреозом / Н. Я. Потіха, В. В. Файфура // *Клін. та експер. патол.* – 2004. – № 2 (3). – С. 35–36.
14. Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // *Лабораторное дело.* – 1983. – № 3. – С. 33–35.
15. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э. Н. Коробейникова // *Лабораторное дело.* – 1989. – № 7. – С. 8–10.
16. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Сокей // *Лабораторное дело.* – 1985. – № 11. – С. 678–681.
17. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // *Лабораторное дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–19.
18. Потіха Н. Я. Співвідношення між холінергічною і адренергічною регуляцією серцевого ритму у статевонезрілих щурів з експериментальним гіпотиреозом / Н. Я. Потіха // *Клін. та експер. патол.* – 2004. – Т. 3, № 4. – С. 55–58.
19. Громакова І. А. Вікові особливості перебігу експериментального гіпотиреозу у щурів / І. А. Громакова, С. У. Зільберман, О. О. Коноваленко // *Фізіол. ж.* – 2002. – Т. 48, № 1. – С. 80–86.

REFERENCES

1. Chiovato L, Magri F, Carle A. Hypothyroidism in context: where we've been and where we're going. *Adv Ther.* 2019;36(Suppl 2): 47-58. DOI: 10.1007/s12325-019-01080-8.
2. Taylor P, Albrecht D, Scholz A, Gutierrez-Buey G, Lazarus J, Dayan CM, et al. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(5): 301-16. DOI: 10.1038/nrendo.2018.18.
3. Hennessey J, Espallat R. Subclinical hypothyroidism: a historical view and shifting prevalence. *Int J Clin Pract.* 2015;69(7): 771-82. DOI: 10.1111/ijcp.12619.
4. Leng O, Razvi S. Hypothyroidism in the older population. *Thyroid Res.* 2019;12: 2. DOI: 10.1186/s13044-019-0063-3.
5. Biondi B, Cappola AR, Cooper D. Subclinical hypothyroidism: a review. *JAMA.* 2019;322(2): 153-60. DOI: 10.1001/jama.2019.9052.
6. Raduchich O. Subclinical hypo- and hyperthyroidism. It should be observed or treated. *Ukrainian medical journal.* 2019;2(1): 66-8.
7. Garmendia Madariaga A, Santos Palacios S, Guillen-Grima F, Galofre JC. The incidence and prevalence of thyroid dysfunction in Europe: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(3): 923-31. DOI: 10.1210/jc.2013-2409.
8. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(2): 489-99. DOI: 10.1210/jcem.87.2.8182.
9. Udovcic M, Pena R, Patham B, Tabatabai L, Kansara A. Hypothyroidism and the Heart. *Methodist Debakey Cardiovasc J.* 2017;13(2): 55-9. DOI: 10.14797/mdcj-13-2-55.
10. Jeddi S, Zaman J, Ghasemi A. Effects of ischemic postconditioning on the hemodynamic parameters and heart nitric oxide levels of hypothyroid rats. *Arq Bras Cardiol.* 2015;104(2): 136-43. DOI: 10.5935/abc.20140181.
11. Tomczyk T, Urbanska E. Experimental hypothyroidism raises brain kynurenic acid - Novel aspect of thyroid dysfunction. *Eur J Pharmacol.* 2020;883: 173363. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173363.
12. Atici E, Menevse E, Baltaci AK, Mogulkoc R. Both experimental hypothyroidism and hyperthyroidism increase cardiac irisin levels in rats. *Bratisl Lek Listy.* 2018;119(1): 32-5. doi: 10.4149/BLL_2018_007.
13. Fun H, Fayfura B. Metabolism of acetylcholine in the myocardium of immature rats with experimental hypothyroidism. *Klin ta eksperym patol.* 2004;2: 35-6. Ukrainian.
14. Gavrilov V, Mishkorudnaya M. Spectrophotometric determination of the content of lipid hydroperoxides in blood plasma. *Lab delo.* 1983;3: 33-5. Russian.
15. Korobeynikova E. Modification of the determination of LPO products in the reaction with thiobarbituric acid. *Lab delo.* 1989;7: 8-10. Russian.
16. Chevare S, Chaba I, Sokei Y. The role of superoxide dismutase in the oxidative processes of the cell and a method for its determination in biological materials. *Lab delo.* 1985;11: 678-81. Russian.
17. Korolyuk M, Ivanova L, Mayorova I, Tokarev V. Method for determining catalase activity. *Lab delo.* 1988;1: 16-9. Russian.
18. Potikha N. The relationship between cholinergic and adrenergic regulation of heart rate in immature rats with experimental hypothyroidism. *Klin ta eksperym. patol.* 2004;3: 55-8. Ukrainian.
19. Hromakova I, Zilberman S, Konovalenko O. Age features of experimental hypothyroidism in rats. *Fiziol. zh.* 2002;1(48): 80-6. Ukrainian.