

МАТЕРІАЛИ КОНГРЕСІВ, КОНФЕРЕНЦІЙ

24-25 жовтня 2013 року на базі Івано-Франківського національного медичного університету відбулась Міжнародна наукова конференція з проблеми мікроелементів в медицині, присвячена пам'яті Г.Бабенка

Георгій Бабенко – засновник наукової школи мікроелементології на теренах східноєвропейської медицини, 25 років очолював Івано-Франківський медичний інститут, сьогодні університет.

Нижче подаємо деякі матеріали з цієї конференції.

УДК 577.118+616-092.9+616.441

Бортник Ю.В.², Николишин Л.В.², Гуранич Т.В.², Ерстенюк Г.М.¹, Воронич-Семченко Н.М.²

Вплив мікроелементного дисбалансу на показники протирадикального захисту у тварин із гіпотиреоїдною дисфункцією

¹Кафедра біологічної та медичної хімії імені Г.О. Бабенка

²Кафедра фізіології

ДВНЗ „Івано-Франківський національний медичний університет

voronich@meta.ua

Резюме. Мета дослідження: оцінка антиоксидантного статусу тварин із гіпотиреоїдною дисфункцією на тлі мікроелементного дисбалансу.

Дослідження проводили на 120 нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 100-180 г. Тварини були розділені на чотири дослідні групи: щури із гіпотиреоїдною дисфункцією на тлі дефіциту йоду (ГД₁, 1-ша дослідна група, n=30); щури із гіпотиреоїдною дисфункцією за умов комбінованого дефіциту йоду та: заліза (ГД_{1+Fe}, 2-га дослідна група, n=30), селену (ГД_{1+Se}, 3-тя дослідна група, n=30), міді (ГД_{1+Cu}, 4-та дослідна група, n=30).

Гіпотиреоїдну дисфункцію моделювали шляхом додавання до питної води тиреостатичного препарату мерказолілу (7,5 мг/100г маси тіла). Для обмеження поступлення йоду щури усіх дослідних груп впродовж дослідження утримували на йододефіцитній дієті. Залізодефіцитний стан викликали завдяки щоденному внутрішньоочеревинному введенню хелатора дефероксаміну у дозі 20мг/100г маси тіла протягом 15-ти днів. Дефіцит селену відтворювали шляхом використання напівсинтетичного збалансованого раціону із натуральних інгредієнтів, розробленого Інститутом харчування РАМН. Дефіцит міді моделювали шляхом щоденного додавання до питної води d-пеніциламіну у дозі 100мг/100г маси тіла протягом 21-го дня. Контрольну групу склали 30 інтактних тварин.

Систему антиоксидантного захисту характеризували за активністю ферментів: каталази, супероксиддисмути (СОД), глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонредуктази (ГР), церулоплазміну (Цп), насиченістю трансферину залізом (НТр) сироватки крові.

За результатами наших досліджень можна стверджувати, що розвиток ГД супроводжується пригніченням активності більшості вивчених антиоксидантних ферментів на тлі вибіркової активації окремих із них (збільшення активності ГП, ГР у тварин із комбінованим дефіцитом йоду й заліза, зростання активності каталази у щурів на тлі йодної та селенової депривації, підвищення активності ГР за умови обмеженого поступлення йоду й міді до організму дослідних тварин). Необхідно акцентувати, що комбінований дефіцит мікроелементів супроводжується більш суттєвими змінами антиоксидантного статусу з чіткою тенденцією до виснаження протирадикального резерву.

Ключові слова: *гіпотиреоїдна дисфункція, йод, залізо, селен, мідь, антиоксидантна система.*

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Незважаючи на значні успіхи у з'ясуванні причин та механізмів розвитку тиреоїдної патології, в останні роки в Україні спостерігається тенденція до її збільшення [7]. Етіологія гіпотиреоїдної дисфункції (ГД) є багатофакторною. Однак, ключову роль у розвитку ендемічного зобу відіграє йодна депривація. Проте, крім недостатнього надходження до організму йоду, причиною зниженої функціональної спроможності щитоподібної залози може бути обмежене засвоєння цього мікроелемента, порушення транспорту та органіфікації йодидів, вплив струмогенних геохімічних чинників, забруднення довкілля радіонуклідами, медикаментозні навантаження на організм [4]. Відомо, що ендокринна здатність щитоподібної залози може залежати і від поступлення

до організму есенціальних хімічних елементів, зокрема, заліза, селену, міді. Ці мікроелементи, входячи до складу ферментів (як кофактори), гормонів та їх рецепторів, опосередковано можуть впливати на всі етапи синтезу, транспорту, секреції гормонів щитоподібної залози [1, 10].

Дослідження останніх років свідчать про вагомий роль реакцій киснезалежного метаболізму у механізмах структурно-функціональних змін гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної осі в умовах функціональної інертності або зниженої активності ензимів антиоксидантного захисту. Необхідно акцентувати, що мідь, селен та залізо входять до складу антиоксидантних ферментів: каталази, супероксиддисмути (СОД), церулоплазміну (Цп), глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонредуктази (ГР), які нейтралізують дію вільних радикалів.

Тому метою дослідження стала оцінка антиоксидантного статусу тварин із гіпотиреоїдною дисфункцією на тлі мікроелементного дисбалансу.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проводили на 120 нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 100-180 г. Тварини були розділені на чотири дослідні групи: щури із ГД на тлі дефіциту йоду (ГД₁, 1-ша дослідна група, n=30); щури із гіпотиреоїдною дисфункцією за умов комбінованого дефіциту йоду та: заліза (ГД_{1+Fe}, 2-га дослідна група, n=30), селену (ГД_{1+Se}, 3-тя дослідна група, n=30), міді (ГД_{1+Cu}, 4-та дослідна група, n=30).

ГД моделювали шляхом додавання до питної води тиреостатичного препарату мерказолілу (7,5 мг/100г маси тіла) [9]. Тварин брали у дослід на 14-ий день введення препарату. Для обмеження поступлення йоду щури усіх дослідних груп впродовж дослідження утримували на йододефіцитній дієті [11]. Залізодефіцитний стан викликали завдяки щоденному внутрішньоочеревинному введенню хелатора дефероксаміну (desferal, „Novartis Pharma”, Швейцарія) у дозі 20мг/100г маси тіла протягом 15-ти днів [8]. Дефіцит селену відтворювали шляхом використання напівсинтетичного збалансованого раціону із натуральних інгредієнтів, розробленого Інститутом харчування РАМН [2]. Дефіцит міді моделювали шляхом щоденного додавання до питної води d-пеніциламіну (купреніл, „Polfa” Kutno Pharmaceutical Company, Польща) у дозі 100мг/100г маси тіла протягом 21-го дня [12]. Контрольну групу склали 30 інтактних тварин, яких утримували на стандартному харчовому раціоні, звичайному температурному та світловому режимі виварю.

Систему антиоксидантного захисту сироватки крові характеризували за активністю каталази, супероксиддисмути (СОД), глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонредуктази (ГР), церулоплазміну (Цп), насиченістю трансферину залізом (НТр).

Утримання, вигодовування та етаназія (шляхом декапітації під кетаміновим знечуленням, 100 мг/кг маси тіла) відповідали чинним державним та міжнародним вимогам щодо гуманного відношення до тварин (1986, 2007).

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакету

математичних програм Statistic Soft 7,0. Для кожної з вибірок перевіряли чи є нормальним розподіл досліджуваного показника, застосовуючи критерій Шапіро-Вілка. За цим критерієм визначали чи розподіл даних вибірок відповідає розподілу Гауса. У випадку двох нормальних розподілів перевіряли рівність генеральних дисперсій, застосовуючи критерій Левена, після чого порівнювали вибірки за допомогою t-критерію Стьюдента. Статистично значущою вважали різницю при $p < 0,05$.

Результати дослідження

У результаті проведеного дослідження встановлені суттєві зміни показників протирадикального захисту у тварин усіх дослідних груп (табл. 1). Виявлено, що у щурів із ГД₁ (1-ша дослідна група) збільшується активність каталази (на 23,71%, $p < 0,05$) на тлі зниження активності ГР (64,71%, $p < 0,05$) та Цп (на 21,93%, $p < 0,05$) у сироватці крові щодо цих же показників у інтактних тварин. Аналогічна тенденція спостерігалась у щурів 2-4-ої дослідних груп. При цьому у тварин 2-ої дослідної групи зростала активність ГП (на 89,47%, $p < 0,05$) та ГР (у 2,94 раза, $p < 0,05$) на тлі зниження активності СОД (на 71,61%, $p < 0,05$) щодо контролю. У щурів 3-ої дослідної групи спостерігали зниження активності більшості досліджуваних антиоксидантних ензимів: СОД (на 43,22%, $p < 0,05$), ГП (на 63,16%, $p < 0,05$), ГР (на 70,59%, $p < 0,05$), НТр (на 46,15%, $p < 0,05$) на тлі зростання активності каталази у сироватці крові (на 42,10%, $p < 0,05$). У тварин 4-ої дослідної групи зміни показників антиоксидантної системи (АОС) були менш вираженими: знижувалась активність каталази (на 43,75%, $p < 0,05$) та НТр (на 58,92%, $p < 0,05$) щодо контрольних даних.

У результаті проведеного порівняльного аналізу показників АОС у тварин 1-ої та 2-4-ої дослідних груп встановлено, що комбінований дефіцит мікроелементів супроводжувався більш суттєвими змінами антиоксидантного статусу щурів. Зокрема, у сироватці крові щурів 2-ої дослідної групи (ГД_{1+Fe}) спостерігали зростання активності ГП (на 80,0%, $p_{1-2} < 0,05$), ГР (у 8,33 раза, $p_{1-2} < 0,0001$) та зниження активності СОД (на 71,61%, $p_{1-2} < 0,05$) щодо аналогічних даних у тварин 1-ої дослідної групи. У щурів 3-ої дослідної групи встановили зниження активності ГП (на 63,16%, $p_{1-3} < 0,05$), СОД (на 43,21%, $p_{1-3} < 0,05$) сироватки крові. У щурів 4-ої дослідної групи виявили зниження активності каталази (на 54,54%, $p_{1-4} < 0,05$) на тлі суттєвого зростання активності ГР (у 6,50 раза, $p_{1-4} < 0,05$).

Обговорення

Відомо, що зниження функціональної здатності щитоподібної залози впливає на перебіг киснезалежних реакцій [6]. Проте механізми таких змін залишаються недостатньо вивченими, а результати не завжди трактуються однозначно й містять протиріччя. Зокрема, за даними наукових досліджень, за умов гіпотиреозу здебільшого знижується активність ферментативних механізмів антиоксидантного захисту,

виснажуються резерви природних жиро- і водорозчинних антиоксидантів [3]. Проте відомо і про функціональну інертність АОС за умов гіпотиреозу [5].

За результатами наших досліджень можна стверджувати, що розвиток ГД загалом супроводжується пригніченням активності більшості вивчених ензимів АОС на тлі вибіркової активації окремих із них (збільшення активності ГП, ГР у тварин із комбінованим дефіцитом йоду й заліза, зростання активності каталази у щурів на тлі йодної та селенової депривації, зростання активності ГР за умови обмеженого поступлення йоду й міді до організму дослідних тварин). Такі порушення можуть виступати причиною чи бути наслідком потенціювання киснезалежних процесів. Необхідно акцентувати, що комбінований дефіцит мікроелементів супроводжується більш суттєвими змінами антиоксидантного статусу з чіткою тенденцією до виснаження протирадикального резерву.

Висновки

Встановлено, що розвиток ГД супроводжується зниженням антиоксидантного захисту сироватки крові, що має більше виражений характер у тварин за умов комбінованого дефіциту мікроелементів.

Перспективи подальших досліджень

Вивчення мікроелементного балансу в організмі тварин із зниженою функціональною здатністю щитоподібної залози. Дослідження рівня пероксидації білків та ліпідів у щурів на тлі мікроелементного дисбалансу. З'ясування можливостей залучення мікроелементів та антиоксидантів до схеми лікування гіпотиреодної дисфункції з метою посилення протирадикального захисту тканин.

Література

1. Барашков Г. Микроэлементы в теории и практике медицины / Г. Барашков // Врач. - 2004. - № 10. - С. 45-48.
2. Барышева Е.С. Структурно-функциональная реорганизация щитовидной железы при различном содержании микроэлементов в рационе / Е.С. Барышева, С.В. Лебедев, С.В. Нотова // Морфология. - 2006. - Т.4, №19. - С. 129-235.
3. Золотухин С.Е. Изменение активности оксидантно-антиоксидантных систем при гипотиреозе / С.Е. Золотухин, А.В. Махнева, Н.Н. Шпаченко // Український морфологічний альманах. - 2011. - Том 9. - №3. - С.114-116.
4. Кравченко В. І. Йододефіцит триває - здоров'я населення погіршується / В. І. Кравченко // Міжнародний ендокринологічний журнал. - 2008. - № 6(18). - С. 9-18.
5. Кравчук Н. А. Антиоксиданты в комплексной терапии метаболического синдрома и аутоиммунного тиреоидита / Н.А. Кравчук, А.В. Казаков, И.В. Чернявская // Проблемы эндокринной патологии. - 2006. - № 4. - С. 28-32.
6. Орехова Н.А. Антиоксидантный статус как модель для исследования радиорезистентности организма / Н.А. Орехова, Л.Н. Расина // Физика в биологии и медицине. - 2001. С. 20-29.
7. Паньків В.І. Практична тиреодологія. - Донецьк: Видавець Заславський О.Ю., 2011. - 224 с.

8. Ходоровський В.М.

Зміни тиреодного гомеостазу при експериментальній залізодефіцитній анемії / В.М. Ходоровський // Буковинський медичний вісник. - 2006. - Т. 10, №3. - С. 123-128.

9. Чарнош С.М. Порівняльна характеристика трьох експериментальних моделей гіпотиреозу / С.М. Чарнош // Вісник наукових досліджень. - 2007. - №2. - С. 113-115.

10. Юдина Т.В. Микроэлементный и антиоксидантный статус человека: развитие современных методи-

Таблиця 1. Зміни показників антиоксидантної системи сироватки крові щурів із гіпотиреодною дисфункцією на тлі дефіциту йоду та заліза, селену чи міді (M±m)

Дослідні групи	Каталаза, мг H ₂ O ₂ /мл	Супероксид-дисмугаза, %	Глутатіон-пероксидаза, мкмоль/1 мг Б	Глутатіонредуктаза, нмоль/хв мг Б	Церулоплаз-мін, ум. од.	Насиченість трансферину залізом, ум. од.
Інтактні тварини (n=30)	10,85±0,46	35,50±2,77	0,19±0,04	0,17±0,06	56,50±3,60	0,39±0,09
1-ша дослідна група (ГД ₁ , n=30)	13,46±0,74*	30,50±1,41	0,20±0,01	0,06±0,02*	44,12±3,64*	0,23±0,07
2-га дослідна група (ГД _{1+Fe} , n=30)	13,68±1,70	10,08±3,16* $p_{1-2} < 0,05$	0,36±0,03* $p_{1-2} < 0,05$	0,50±0,12* $p_{1-2} < 0,0001$	48,93±10,44	0,25±0,06
3-тя дослідна група (ГД _{1+Se} , n=30)	15,46±1,70*	20,16±1,49* $p_{1-3} < 0,01$	0,07±0,01* $p_{1-3} < 0,01$	0,05±0,01*	46,12±5,22	0,21±0,03
4-та дослідна група (ГД _{1+Cu} , n=30)	6,12±1,64* $p_{1-4} < 0,01$	27,00±3,44	0,18±0,04	0,39±0,14 $p_{1-4} < 0,05$	36,74±11,59	0,16±0,04*

Примітка. * вірогідна різниця ($p < 0,05$) щодо аналогічних показників у інтактних тварин; p із арабськими цифрами - вірогідна різниця між показниками відповідних дослідних груп

ческих проблем донозологической диагностики / Т.В. Юдина, В.Н. Ракитский, М.В. Егоровна, А.В. Скальный // Микроэлементы в медицине.- 2003.- №4(1).- С.7-11.

11. Martinez-Galan J. R. Early effect of iodine deficiency on radial glial cells of the hippocampus of the rat fetus / J. R. Martinez-Galan, P. Pedraza, M. Santacana // J. Clin. Invest. - 1997. - Vol. 99. - P. 2701-2709.

12. Masahiko Yamamoto D-penicillamine – induced copper deficiency in suckling mice: neurological abnormalities and brain mitochondrial enzyme activities / Masahiko Yamamoto et al. // Division of Ultrastructural Research, National Institute of Neuroscience.- N.C.N.P., Tokyo, 1990- P. 123-125.

Бортник Ю.В.², Николішин Л.В.², Гураніч Т.В.², Эрстенюк Г.М.¹, Воронич-Семченко Н.Н.²

Влияние микроэлементного дисбаланса на показатели противорадикальной защиты животных с гипотиреодной дисфункцией

¹Кафедра биологической и медицинской химии имени Г.А. Бабенко

²Кафедра физиологии

ГВУЗ “Ивано-Франковский национальный медицинский университет”

voronich@meta.ua

Резюме. Цель исследования: оценка антиоксидантного статуса животных с гипотиреодной дисфункцией на фоне микроэлементного дисбаланса.

Исследования проводились на 120 нелинейных половозрелых крысах-самцах массой 100-180 г. Животные были разделены на четыре опытные группы: крысы с гипотиреодной дисфункцией на фоне дефицита йода (ГД_И, 1-я опытная группа, n=30); крысы с гипотиреодной дисфункцией в условиях комбинированного дефицита йода и: железа (ГД_{И+Fe}, 2-я опытная группа, n=30), селена (ГД_{И+Se}, 3-я опытная группа, n=30), меди (ГД_{И+Cu}, 4-я опытная группа, n=30).

Гипотиреодную дисфункцию моделировали путем добавления к питьевой воде тиреостатического препарата мерказолила (7,5 мг/100г массы тела). Для ограничения поступления йода крыс всех опытных групп в течение исследования удерживали на йододефицитной диете. Железодефицитное состояние вызывали благодаря ежедневному внутрибрюшному введению хелатора дефероксамина в дозе 20мг/100г массы тела в течение 15-ти дней. Дефицит селена воспроизводили путем использования полусинтетического сбалансированного рациона из натуральных ингредиентов, разработанного Институтом питания РАМН. Дефицит меди моделировали путем ежедневного добавления к питьевой воде D-пеницилламина в дозе 100мг/100г массы тела в течение 21-го дня. Контрольную группу составляли 30 интактных животных.

Систему антиоксидантной защиты характеризовали по активности ферментов: каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР), церулоплазмينا (Цп), насыщенностью трансферрина железом (НТ_р) сыворотки крови.

По результатам наших исследований можно утверждать, что развитие ГД сопровождается угнетением активности большинства изученных антиоксидантных энзимов на фоне избирательной активации некоторых из них (повышение активности ГП, ГР у животных с комбинированным дефицитом йода и железа, повышение активности каталазы у крыс на фоне йодной и селеновой де-

привации, повышение активности ГР в условиях ограниченного поступления йода и меди в организм подопытных животных). Необходимо акцентировать, что комбинированный дефицит микроэлементов сопровождается более существенными изменениями антиоксидантного статуса с четкой тенденцией к истощению противорадикального резерва.

Ключевые слова: гипотиреодная дисфункция, йод, железо, селен, медь, антиоксидантная система.

Yu.V. Bortnyk², L.V. Nikolysyn², T.V. Huranych², H.M. Ersteniuk¹, N.M. Voronich-Semchenko²

Influence of Microelement Disbalance on the Indexes of Antiradical Defence of Animals with Hypothyroid Dysfunction

¹Department of Biological and Medical Chemistry named after G.O. Babenko

²Department of Physiology

State Higher Educational Institution „Ivano-Frankivsk National Medical University”, Ivano-Frankivsk, Ukraine, voronich@meta.ua

Summary. The aim of the research: evaluation of antioxidant defense of animals with hypothyroid dysfunction on the background of microelement disbalance.

The study has been carried out on 120 non linear sexually matured male rats weighing 100-180 g. The animals have been divided in four research groups: rats with hypothyroid dysfunction due to iodine deficiency (HD_I, 1st research group, n=30); rats with hypothyroid dysfunction due to the combined deficiency of iodine and iron (HD_{I+Fe}, 2nd research group, n=30), selenium (HD_{I+Se}, 3rd research group, n=30), copper (HD_{I+Cu}, 4th research group, n=30).

Hypothyroid dysfunction was induced by adding of the thyreostatic drug merkazolil to drinking water (7,5 mg/100g of body weight). Animals of all research groups have been fed an iodine deficient food to reduce the amount of iodine. Iron deficient state has been induced by daily intraperitoneal administration of chelator deferroxamine in a dose of 20mg/100g of body weight during 15 days. Selenium deficiency was created by the use of semi synthetic balanced ration of natural ingredients that has been developed by the Institute of nutrition of RAMS. Copper deficiency was modeled by daily addition of D-penicillamine to drinking water in a dose of 100mg/100g of body weight during 21 days. Control group consisted of 30 intact animals.

The antioxidant defense system has been characterized by the activity of enzymes: catalase, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GP), glutathione reductase (GR), ceruloplasmin (Cp), transferrin saturation with iron (FT_r).

The results of our research signify that the development of HD is followed by the inhibition of activity of the majority of well studied antioxidant enzymes due to the random activation of some of them (increase of activity of GP, GR in rats with combined deficiency of iodine and iron, increase of activity of catalase in rats due to iodine and selenium deprivation, increase of activity of GR in case of limited receiving of iodine and copper by the organisms of researched animals). We need to highlight that combined deficiency of microelements is followed by more significant changes of antioxidant status with clear tendency of exhaustion of the antiradical reserve.

Key words: hypothyroid dysfunction, iodine, iron, selenium, copper, antioxidant system

Надійшла 25.11.2013 року.