

УДК 616-005.1-08+546.41+616-092.9+612.44+616-056.2

Побігун Н.Г.

Порівняльна характеристика показників кальцієвого гомеостазу при експериментальній гіпофункції щитоподібної залози за умов поєднаної дії хронічного стресу і фізичного навантаження

Івано-Франківський національний медичний університет, Україна

Резюме. З'ясували поєднаний вплив фізичного навантаження та хронічного стресу при експериментальній гіпофункції щитоподібної залози на показники кальцій-фосфорного обміну та мінеральну щільність стегнової кістки. З цією метою вивчили сироватковий вміст тиреоїдних гормонів, тиреотропного гормону гіпофізу, кальцитоніну, паратгормону, загального та іонізованого кальцію, неорганічного фосфору, магнію, загального білка, альбумінів та лужної фосфатази, а також концентрацію кальцію, фосфору та магнію в сечі щурів-самців. Мінеральну щільність стегнових кісток щурів визначали за допомогою денситометрії. Гіпотиреоїдний стан щитоподібної залози моделювали з використанням мерказолілу, а фізичне навантаження – бігом у тредбані. Хронічний стрес моделювали згідно з методикою O.Desiderato в модифікації Валова С.Д. В умовах поєднаної дії вказаних факторів зміни тиреоїдного статусу супроводжувались зростанням вмісту загального кальцію, неорганічного фосфору, магнію та лужної фосфатази в сироватці крові на фоні зменшення концентрації іонізованого кальцію, гіпокальціємії та гіпомангніємії при відсутності змін мінеральної щільності кісткової тканини в порівнянні із аналогічними показниками тварин з гіпотиреоїдною дисфункцією.

Ключові слова: гіпофункція щитоподібної залози, фізичне навантаження, хронічний стрес, кальцій, фосфор.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Результати останніх досліджень свідчать про порушення гормонального стану щитоподібної залози (ЩЗ) та мінерального обміну, зокрема зниження рівня тиреоїдних гормонів, гіпокальціємію та гіпомангніємію, що виникають під впливом хронічного стресу (ХС) [8,12]. Відповідно до літературних даних фізичні тренування не впливають на сироватковий вміст іонів кальцію та фосфору, проте призводять до гіпермангніємії [10, 13]. Наводяться також факти про збільшення кісткової маси та мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) при довільній фізичній активності [9, 11]. Однак, поєднаний вплив дозованого фізичного навантаження (ФН) та ХС на кальцій-фосфорний гомеостаз на тлі гіпофункції ЩЗ, вивчений недостатньо. Тому метою дослідження було виявити зміни показників кальцій-фосфорного обміну та МЩКТ при експериментальній гіпофункції ЩЗ за умов дії ФН та ХС.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проводили на 48 нелінійних статевозрілих щурів-самцях вагою 170 – 230г, яких утримували за умов звичайного світлового та температурного режиму кафедрального виварію з вільним доступом до їжі та води. Тварини були розподілені наступним чином: 1 група – інтактні, 2 група – щури із гіпофункцією ЩЗ, 3 група – тварини, що піддавались дії ФН та ХС, 4 група – щури із зниженою функцією ЩЗ за умов дії ФН та ХС. Гіпофункцію ЩЗ моделювали шляхом щоденного додавання до питної води тварин препарату МЕРКАЗОЛІЛ-ЗДОРОВ'Я (м. Харків, Україна) з розрахунку 10 мг/кг маси тіла протягом 15 діб. Підтримуюча доза становила 5 мг/кг маси тіла тварини [5]. ФН моделювали згідно з методикою Самойлова Н. Г. щоденним бігом у широкострічковому тредбані із постійною швидкістю руху стрічки 20м/хв по 15 хв протягом 30 днів. При цьому щури здійснювали роботу по перенесенню своєї маси тіла в горизонтальній площині. Швидкість бігу 20-25 м/хв для білих щурів є помірною і складає приблизно 40-50% від максимальної інтенсивності [7]. ХС моделювали згідно методики O.Desiderato в модифікації Валова С.Д. щоденно по 1 год протягом 30 днів [1]. Забір крові для дослідження проводили під кетаміновою анестезією (100мг/кг маси) з черевної аорти. Утримання тварин та маніпуляції на них проводили згідно з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) та «Загальних етичних принципів експериментів

на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). З метою оцінки гормонального статусу в сироватці крові щурів досліджували вміст тиреотропного гормону гіпофізу (ТТГ), вільного трийодтироніну (вТ₃), вільного тироксину (вТ₄), кальцитоніну та паратгормону. Усі вказані гормони визначали імуноферментним методом. Периферичну активність тиреоїдних гормонів оцінювали за допомогою тиреоїдного індексу (ТІ), який розраховували за формулою – (вТ₃ + вТ₄)/ТТГ. За допомогою біохімічних методів вивчали вміст загального та іонізованого кальцію [3], неорганічного фосфору, магнію, загального білка, альбумінів, лужної фосфатази в сироватці крові та концентрацію іонів кальцію, фосфору і магнію в сечі інтактних та дослідних тварин. За допомогою Dosimeter RD 501 (Німеччина) проводили еталонну денситометрію стегнових кісток щурів усіх груп з метою з'ясування змін МЩКТ. Статистичний аналіз результатів виконано за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistica 6.0. Для перевірки нормального розподілу даних використовували критерії Колмогорова-Смірнова та Лїліфорса [4]. Дані в таблицях представлені у вигляді M±δ, де M – вибіркове середнє, δ – вибіркове стандартне відхилення. Статистичну обробку даних проводили методами варіаційної статистики з використанням критерію Стюдента з поправкою Бонферроні-Холма [2]. Критичний рівень значимості (p) при перевірці статистичних гіпотез у даному дослідженні приймали рівним 0,05.

Результати дослідження та їх обговорення

У попередньому нашому дослідженні [6] в сироватці крові щурів з експериментальною гіпофункцією ЩЗ було виявлено достовірне підвищення рівня паратгормону. При проведенні біохімічного аналізу сироватки крові тварин із зниженою функцією ЩЗ спостерігали вірогідне зменшення концентрацій загального та іонізованого кальцію, неорганічного фосфору, при підвищенні рівня магнію. У той же час, було виявлено гіперкальціємію та гіпомангніємію за відсутності змін екскреції фосфору. Денситометричне дослідження кісток таких щурів показало зменшення МЩКТ у ділянці головки та метафізу стегнової кістки.

У сироватці крові експериментальних тварин, які піддавались дії ФН та ХС (3 група), достовірних змін показників гормонального статусу (табл. 1), зокрема ТТГ, вТ₃, вТ₄, кальцитоніну та паратгормону відносно даних 1-ї групи не спостерігали. Проте в крові щурів за умов дії ФН та ХС було

Таблиця 1. Показники гормонального статусу сироватки крові інтактних та дослідних щурів, (M±δ)

Показники	1 група (інтактні), n=12	2 група (Г), n=12	3 група (ФН+ХС) n=12	4 група (Г+ФН+ХС), n=12	Значення p
ТТГ, мМО/мл	0,02±0,01	0,05±0,01	0,02±0,01	0,12±0,04	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₄ <0,001
вТ ₃ , пмоль/л	5,57±0,91	2,7±1,08	5,17±0,62	1,67±0,21	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₄ <0,05
вТ ₄ , пмоль/л	10,35±2,14	3,57±1,05	12,14±3,28	1,32±0,18	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₄ <0,001
Тиреоїдний індекс (ТІ)	1009,7±553,67	122,08±31,94	1060,68±389,28	27,08±10,34	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₄ <0,001
Кальцитонін, пг/мл	5,15±0,48	4,98±0,72	5,65±0,76	5,15±0,43	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₄ >0,05
Паратгормон, пг/мл	4,24±0,31	5,05±0,48	4,51±0,33	5,78±0,39	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₄ <0,01

Примітка: достовірними вважали значення p<0,05; Г – гіпофункція щитоподібної залози, ФН – фізичне навантаження, ХС – хронічний стрес

Таблиця 2. Біохімічні показники сироватки крові інтактних та дослідних щурів, (M±δ)

Показники	1 група (інтактні), n=12	2 група (Г), n=12	3 група (ФН+ХС), n=12	4 група (Г+ФН+ХС), n=12	Значення р
Кальцій загальний, ммоль/л	2,31±0,18	2,06±0,14	2,31±0,35	2,25±0,17	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₄ <0,05
Кальцій іонізований ммоль/л	0,35±0,07	0,24±0,04	0,30±0,03	0,2±0,03	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₄ <0,05
Фосфор, ммоль/л	1,24±0,37	0,88±0,23	1,19±0,31	1,32±0,39	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₄ <0,05
Магній, ммоль/л	0,44±0,04	0,62±0,19	0,65±0,22	0,96±0,23	p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₄ <0,01
Білок загальний, г/л	65,92±4,06	76,17±4,63	66,5±6,74	76,67±2,46	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₄ >0,05
Альбуміни, г/л	39,5±2,81	41,33±2,19	50,5±3,94	46,17±6,74	p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₄ >0,05
Лужна фосфатаза, ммоль/с/л	4892,5±918,59	4423,33±1363,55	5750,17±1521,65	11747,83±5166,76	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₄ <0,001

Примітка: достовірними вважали значення p<0,05; Г – гіпофункція щитоподібної залози, ФН – фізичне навантаження, ХС – хронічний стрес

відзначено наступні зміни біохімічних показників (табл. 2). Так, рівень іонів магнію суттєво підвищився (на 47,73%, p<0,05) щодо аналогічного показника інтактної групи. При цьому достовірних змін концентрації загального та іонізованого кальцію, неорганічного фосфору в сироватці крові тварин 3-ї групи відносно контрольних даних не встановлено. Натомість вміст альбумінів у щурів цієї групи достовірно збільшився (на 27,85%, p<0,001) щодо рівня інтактних показників. Виявлено відсутність вірогідної розбіжності вмісту загального білка та лужної фосфатази у тварин обох цих груп. У результаті біохімічного аналізу добової сечі (табл. 3) встановлено значні зміни показників мінерального обміну у тварин за умов дії ФН та ХС. Так, рівень магнію достовірно знизився на 41,62% (p<0,001), а фосфору підвищився на 120,57% (p<0,01) відносно таких же даних інтактних щурів. Відсутні вірогідні розбіжності вмісту іонів кальцію в добовій сечі тварин обох цих груп. При проведенні денситометричного дослідження (рис. 1) стегнових кісток щурів, які піддавались дії ФН та ХС, суттєвих відмінностей МЩКТ щодо контрольних даних не виявлено. Таким чином, вплив ФН та ХС виявляється у зростанні рівня магнію та альбумінів у сироватці крові, гіпомагнійурії та гіперфосфурії при відсутності змін МЩКТ.

ФН та ХС на фоні зниженої функції ЩЗ (4 група) призвели до більш значних змін тиреоїдного статусу, про що свідчить достовірне зростання вмісту ТТГ (у 2,4 рази, p<0,001), зниження в Т₃ (в 1,6 рази, p<0,05), в Т₄ (в 2,7 рази, p<0,001) та ТІ (в 4,5 рази, p<0,001) відносно аналогічних даних у тварин із гіпотиреоїдною дисфункцією. Вірогідних змін вмісту кальцитоніну в сироватці крові щурів обох цих

Таблиця 3. Біохімічні показники добової сечі інтактних та дослідних щурів, (M±δ)

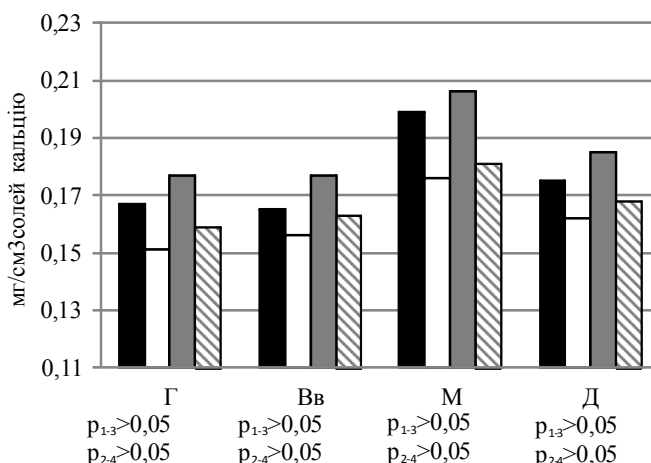
Показники	1 група (інтактні), n=12	2 група (Г), n=12	3 група (ФН+ХС), n=12	4 група (Г+ФН+ХС), n=12	Значення р
Кальцій, ммоль/добу	1,65±0,72	2,62±0,91	1,27±0,72	1,52±0,85	p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₄ <0,05
Фосфор, ммоль/добу	47±21,49	42,83±14,81	103,67±21,49	51,58±27,68	p ₁₋₃ <0,01 p ₂₋₄ >0,05
Магній, ммоль/добу	3,34±0,21	2,8±0,51	1,95±0,21	1,22±0,59	p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₄ <0,001

Примітка: достовірними вважали значення p<0,05; Г – гіпофункція щитоподібної залози, ФН – фізичне навантаження, ХС – хронічний стрес

груп не спостерігалось. Проте рівень паратгормону в крові тварин 4-ї групи підвищився на 14,46% (p<0,01) проти такого ж показника 2-ї групи. У тварин із гіпофункцією ЩЗ, що піддавались дії ФН та ХС, біохімічний аналіз сироватки крові показав достовірне збільшення на 9,22% (p<0,05) концентрації загального кальцію та зменшення на 16,67% (p<0,05) іонізованого кальцію від аналогічних даних у щурів з гіпотиреоїдною дисфункцією. Вміст неорганічного фосфору та магнію в сироватці крові тварин 4-ї групи достовірно підвищився, відповідно, на 50,00% (p<0,05) та 54,84% (p<0,01) відносно рівня 2-ї групи. Не виявлено вірогідних відмінностей концентрації в сироватці крові загального білка та альбумінів вищевказаних груп. Проте в плазмі крові тварин, яким моделювали ФН та ХС на фоні гіпофункції ЩЗ, спостерігали суттєве зростання рівня лужної фосфатази на 165,59% (p<0,001) в порівнянні з щурами із зниженою функцією ЩЗ. Аналіз добової сечі тварин 4-ї групи не показав достовірних змін екскреції фосфору щодо даних 2-ї групи. Однак, у добовій сечі щурів із гіпофункцією ЩЗ, які піддавались дії ФН та ХС, встановлено зменшення концентрації кальцію та магнію, відповідно, на 41,98% (p<0,05) та 56,43% (p<0,001) відносно аналогічних даних тварин з гіпотиреоїдною дисфункцією на тлі відсутності вірогідних змін МЩКТ при денситометричному дослідженні стегнових кісток.

Висновки

Отже, фізичне навантаження та хронічний стрес на тлі гіпофункції щитоподібної залози призводять до значної зміни тиреоїдного статусу. Зокрема виявлено збільшення вмісту тиреотропного гормону гіпофізу, зменшення концентрації вільного трийодтироніну, тироксину і тиреоїдного індексу при підвищенні рівня паратгормону. Встановлено зростання вмісту загального кальцію, неорганічного фосфору, магнію та лужної фосфатази в сироватці крові при зменшенні концентрації іонізованого кальцію, гіпокальціурію та гіпомагнійурію на фоні відсутності змін мінеральної щільності кісткової тканини при порівнянні із аналогічними показниками тварин з гіпотиреоїдною дисфункцією.



Г - головка, Вв- великий вертлюг, М - метафіз, Д - діафіз
 ■ 1 група (інтактні), n=12
 □ 2 група (Г), n=12
 ▒ 3 група (ФН+ХС), n=12
 ▨ 4 група (Г+ФН+ХС), n=12

Примітка: достовірними вважали значення p < 0,05

Рис. 1. Мінеральна щільність стегнових кісток інтактних та дослідних тварин

Перспективи подальших досліджень полягають у більш детальному вивченні змін кальцієвого метаболізму при поєднаному впливі фізичного навантаження та хронічного стресу на фоні гіпофункції щитоподібної залози та пошуку ефективних методів корекції.

Література

1. Валов С. Д. Нейробиологические аспекты регуляции пролиферации, роста и цитодифференцировки железистых эпителиев различного генеза : автореф. дис. на соискание учен. степени док. мед. наук : спец. 03.00.25 «Гистология, цитология, клеточная биология» / С. Д. Валов. – Томск, 2004. – 20, [1] с.
2. Децик О. З. Методичні підходи до узагальнення результатів наукових досліджень / О. З. Децик // Галицький лікарський вісник. – 2011. – Т. 8, № 2. – С. 5 – 8.
3. Контроль вмісту мікроелементів у слині людини /Ф. О. Чмиленко, А. В. Смітюк, Т. С. Чмиленко [та ін.] // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». – 2004. – вип. 23. – С. 41 – 44.
4. Лемешко Б. О нормальности погрешностей измерений в классических экспериментах и мощности критериев, применяемых для проверки отклонения от нормального закона / Борис Лемешко, Андрей Рогожников // Метрология. – 2012. – № 5. – С. 3 – 26.
5. Небожина М. В. Влияние экспериментального гипотиреоза, вызванного введением мерказолила на состояние процессов свободнорадикального окисления в ткани печени в условиях рентгеновского облучения / М. В. Небожина // Эндокринология. – 1999. – Т. 4, № 2. – С. 261.
6. Побігун Н. Г. Кальцій-фосфорний баланс та мінеральна щільність кісткової тканини при експериментальній гіпотиреоїдній дисфункції / Н. Г. Побігун // Галицький лікарський вісник. – 2013. – Т. 20, № 4. – С. 137 – 139.
7. Самойлов Н. Г. Структура скелетных мышц в условиях сочетания денервации, физической нагрузки и лазеропунктуры / Н. Г. Самойлов // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1991. – Т. 100, № 4. – С. 81 – 85.
8. Bagnasco M. Stress and autoimmune thyroid diseases / M. Bagnasco, I. Bossert, G. Pesce // Neuroimmunomodulation. – 2006. – Vol. 13 (5 – 6). – P. 309 – 317.
9. Effect of impact load and active load on bone metabolism and body composition of adolescent athletes / F. Lima, V. De Falco, J. Vaima [et al.] // Med Sci Sports Exerc. – 2001. – Vol. 33, № 8. – P. 1318 – 1323.
10. Effects of sports training and nutrition on bone mineral density in young Indian healthy females / R. Marwaha, S. Puri, N. Tandon [et al.] // Indian J Med Res. – 2011. – Vol. 134. – P. 307 – 313.
11. Holy X. Bone mass increases in less than 4 wk of voluntary exercising in growing rats / X. Holy, E. Zerath // Med Sci Sports Exerc. – 2000. – Vol. 32, № 9. – P. 1562-1569.
12. Stressor states and the cation crossroads / K. T. Weber, S. K. Bhattacharya, K. P. Newman [et al.] // J Am Coll Nutr. – 2010. – Vol. 29 (6). – P. 563 – 574.
13. The effect of acute and regular exercise on calcium, phosphorus and trace elements in young amateur boxers / C. Karakucuk, Y. Polat, Y. Torun [et al.] // Clin Lab. – 2013. – Vol. 59 (5 – 6). – P. 557 – 562.

Побігун Н.Г.

Сравнительная характеристика показателей кальциевого гомеостаза при экспериментальной гиподисфункции щитовидной железы в условиях сочетанного действия хронического стресса и физической нагрузки

Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина

Резюме. Проанализировали сочетанное влияние физической нагрузки и хронического стресса при экспериментальной гиподисфункции щитовидной железы на показатели кальций-фосфорного обмена и минеральную плотность бедренной кости. С этой целью изучили сывороточное содержание тиреоидных гормонов, тиреотропного гормона гипофиза, кальцитонина, паратгормона, общего и ионизированного кальция, неорганического фосфора, магния, общего белка, альбуминов и щелочной фосфатазы, а также концентрацию кальция, фосфора и магния в моче крыс самцов. Минеральную плотность бедренной кости крыс определяли с помощью денситометрии. Гипотиреоидное состояние щитовидной железы моделировали с использованием мерказолила, а физическую нагрузку – бегом в тредбане. Хронический стресс моделировали по методике О. Desiderato в модификации Валова С.Д. В условиях сочетанного действия указанных факторов изменения тиреоидного статуса сопровождались увеличением содержания общего кальция, неорганического фосфора, магния и щелочной фосфатазы в сыворотке крови на фоне уменьшения концентрации ионизированного кальция, гипокальциурии и гипомагнийурии при отсутствии изменений минеральной плотности костной ткани в сравнении с аналогичными показателями животных с гипотиреоидной дисфункцией.

Ключевые слова: гиподисфункция щитовидной железы, физическая нагрузка, хронический стресс, кальций, фосфор.

N.G. Pobihun

Comparative Characteristic of Calcium Homeostasis Indices in Experimental Hypofunction of Thyroid Gland under Conditions of Combined Action of Chronic Stress and Physical Activity

Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

Abstract. The combined influence of physical activity and chronic stress during experimental hypofunction of thyroid gland on the indices of calcium-phosphorus metabolism and femur bone mineral density has been identified. Serum content of thyroid hormones, thyroid stimulating hormone of pituitary, calcitonin, parathormone, total and ionized calcium, inorganic phosphorus, magnesium, total protein, albumins and alkaline phosphatase as well as concentration of calcium, phosphorus and magnesium in urine of male rats has been studied for this purpose. The femur bone mineral density of rats has been tested with the help of the densitometry. The hypothyroid state of thyroid gland has been induced using mercasolil and physical activity – by running on treadmill. The chronic stress has been modelled according to O. Desiderato's method in S. D. Valov's modification. In conditions of combined effects of these factors the changes of thyroid status were accompanied by the increase of total calcium, inorganic phosphorus, magnesium and alkaline phosphatase in blood serum on the background of decrease of ionized calcium concentration, hypocalciuria and hypomagnesuria at the absence of changes of bone mineral density in comparison with the similar indices of animals with hypothyroid dysfunction.

Keywords: hypofunction of thyroid gland, physical activity, chronic stress, calcium, phosphorus.

Надійшла 15.09.2014 року.