

КОНФЕРЕНЦІЇ

Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Бабенківські читання»

УДК 612.35+616-092.9+616.441+577.118

Гураніч Т.В.

Зміни активності NO-синтаз у гомогенаті печінки щурів із гіпофункцією щитоподібної залози на тлі мікроелементозу

ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет”, м. Івано-Франківськ, Україна

e-mail: guranichtanja@ukr.net

Резюме. Дослідження присвячено вивченню змін активності NO-синтаз у гомогенаті печінки щурів із гіпофункцією щитоподібної залози (ГЩЗ) на тлі комбінованого дефіциту йоду та міді. Для досягнення мети щурів обох дослідних груп утримували на йододефіцитній дієті впродовж 45-ти днів, із них з 1-го по 15-й день тварини одержували з питною водою мерказоліл. Дефіцит міді відтворювали шляхом щоденного додавання до питної води d-пеніциламіну (купреніл, 100мг/100г маси тіла, 21 день). У результаті експерименту встановлено, що за умов ГЩЗ на тлі монодефіциту йоду спостерігається позитивна тенденція щодо активації NO-синтаз у гомогенаті печінки. Комбінований дефіцит мікроелементів зумовлює їх достовірну активацію на 50,6–85,8 %. Таким чином, за умов ГЩЗ на тлі комбінованого дефіциту йоду та міді зміни системи синтезу нітрогену оксиду у печінці більш виражені, ніж при монодефіциті йоду.

Ключові слова: гіпофункція щитоподібної залози, монодефіцит йоду, гіпокупринемія, гомогенат печінки, NO-синтази.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

По всій території України спостерігається тенденція до зростання поширеності гіпофункції щитоподібної залози (ГЩЗ). Ряд дослідників пов'язують дану проблему із недостатньою увагою до ролі есенціальних мікроелементів, які включаються в механізми синтезу тиреоїдних гормонів [7]. До них належить і мідь, проте, дані щодо значення цього мікроелемента трактуються неоднозначно. Так, надмірне поступлення до організму мікроелемента виявляє токсичний вплив [5]. У першу чергу такому ефекту можуть піддаватися гепатоцити, адже у печінці відбувається найбільша акумуляція міді та метаболізм її сполук [4]. Відомо, що зміни функціонального стану щитоподібної залози (ЩЗ) здатні суттєво дезорганізувати функціонування багатьох систем організму, що зумовлює поліморфну симптоматику тиреоїдної патології [7]. Одним із таких проявів є порушення у системі синтезу оксиду азоту (NO) та активності NO-синтаз. В останні роки встановлена важлива роль NO у перебігу різних патологічних процесів у печінці. Доведено, що в цьому органі нитрат-іон може діяти і як інгібітор, і як агоніст у механізмах передачі інформації в гепатоцитах, як про- і антиоксидант, як інгібітор чи активатор апоптозу [1]. У той же час, NO здатний ефективно знижувати продукцію та концентрацію вільних радикалів у сироватці крові та тканинах, будучи потужним антиоксидантом. Секреція NO відбувається за участю загальної NO-синтази (NOS) при ферментативному окисненні амінокислоти L-аргініну. Є три ізоензими NOS: NOS I-типу (nNOS) – нейрональна; NOS II-типу (iNOS) – індуцибельна; NOS III-типу (eNOS) – ендотеліальна [6]. Разом із тим, необхідно відзначити, що у літературі є дані, які свідчать, що активація NO-синтаз може бути причиною загибелі макрофагів, тимоцитів, клітин підшлункової залози, м'якоклітинних скелетних м'язів, нейронів та ряду інших клітин організму. Така двоїста дія NO-синтаз не дозволяє однозначно трактувати їх роль у регуляції прооксидантно-антиоксидантного балансу в тканинах [2].

Мета дослідження. Вивчити в експерименті зміни активності NO-синтаз у гомогенаті печінки щурів із гіпофункцією щитоподібної залози на тлі монодефіциту йоду та за умов комбінованого дефіциту йоду й міді.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проводили на 90 нелінійних щурах-самцях масою 150-180 г, яких протягом експерименту утримували на йододефіцитній дієті [10]. Усім тваринам моделювали ГЩЗ шляхом додавання до питної води тиреостатичного препарату мерказолілу (7,5 мг/100г маси тіла) впродовж 15-ти днів [9]. Після цього тварини були розділені на дві дослідні групи. Щурів 1-ї дослідної групи продовжували утримувати на йододефіцитній дієті (ГЩЗ₁, 1-ша дослідна група, n=30). Щурам 2-ї дослідної групи моделювали дефіцит міді (ГЩЗ_{нCu}, n=30) за умов їх перебування на йододефіцитній дієті. Дефіцит міді відтворювали шляхом щоденного додавання до питної води d-пеніциламіну (купреніл, „Polfa” Kutno Pharmaceutical Company, Польща) у дозі 100мг/100г маси тіла з 25-го по 45-й день дослідження [11]. Для порівняння аналогічні показники визначали у 30-ти інтактних тварин (контрольна група), яких утримували в умовах стандартного харчового раціону, звичайного температурного та світлового режиму виварію. Евтаназію здійснювали шляхом декапітації під кетаміновим знечуженням (100 мг/кг маси тіла). Утримання, вигодовування та евтаназія відповідали чинним міжнародним вимогам щодо гуманного відношення до тварин.

Уміст міді в печінці визначали методом атомно-абсорбційної спектроскопії на приладі С-115 ПК (Selmi, Суми) [5]. Характеристику NO-синтазної системи у гомогенаті печінки проводили шляхом визначення активності nNOS, iNOS і eNOS за методом Сумбаєва В. В. та співавт. [8]. Кількісні результати дослідження аналізували за допомогою пакету математичних програм StatisticSoft 7,0 з використанням t-критерію Стьюдента. Статистично достовірно вважали різницю при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Розвиток ГЩЗ на тлі мікроелементозу супроводжувався перерозподілом вмісту міді у печінці (табл. 1). Так, у щурів із ГЩЗ₁ відзначали збільшення рівня мікроелемента на 58,8% ($p < 0,05$) щодо контролю. Натомість, введення тваринам d-пеніциламіну зумовило зменшення рівня міді у печінці на 26,6 % ($p_{1,2} < 0,05$) у щурів 2-ї дослідної групи щодо аналогічних показників у тварин із ГЩЗ на тлі монодефіциту йоду. Зменшення вмісту міді в печінці може негативно відобразитися на синтезі мідьвмісних ензимів, зокрема церулоплазміну, який є важливим компонентом системи антиоксидантного захисту організму.

Дефіцит мікроелементів зумовив зміни активності NO-синтаз у гомогенаті печінки. Так, у тварин із монодефіцитом йоду спостерігали позитивну тенденцію щодо зростання активності усіх досліджуваних NO-синтаз у порівнянні з відповідними даними (табл. 2). У той же час, введення тваринам

Таблиця 1. Уміст міді в печінці інтактних щурів, тварин із гіпофункцією щитоподібної залози на тлі йододефіциту, комбінованого дефіциту йоду та міді (M±m)

| | Контрольна група (n=30) | 1-ша дослідна група (ГЩЗ ₁ , n=30) | 2-га дослідна група (ГЩЗ _{нCu} , n=30) |
|-------------|-------------------------|---|---|
| Мідь, мг/кг | 1,87±0,40 | 2,97±0,20* | 2,18±0,27 $p_{1,2} < 0,05$ |

Примітки: тут і далі * – $p < 0,05$ щодо аналогічних показників у тварин контрольної групи; p із арабськими цифрами – достовірна різниця між показниками відповідних дослідних груп

Таблиця 2. Активність NO-синтаз (нейрональної – nNOS, індукційної – iNOS та ендотеліальної – eNOS) у гомогенаті печінки інтактних щурів, тварин із гіпофункцією щитоподібної залози на тлі йододефіциту, комбінованого дефіциту йоду та міді (M±m)

| Дослідні групи | Печінка | | |
|---|---|--------------------------------------|--|
| | nNOS (нмоль/хв×мг) | iNOS (нмоль/хв×мг) | eNOS (нмоль/хв×мг) |
| Контрольна група (n=30) | 8,14±0,79 | 4,72±0,37 | 3,34±0,30 |
| 1-ша дослідна група (ГЩЗ, n=30) | 9,25±0,81 | 5,20±0,41 | 3,99±0,29 |
| 2-га дослідна група (ГЩЗ _{н-св} , n=30) | 15,74±0,52 ^{##} p _{1,2} <0,001 | 9,66±1,89* p _{1,2} <0,05 | 6,01±0,48 [#] p _{1,2} <0,01 |

Примітка: [#] – p<0,01; ^{##} – p<0,001 щодо аналогічних показників у тварин контрольної групи

d-пеніциламіну зумовило суттєву активацію NO-синтаз. Так, відзначали збільшення активності nNOS, iNOS та eNOS на 70,2% (p_{1,2}<0,001), на 85,8% (p_{1,2}<0,05) та на 50,6% (p_{1,2}<0,01) відповідно щодо аналогічних показників у тварин із ізольованим дефіцитом йоду. Відомо, що при патологічних умовах, зокрема, при запальних і дистрофічних захворюваннях печінки збільшується експресія і активність iNOS, що призводить до значного збільшення рівня NO в організмі. З високою активністю iNOS пов'язують дисфункцію більшості життєво важливих органів. Варто зазначити, що eNOS більше виявляє прогективні властивості NO, такі, як вазодилатація, пригнічення процесів агрегації, відкривання K⁺ (АТФ)-каналів, регуляція коронарної циркуляції крові та серцевих скорочень. Виявлені зміни показників NO-синтазної системи у печінці щурів із ГЩЗ_{н-св} достовірно відрізнялись від аналогічних в інтактних тварин. Так, спостерігали зростання активності nNOS – на 93,4% (p<0,001), iNOS – у 2,1 рази (p<0,05) та eNOS – на 79,9% (p<0,01) щодо аналогічних показників контрольної групи тварин. Проведений кореляційний аналіз виявив залежність між умістом міді в печінці та активністю NO-синтаз. Установлено сильний, зворотний кореляційний зв'язок між умістом мікроелемента й активністю nNOS (r=-0,80) і eNOS (r=-0,80) у гомогенаті печінки, а також прямий зв'язок середньої сили щодо активності iNOS (r=0,53).

Висновки

Враховуючи одержані результати, можна припустити, що ГЩЗ зумовлює зміни NO-синтазної активності у гомогенаті печінки. Комбінований дефіцит йоду та міді чинить більш виражений вплив на систему синтезу нітрогену оксиду, що проявляється зростанням активності усіх NO-синтаз, головним чином, за рахунок iNOS, що, у свою чергу, може призвести до порушення метаболічних процесів у печінці.

Перспективи подальших досліджень

Представляє науковий інтерес більш детальне вивчення показників NO-синтазної системи у печінці за умов комбінованого дефіциту йоду та міді, а також можливості корекції та профілактики виявлених змін. Одержані результати можуть доповнити патогенетичні механізми розвитку ГЩЗ та метаболічних ускладнень із боку окремих органів і систем, у тому числі печінки.

Література

- Гетьман О. И. Динамика показателей оксида азота и продуктов перекисного окисления липидов у больных с артериальной гипертензией / О. И. Гетьман // Український терапевтичний журнал. – 2011. – № 3. – С. 89–92.
- Гжегоцький М. Р. Функціональні прояви та метаболічні основи модулюючого впливу нітриту-натрію в мозку за умов гемічної гіпоксії / М. Р. Гжегоцький, Л. В. Паніна, О. І. Терлецька // Фізіологічний журнал. – 2007. – Т. 53, № 3. – С. 70–78.

3. Маменко М. С. Дифузний зоб у молодших школярів шахтарських міст Луганської області / М. С. Маменко // Здоров'я ребенка. – 2008. – № 3. – С. 32–36.

4. Марушко Ю. В. Значення недостатності вмісту міді в організмі для клінічної практики / Ю. В. Марушко, М. Г. Грачова // Дитячий лікар. – 2013. – № 2. – С. 11–16.

5. Орібко І. Б. Біологічна роль міді в окисно-відновних процесах в організмі / І. Б. Орібко // Новини стоматології. – 2000. – №2. – С. 61–62.

6. Орлова Е. А. Возрастные изменения уровня метаболитов оксида и активности супероксиддисмутазы у интактных крыс и возможность их коррекции / Е. А. Орлова, О. А. Лазарчук // Перспективы медицины та біології. – 2011. – Т. 3, № 1. – С. 93–98.

7. Паньків В. І. Йододефіцитні захворювання: алгоритми діагностики, профілактики, лікування / В. І. Паньків // Здоров'я України. – 2007. – № 5. – С. 52–53.

8. Сумбаев В. В. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге крыс / В. В. Сумбаев, И. М. Ясинская // Современные проблемы токсикологии. – 2000. – № 3. – С. 3–7.

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

10. 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.

11. Masahiko Yamamoto. D-penicillamine – induced copper deficiency insucklingmice: neurological abnormalities and brain mitochondrial enzyme activities / Masahiko Yamamoto et al. // Developmental Brain Research, Tokyo.-1990. – Vol.55. – P.51-55.

Гураніч Т.В.

Изменения активности NO-синтаз в гомогенате печени крыс с гипопункцией щитовидной железы на фоне микроэлементоза

ГВУЗ “Івано-Франківський національний медичинський університет”, г. Івано-Франківськ, Україна

e-mail: guranichtanja@ukr.net

Резюме. Исследование посвящено изучению изменений активности NO-синтаз в гомогенате печени крыс с гипопункцией щитовидной железы (ГЩЗ) на фоне комбинированного дефицита йода и меди. Для достижения цели крыс обеих исследовательских групп содержали на йододефицитной диете в течение 45-ти дней, из них с 1-го по 15-й день животные получали с питьевой водой мерказолил. Дефицит меди воспроизводили путем ежедневного добавления к питьевой воде d-пеницилламина (купренил, 100 мг/100г массы тела, 21 день). В результате эксперимента установлено, что в условиях ГЩЗ на фоне монодефицита йода наблюдается положительная тенденция к активации NO-синтаз в гомогенате печени. Комбинированный дефицит микроэлементов приводит к их достаточной активации на 50,6-85,8%. Таким образом, в условиях ГЩЗ на фоне комбинированного дефицита йода и меди изменения системы синтеза оксида азота в печени более выражены, чем при монодефиците йода.

Ключевые слова: гипопункция щитовидной железы, монодефицит йода, гипокупринемия, гомогенат печени, NO-синтазы.

T.V. Guranych

Changes in No-Synthase Activity in Liver Homogenate of Rats with Hypofunction of the Thyroid Gland on the Background of Microelementosis

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

Abstract. This research highlights the study of changes in NO-synthase activity in liver homogenate of rats with hypofunction of the thyroid gland (HTG) on the background of combined iodine and copper deficiencies. Rats of both groups were kept on iodine-deficient diet for 45 days and received merkazolil with drinking water until the 15th day of the experiment. Copper deficiency was induced by daily addition of d-penicillamine to drinking water (cuprenil, 100mg/100g body weight, for 21 days). It was established that in HTG secondary to iodine deficiency the positive tendency to activation of NO-synthases in liver homogenate was observed. The combined deficiency of microelements caused their reliable activation by 50.6-85.8%. Thus, changes in NO-synthase system in the liver were more expressed in HTG secondary to

combined iodine and copper deficiencies rather than in iodine deficiency.

Keywords: hypofunction of the thyroid gland, iodine deficiency,

hypoproteinemia, liver homogenate, NO-synthases.

Надійшла 05.09.2015 року.

УДК 618.56:616-008.9:616-053.31

Кінаш Н.М.

Особливості гормонального фону та біохімічних показників у вагітних з метаболічним синдромом

Івано-Франківський національний медичний університет

Резюме. Мета: зниження частоти акушерських та перинатальних ускладнень у жінок з надлишковою масою тіла і МС на підставі вивчення клінічних, функціональних, ендокринологічних, біохімічних особливостей, а також розробки і впровадження алгоритму лікувально-профілактичних заходів.

Методи та матеріали. 100 жінок з порушенням жирового обміну, з яких: підгрупа 1.1 – 40 жінок з індексом маси тіла (ІМТ) від 30,0 до 40,0 без ознак метаболічного синдрому (МС); підгрупа 1.2 – 30 жінок з ІМТ від 30,0 до 40,0 та встановленим МС; підгрупа 1.3 – 30 жінок із встановленим МС та ІМТ > 40,0.

Результати дослідження та їх обговорення. Для оцінки основних змін метаболізму в жінок з метаболічним синдромом ми представили порівняльні аспекти основних лабораторних показників по триместрах вагітності, що є методологічно найбільш обґрунтованими.

Висновки. Таким чином, як свідчать результати даної частини нашої наукової праці, метаболічний синдром є істотним чинником ризику розвитку плацентарної недостатності й затримки внутрішньоутробного розвитку, частота й ступінь виразності яких залежать від величини ІМТ. Як свідчать результати даного дослідження, частота репродуктивних втрат, акушерських і перинатальних ускладнень корелює зі ступенем виразності порушень вуглеводного й ліпідного обміну.

Ключові слова: метаболічний синдром, вагітність, біохімія крові, гормони.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Кардинальною ознакою МС є порушення менструальної й генеративної функції на тлі прогресуючого збільшення маси тіла (МТ). Основними скаргами є: порушення менструального циклу, невиношування вагітності, неплідність, надлишкове оволосіння, ожиріння й різноманіття діенцефальних скарг [1, 4, 5]. Причому надлишкову масу тіла пацієнтки переважно пов'язують із ендокринними порушеннями, а не з аліментарними факторами.

Гормональні порушення характеризуються підвищенням у крові концентрацій АКТГ, кортизолу, пролактина. Рівні лютеїнізуючого гормону (ЛГ) і фолікулостимулюючого гормону (ФСГ) можуть бути нормальними, а при формуванні вторинних ПКЯ підвищуються концентрації ЛГ зі збільшенням співвідношення ЛГ/ФСГ до 2,5 - 3. Підвищені також рівні інсуліну й знижені концентрації статевих стероїдів зв'язуючих глобулінів (ССЗГ). Крім того, характерне збільшення вмісту 17-ОП, Т і ДГЕА-С у крові, 17-КС – у сечі [2, 3].

Метаболічний гомеостаз характеризується підвищенням у крові рівня інсуліну, ЛПНЦ і ЛПДНЦ, тригліцеридів, зниженням концентрацій ЛПВЦ. Пероральний глюкозотолерантний тест із визначенням базальних і стимульованих глюкозою (через 2 год. після прийому 75 г глюкози) концентрацій інсуліну й глюкози виявляє порушення толерантності до глюкози. Інформативним також можна вважати визначення індексу НОМА (математична модель), значення якого більше 2,5 свідчать про ІР. Для підрахунку даного індексу необхідні тільки значення базальних концентрацій глюкози й інсуліну, які перемножуються й діляться на 22,5 [4, 6].

Мета: зниження частоти акушерських та перинатальних

ускладнень у жінок з надлишковою масою тіла і МС на підставі вивчення клінічних, функціональних, ендокринологічних, біохімічних особливостей, а також розробки і впровадження алгоритму лікувально-профілактичних заходів.

Матеріал і методи дослідження

100 жінок з порушенням жирового обміну, з яких
- підгрупа 1.1 – 40 жінок з індексом маси тіла (ІМТ) від 30,0 до 40,0 без ознак метаболічного синдрому (МС);
- підгрупа 1.2 – 30 жінок з ІМТ від 30,0 до 40,0 та встановленим МС;

- підгрупа 1.3 – 30 жінок з встановленим МС та ІМТ > 40,0;
Рівень ліпідів визначався в сироватці крові натще (після 12-годинного голодування). ТГ, ЗХ, ЛПНЦ і ЛПВЦ визначали стандартними методиками [4].

Атерогенність ліпідного профілю визначалася не тільки й не стільки за абсолютними значеннями концентрації окремих ліпідів у крові, але й за характером поєднання складу ліпідів і ліпопротеїдів у конкретному випадку – фенотипом дисліпидемії.

Для вивчення вуглеводного статусу визначали натще (після 12-годинного голодування) рівень глюкози в капілярній крові та вміст імунореактивного інсуліну в сироватці крові.

Для виявлення інсулінорезистентності використовували розрахунок індексу Саго, тобто відношення концентрації глюкози в крові (у ммоль/л) до рівня імунореактивного інсуліну (у мкдл/ммоль), а достовірним критерієм інсулінорезистентності є значення цього індексу нижче 0,33 [4].

У всіх обстежених жінок досліджувався вміст у периферичній крові деяких гормонів: пролактину (Прл), естріолу (Е3), прогестерону (Прг), плацентарного лактогену (Плг), хоріонічного гонадотропіну (ХГ), кортизолу (К), дегідроепіандростерон-сульфата (ДГЕА-С), тестостерону (Т), 17-оксипрогестерону (17-ОП) і плацентарних білків: α -фетопротеїну, плацентарного α 1-мікроглобуліна (ПАМГ-1 або РР12), α 2 мікроглобулін фертильності (АМФ або РР14), трофічний β -глокопротеїд (ТБГ або SP1) і тестостеронестрадіолзв'язуючий глобулін (SSBG). Визначення гормонів і плацентарних білків проводилося як радіоімунологічним, так і імуноферментним аналізом за загальноприйнятими методиками [4].

Результати дослідження та їх обговорення

Для оцінки основних змін метаболізму в жінок з метаболічним синдромом ми представили порівняльні аспекти основних лабораторних показників по триместрах вагітності, що є методологічно найбільш обґрунтованими.

Як свідчать дані табл. 1, у жінок різних підгруп діагностовані зміни носили різний характер.

Так, для пацієнток підгрупи 1.1 було характерно достовірне збільшення ($p < 0,05$) вмісту глюкози, імунореактивного інсуліну, ЗХ, β -ліпопротеїдів, ТГ і ЛПНЦ при одночасному зниженні ($p < 0,05$) індексу Саго. За мірою підвищення ІМТ у підгрупах 1.2 й 1.3 описані зміни носили більш виражений характер, про що свідчить зниження коефіцієнта вірогідності до 0,01 й 0,001 відповідно. Отримані результати свідчать про наростання лабораторних ознак метаболічного синдрому вже в 1-му триместрі вагітності, незважаючи на проведені загальноприйнятні лікувально-профілактичні заходи.

В 3-му триместрі вагітності (табл. 2) нами відзначені більш глибокі порушення з боку ЛПВЦ, особливо в підгрупі