

УДК 616.441:616.45-001.1/.3+615/272:612.65

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА И АНТИОКСИДАНТОВ НА ГОРМОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ БЕЛЫХ КРЫС НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА

© 2010 г.

А.Л. Ясенявская

Астраханский госуниверситет

kfg@bio.unn.ru

Поступила в редакцию 09.12.2009

Исследована гормональная активность щитовидной железы в условиях иммобилизационного стресса, введения антиоксидантов, а также их сочетанного воздействия. Результаты исследования гормональной активности щитовидной железы указывают на падение в крови уровня 3-йодтиронина и 4-тироксина под действием иммобилизационного стресса. Анализ последствий от воздействия антиоксидантами выявил характерные различия: у молодых животных оба антиоксиданта способствовали развитию гипотиреоидного состояния; у старых животных антиоксиданты стимулировали синтез гормонов образования.

Ключевые слова: гормоны щитовидной железы, антиоксиданты, иммобилизационный стресс, онтогенез.

С возрастом активность окислительного метаболизма изменяется и его степень обратно пропорциональна продолжительности жизни для различных видов животных [1]. Нарушение баланса про- и антиоксидантных процессов в ходе возрастной инволюции играет немалую роль в развитии возрастзависимой патологии [2, 3]. В этих условиях активация свободнорадикальных процессов коррелирует со снижением эффективности функционирования биологических систем и утилизации свободных радикалов, включающих низкомолекулярные жирорастворимые природные антиоксиданты, в том числе α -токоферол [4].

Изучение роли α -токоферола в антиоксидантной системе организма, при модуляции функционального состояния щитовидной железы осложнено рядом особенностей: высоким уровнем метаболизма щитовидной железы и обильной васкуляризацией ее ткани [5], особенностями системы, генерирующей тиреоидную пероксидазу и, тем самым, увеличивающей ее прооксидантный фон [6, 7]; высокой антиоксидантной активностью тироксина, на три порядка превышающей таковую у α -токоферола [8], наконец, значительной ролью тиреотропной оси (включающей щитовидную железу) в развитии стресса [9].

Возможно, с этими обстоятельствами связана неспецифическая реакция щитовидной железы как на дефицит, так и избыток в организме млекопитающих α -токоферола, выра-

жающаяся развитием гипотиреоидного состояния [10–12].

Таким образом, механизмы взаимосвязи тиреоидной функции и свободнорадикальных процессов остаются недостаточно ясными, особенно в динамике постнатального онтогенеза и при осложнении его стресс-индуцирующими воздействиями. Указанное определило цель данного исследования.

Экспериментальная часть

Опыты поставлены в лаборатории экспериментальной физиологии кафедры физиологии и морфологии человека и животных университета. В экспериментах, состоящих из двух серий, использовано 84 самца беспородных белых крыс двух возрастных групп: 42 старых самца со средней массой 280 г. и 42 молодых со средней массой 75 г.

Крысы содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении и свободном доступе к пище и воде. Продолжительность опытов – 14 дней.

Животных подразделили на следующие группы:

- 1 – интактные (контроль);
- 2 – животные, подвергаемые иммобилизационному стрессу продолжительностью 120 минут ежедневно в течение 7 дней, начиная со второй недели эксперимента;
- 3 – животные, получавшие витамин Е (10%-ный масляный раствор токоферолацетата)

Таблица

Влияние иммобилизационного стресса антиоксидантов на уровень тиреоидных гормонов в плазме крови молодых и старых крыс (у.е.)

Возраст	Трийодтиронин					
	Характер воздействия					
	Контроль	Стресс	Витамин Е	Стресс + витамин Е	Эмоксипин	Стресс + эмоксипин
Молодые	2.17 ± 0.327 □□	1.17 ± 0.286 *	1.58 ± 0.194 ***	2.97 ± 0.360	1.22 ± 0.348 *	0.66 ± 0.124 **
Старые	0.71 ± 0.080	0.59 ± 0.114	1.70 ± 0.283 *	0.42 ± 0.031 **	0.92 ± 0.348	0.88 ± 0.273
	Тетрайодтиронин					
Молодые	3.74 ± 0.039 □□□	3.08 ± 0.180 **	4.29 ± 0.242 *	3.79 ± 0.330 ○	3.37 ± 0.139 *	3.19 ± 0.144 ** ○
Старые	1.44 ± 0.234	0.93 ± 0.128 *	2.82 ± 0.443 *	2.09 ± 0.414 *	1.81 ± 0.411	1.77 ± 0.191 ○○

* – Различия с контролем (* – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$);

○ – различия между действиями антиоксиданта и стресса;

□ – различия между молодыми и старыми крысами.

per os в суточной дозе 0.5 мг/100 г массы тела на всем протяжении опытов;

4 – животные, подвергнутые иммобилизационному стрессу после однонедельного воздействия витамина Е и стрессированные на фоне воздействия витамином Е в течение последующей недели;

5 – животные, получавшие внутримышечный 1%-ный раствор синтетического антиоксиданта эмоксипина в дозе 0.5 мг/100 г массы тела в течение 14 дней;

6 – животные, получавшие в те же сроки эмоксипин и подвергнутые иммобилизационному стрессу в течение последней недели опыта.

Иммобилизационный стресс создавали, помещая животное в пластиковую камеру, ограничивающую их движения в течение 2-х часов при комнатной температуре. По окончании опытов крыс, предварительно наркотизированных внутрибрюшинным введением этиаминала натрия (4 мг /100 г массы тела), декапитировали.

Концентрацию гормонов трийодтиронина и тироксина в плазме крови (предварительно хранившейся при -20°C) определяли с использованием наборов фирмы *Accu-Bind Elisa Microwells* (США) в клинично-диагностической лаборатории МУЗ ДГП № 1. Концентрацию тироксина выражали в мкг/дл, трийодтиронина – в нг/мл. Результаты обрабатывали статистически с использованием алгоритма для определения средней арифметической, ее ошибки и достоверно-

сти различия между средними сопоставляемых групп с помощью критерия *t*-Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты исследований гормональной активности щитовидной железы в динамике постнатального онтогенеза указывают на достоверное снижение уровня тиреоидных гормонов – как трийодтиронина (T_3 ; $p < 0.01$), так и тетрайодтиронина (T_4 ; $p < 0.001$) у старых животных (таблица). Эти данные вполне соответствуют ранее полученным результатам опытов на крысах [13], согласно которым к старости у белых крыс щитовидная железа секретирует меньшее количество тиреоидных гормонов, что подтверждено и в работе [14].

Сравнение содержания в крови T_3 и T_4 как у молодых, так и старых крыс подтвердило также установленные ранее факты существенного превышения уровня T_4 над уровнем T_3 (у молодых крыс $p < 0.01$; у старых $p < 0.05$). Известно, что основное количество присутствующих в крови тиреоидных гормонов представлено тетрайодтиронином [15–17], что обнаружилось и в наших опытах.

Следствием гипокинезии, вызванной повторяющейся иммобилизацией, стало падение уровня в крови обоих тиреоидных гормонов (как у молодых, так и у старых животных). Развитие гипотиреоидного состояния происходило на фоне усиления перекисного окисления липидов, характерного для биохимиче-

ских механизмов возникновения и развития стресса [18].

Анализ последствий от воздействия антиоксидантами выявил характерные различия в реакции щитовидной железы на антиоксиданты у крыс разного возраста: у молодых оба антиоксиданта способствовали развитию гипотиреоидного состояния, что проявилось значительным уменьшением уровня T_3 и T_4 в плазме крови. В тех же условиях у старых животных антиоксиданты стимулировали синтез гормонообразования.

При интерпретации полученных данных необходимо принять во внимание характерный для молодых животных высокий уровень антиоксидантной защиты. Избыток эндогенных антиоксидантов при длительном введении α -токоферола способствовал, вероятно, развитию перенапряжения антиоксидантной системы, что могло вызвать компенсаторную реакцию усиленного радикалообразования в самой щитовидной железе и способствовать торможению инкреции гормонов в кровь. По данным работы [19] накопление природных антиоксидантов (в частности токоферолов) в липидах выше оптимальных концентраций приводит к интенсификации окисления липидов мембран, ускоренной утилизации избытка антиоксидантов и возвращению окислительных реакций на исходный стационарный уровень. Автор рассматривает эту особенность как регуляторную.

К старости, как правило, снижается активность многих процессов, в ходе которых образуются свободные радикалы. Однако, как отмечалось, при этом происходит параллельное снижение мощности и надежности антиоксидантной системы. Воздействие α -токоферола в наших опытах усилило антиоксидантную систему старых животных, что, по-видимому, стимулировало гормонообразование в щитовидной железе крыс.

Этот процесс характерен и для половозрелых белых крыс. Повышение уровня тиреоидных гормонов под влиянием дополнительных доз витамина Е ранее было обнаружено в работе [10]. В тех же опытах найдено сходство в действии на функциональное состояние щитовидной железы витамина Е и синтетического антиоксиданта ионола. Последнее свидетельствует о проявлении в действии витамина Е на гормонопоэз в щитовидной железе главным образом антиоксидантных свойств витамина.

Результаты опытов показали, что вне зависимости от возраста 7-дневное стрессирование сопровождалось подавлением гормонообразования в щитовидной железе. Однако стрессиро-

вание молодых крыс, получавших в те же сроки витамин Е, либо усиливало инкрецию гормонов T_3 , либо доводило их содержание до контрольных показателей.

Эмоксипин в сочетании со стрессом оказал стрессусугубляющий эффект, в отличие от антистрессорного эффекта витамина Е, что проявилось в достоверном снижении содержания трийодтиронина ($p < 0.01$). Эмоксипин в данной дозировке (0.5 мг / 100 г) оказал прооксидантный эффект у молодых животных. Видимо это связано с тем, что воздействие на организм фармакологических веществ, обладающих мощным антирадикальным и антиоксидантным действием, наряду с устранением предпосылок к свободнорадикальной патологии, могут одновременно нарушать окислительно-восстановительное равновесие, тем самым нарушая нормальный физиологический уровень свободных радикалов [20].

В отличие от молодых животных, у старых стрессированных крыс, получавших α -токоферол, содержание трийодтиронина в крови значительно уменьшилось ($p < 0.01$), а тетраiodтиронина – даже несколько возросло ($p < 0.05$) по сравнению с контрольными показателями. Однако в обоих случаях уровень гормонообразования не отличался от такового у стрессированных животных, не получавших антиоксиданты (витамин Е и эмоксипин). В целом, в отличие от молодых животных, значительное уменьшение радикалообразования под действием антиоксидантов у стрессированных животных оказалось, по-видимому, явно недостаточным для нивелирования стрессорного эффекта.

Следует также отметить обнаруженную в наших исследованиях большую стойкость эритроцитов крови к действию гемолитика у молодых крыс, особенно четко проявившую себя в условиях иммобилизационного стресса. Значительно менее эффективным был стресс-протекторный эффект антиоксидантов у старых животных.

Таким образом, на функциональное состояние щитовидной железы оказывает заметное влияние изменение уровня свободнорадикальных процессов и, соответственно, антиоксидантной защиты. Ослабление этой важной системы при старении существенным образом изменяет уровень гормонообразования, особенно синтез «ведущего» тиреоидного гормона – трийодтиронина.

Не исключая непосредственного эффекта возрастного усиления свободнорадикальных процессов на функции щитовидной железы,

следует принять во внимание снижение с возрастом синтеза тиротропина [21] и нарушение нейроэндокринного контроля функции тиреоидного гомеостата, индуцированного ослаблением антиоксидантной защиты [22, 23].

Выводы

1. Согласно полученным данным, воздействие антиоксидантами вызвало формирование различной реакции щитовидной железы у крыс разного возраста: у молодых крыс оба антиоксиданта способствовали значительному уменьшению уровня T_3 и T_4 ; у старых животных антиоксиданты стимулировали синтез гормонообразования.

2. Иммунизационный стресс способствовал падению уровня T_3 и T_4 в обеих возрастных группах, т. е. способствовал развитию гипотиреоидного состояния.

3. У стрессированных молодых животных действие антиоксидантов усиливало инкрецию гормонов (T_3), либо доводило до контрольных показателей. В отличие от молодых животных, значительное уменьшение радикалообразования под действием антиоксидантов у старых стрессированных животных оказалось недостаточным для нивелирования стрессорного эффекта.

Список литературы

1. Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Бутенко Г.М., Шатило В.Б. Пептидные препараты тимуса и эпифиза в профилактике ускоренного старения. СПб.: Наука, 2002. 202 с.
2. Лишнева В.Ю. Реологични властивости крови в осиб похилого веку, хворих на ІХС // Буковинський медичний весник. 2002. Т. 6. № 4. С. 93–96.
3. Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь П.А. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 553 с.
4. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Антиоксиданты в комплексной терапии атеросклероза: pro et contra. М.: Медпрактика, 2003. 83 с.
5. Бобырев В.Н., Почеряева В.Ф., Стародубцев С.Г., Бобырева Л.Е. Специфичность систем антиоксидантной защиты органов и тканей – основа дифференцированной фармакологии антиоксидантами // Эксперим. и клин. фармакология. 1994. Т. 57. № 1. С. 33–36.
6. Рачев Р.Р., Ещенко Н.Д. Тиреоидные гормоны и субклеточные структуры. М.: Наука, 1975. 95 с.
7. Reiter R. J. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain // *Faseb. J.* 1995. V. 9. P. 526–533.
8. Владимиров Ю.А., Апчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 89 с.
9. Тодоров И.Н., Тодоров Г.И. Стресс и старение и их биохимическая коррекция. М.: Наука, 2003. 249 с.
10. Кондратенко Е.И. Исследование влияния естественного и синтетического антиоксидантов на функцию щитовидной железы белых крыс. Автореферат дис. ... канд. биол. наук. Астрахань, 1996. 40 с.
11. Кондратенко Е.И., Дегтярева С.С., Ломтева Н.А. Изучение перекисного окисления липидов и поведенческих реакций у самок крыс в динамике эстрального цикла // Матер. II Всерос. научн. конф. «Эколого-биологические проблемы Волжского региона и Сев. Прикаспия». Астрахань, 20–22 октября 1999 г. С. 49–51.
12. Weiser H., Achterath U., Boguch W. Vitamin E and thyroid system // *Acta agricultur Scandinavica*. 1973. Suppl. 19. P. 208–218.
13. Вержиковская Н.В., Валуева Г.В. Старение и физиологические системы организма. Киев: Наукова думка, 1969. 123 с.
14. Никитин В. Н. Эндокринная система в разные возрастные периоды. Щитовидная железа // В кн.: Возрастная физиология. Серия «Руководство по физиологии». Л.: Наука, 1975. С. 345–348.
15. Балаболкин М.И. Эндокринология. М.: Универсум паблишинг, 1998. С. 225–237.
16. Лейкок Джеон Ф., Вайс Питер Г. Основы эндокринологии. М.: Медицина, 2000. С. 262–311.
17. Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. М.: Мир, 1989. С. 274–314.
18. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б. Перекисное окисление и стресс. СПб.: Наука, 1992. 148 с.
19. Храпова Н.Г. Перекисное окисление липидов и системы, регулирующие его интенсивность // В кн.: Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. М.: Наука, 1981. С. 147–154.
20. Сейфулла Р.Д., Рожкова Е.А., Ким Е.К. Антиоксиданты // *Эксперим. и клин. фармакология*. 2009. Т. 72. № 3. С. 60–64.
21. Ставицкая Л.И., Валдина Е.А. Заболевания щитовидной железы. М.: Красная звезда, 1993. 222 с.
22. Котельников А.В. Роль витамина Е в регуляции проницаемости гистологических барьеров на разных этапах постнатального онтогенеза. М.: Академия естествознания, 2005. С. 93–103.
23. Мажитова М.В., Теплый Д.Л., Глинина А.Г., Кондратенко Е.И. Особенности влияния α -токоферола на уровень перекисного окисления липидов гипоталамуса, больших полушарий головного мозга и печени самцов и самок белых крыс // Тез. докл. V Всерос. конф. «Нейроэндокринология–2000», посвящ. 75-летию А.Л. Поленова. СПб., 18–20 апреля 2000. С. 84–85.

**THE EFFECT OF IMMOBILIZATION STRESS AND ANTIOXIDANTS
ON THE THYROID GLAND HORMONAL ACTIVITY OF WHITE RATS
AT DIFFERENT STAGES OF ONTOGENESIS**

A.L. Yasenyavskaya

Thyroid gland hormonal activity under immobilization stress, administration of antioxidants, and their combined action has been studied.

The results of the study of thyroid gland hormonal activity show a drop in 3-iodothyronine (T3) and thyroxine (T4) blood levels under immobilization stress. Antioxidant impact analysis has revealed some specific distinctions: both antioxidants furthered the development of hyperthyroidism in young rats, while in old animals, the antioxidants stimulated hormonopoiesis.

Keywords: hormones of the thyroid gland, antioxidants, immobilization stress, ontogenesis.