

нова. — 2013. — Т. 99, №4. — С. 417–432. [Zakharov Yu. M., Makarova E.B. Regulation of osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells of bone marrow. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2013; 99 (4): 417–432. (In Russ.)]

3. Камилев Ф.Х., Ганеев Т.И., Фаршатов Е.Р. и др. Ремоделирование костной ткани при действии хлорированных низкомолекулярных алифатических углеводородов // Мед. вестн. Башкортостана. — 2011. — Т. 6, №2. — С. 305–309. [Kamilov F.Kh., Ganeyev T.I., Farshatova Ye.R. et al. Remodelling of bone tissues by the action of chlorinated aliphatic hydrocarbons. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*. 2011; 6 (2): 305–309. (In Russ.)]

4. Карпищенко А.И., Глушков С.И., Смирнов В.В. Глутатион-зависимая антиоксидантная система в некоторых тканях крыс в условиях острого отравления дихлорэтаном // Токсикол. вестн. — 1997. — №3. — С. 17–23. [Karpishchenko A.I., Glushkov S.I., Smirnov V.V. Glutathione-dependent antioxidant system in some tissues in rats at acute dichloroethane poisoning. *Toksikologicheskiy vestnik*. 1997; 3: 17–23. (In Russ.)]

5. Кушлинский Н.Е., Тимофеев Ю.А., Герштейн Е.С. Система RANK/RANKL/OPG при метастазах и первичных новообразованиях костей // Молекулярн. мед. — 2013. — №6. — С. 3–10. [Kushlinskiy N.E., Timofeev Yu.A., Gershtein E.S. RANK/RANKL/OPG system in bone

metastases and primary bone tumors. *Molekulyarnaya meditsina*. 2013; 6: 3–10. (In Russ.)]

6. Омеляненко Н.П., Слущкий Л.И. Соединительная ткань (патогистология и биохимия). В 2 т. / Под ред. С.П. Миронова. — М.: Известия, 2010. — Т. 2. — 600 с. [Omel'yanenko N.P., Slutskiy L.I. et al. *Soedinitel'naya tkan' (patogistologiya i biokhimiya)*. (Connective tissue — pathohistology and biochemistry.) Ed. by S.P. Mironov. Moscow: Izvestiya. 2010; 2: 600 p.]

7. Chen G., Deng C., Li Y.P. FGF-p and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation // *Jnt. J. Biol. Sci.* — 2012. — Vol. 8, N 2. — P. 272–288.

8. Isenmann S., Arthur A., Sannetino A.C. et al. TWIST family of basic helix-loop-helix transcription factors mediate human mesenchymal stem cell growth and commitment // *Stem. Cells*. — 2009. — Vol. 26. — P. 2457–2468.

9. Kabayashi Y. Roles of Wnt signaling in bone metabolism // *Clin. calcium*. — 2012. — Vol. 22, N 11. — P. 1701–1706.

10. Sigalovski S., Shonert M. RANKL-RANK-OPG system and bone remodeling: a new approach on the treatment of osteoporosis // *Clin. Exper. Pathol.* — 2011. — Vol. 10, N 2. — P. 146–153.

11. Van Bezooijen R.L., ten Dijke P., Papapoulos S.E., Lowil C.W. SOST/Sclerostin, in osteocyte — derived negative regulator of bone formation // *Cytokine Growth factor Rev.* — 2005. — Vol. 16. — P. 319–327.

УДК 57.087.1: 612.087: 612.432: 612.441: 612.084: 616.441-008.64

ИССЛЕДОВАНИЕ СООТНОШЕНИЙ ГИПОФИЗАРНО-ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ НА ОСНОВЕ РЕГРЕССИОННОГО АНАЛИЗА

Феликс Хусаинович Камилев¹, Валерий Николаевич Козлов^{2*},
Валерий Нурмухаметович Байматов³, Александр Николаевич Мамцев²,
Денис Юрьевич Смирнов²

¹Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия;

²Филиал Московского государственного университета технологий и управления им. К.Г. Разумовского, г. Мелеуз, Россия;

³Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, г. Москва, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-831

Цель. Разработка математической модели, позволяющей рассчитывать уровни гормонов гипофизарно-тиреоидной системы методом наименьших квадратов у крыс при экспериментальном гипотиреозе.

Методы. Для исследования взаимосвязи уровней гормонов использовали регрессионный анализ. Поиск коэффициентов осуществляли методом наименьших квадратов. Исследования проводили на крысах, которые были разделены на шесть групп по 12 крыс в каждой: первая группа — контрольная, у животных второй, третьей, четвертой, пятой и шестой групп вызывали гипотиреоз ежедневным внутривенным введением тиамазола соответственно в дозах 2,5; 20,0; 10,0; 5,0 и 1,0 мг на 100 г массы тела крысы в течение 3 нед.

Результаты. Проведён регрессионный анализ, выбран вид регрессии и вычислены параметры, на основе полученных результатов проведён статистический анализ взаимосвязи гормонов. Путём сопоставления результатов расчёта лабораторного анализа установлена достаточно высокая надёжность разработанной модели. Отклонение среднего арифметического значения уровня тиреотропного гормона, полученное на основе экспериментальных и расчётных данных, составляет 2,7%. При уменьшении дозы тиреостатика повышалась и точность расчётов уровня тиреотропного гормона. При этом относительная погрешность при расчётах свободного тироксина в этих же группах крыс не превышала 2,15%, составляя 1,64; 1,34; 0,36 и 2,15% соответственно при ежедневном введении 20,0; 10,0; 5,0 и 1,0 мг антигипотиреодного препарата на 100 г массы тела. Можно утверждать о надёжности построенной модели для воспроизведения показателей уровня содержания гормонов гипофизарно-тиреоидной системы.

Вывод. При отсутствии современных высокочувствительных иммунохемилюминесцентных методов диагностики полученные результаты можно использовать для расчёта уровня тиреотропного гормона как одного из ведущих маркеров функционального состояния щитовидной железы.

Ключевые слова: крысы, экспериментальный гипотиреоз, гипофизарно-тиреоидные гормоны, регрессионный анализ.

THE STUDY OF PITUITARY-THYROID HORMONES RATIO BASED ON REGRESSION ANALYSIS

F.Kh. Kamilov¹, V.N. Kozlov², V.N. Baymatov³, A.N. Mamtsev², D.Yu. Smirnov²

¹Bashkir State Medical University, Ufa, Russia;

²The branch of Moscow State University of Technologies and Management named after K.G. Razumovskiy, Meleuz, Russia;

³Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after K.I. Skryabin, Moscow, Russia

Aim. To work up a mathematical model for calculation of the levels of pituitary-thyroid hormones system by least squares method in rats with experimental hypothyroidism.

Methods. To study the relationship of hormones levels regression analysis was used. The search of coefficients was performed using the least squares method. Investigations were carried out on rats, which were divided into six groups of 12 rats each: the first group was control, in the animals of second, third, fourth, fifth and sixth groups hypothyroidism was induced by daily intragastric administration of tiamazol in following doses: 2.5; 20.0; 10.0; 5.0 and 1.0 mg per 100 g of rat body weight for 3 weeks.

Results. Regression analysis was carried out, the type of regression as well as parameters were chosen; statistical analysis of the relationship of hormones was conducted based on the obtained results. By comparing the calculation results of the laboratory analysis sufficiently high reliability of the developed model was set up. The deviation of the arithmetic mean value of the level of thyroid stimulating hormone, produced on the basis of experimental and calculated data, is 2.7%. The accuracy of thyroid stimulating hormone levels calculations increased with the decrease of thyrostatic medication dose. The relative error while calculating the free thyroxine levels in the same groups of rats did not exceed 2.15%, accounting for 1.64; 1.34; 0.36 and 2.15%, respectively, when administered daily 20.0; 10.0; 5.0 and 1.0 mg of antithyroid drug per 100 g body weight. One can argue about the reliability of the constructed model to reproduce the performance levels of the hormones of the pituitary-thyroid system.

Conclusion. In the absence of modern high sensitive immunochemiluminescent diagnostic methods the results can be used for thyroid-stimulating hormone levels calculation as one of the major markers of the thyroid gland functional state.

Keywords: rats, experimental hypothyroidism, pituitary-thyroid hormones, regression analysis.

Особую актуальность исследования в области клинической и экспериментальной эндокринологии приобрели в связи с ростом числа заболеваний щитовидной железы за последние 20 лет. Не последнюю роль играет экспериментальное моделирование функциональной активности щитовидной железы у лабораторных животных [8]. При создании новой модели первое, с чем сталкивается экспериментатор, — вычисление рациональной разовой и курсовой доз препарата, а также способы и режимы его введения [5, 8].

Анализ литературных данных показывает, что используемая авторами суточная доза тиамазола варьирует в достаточно широких пределах — от 0,3 до 20 мг/100 г массы тела крысы. В проведённых ранее исследованиях было показано, что оптимальная суточная доза тиамазола для крыс составляет 2,5 мг/100 г массы тела, вводимая внутривентрикулярно в течение 3 нед [2].

Целью настоящего исследования стала разработка математической модели, позволяющей рассчитывать уровни гормонов гипофизарно-тиреоидной системы методом наименьших квадратов у крыс при экспериментальном гипотиреозе.

Исследования проводили на крысах-самцах с массой тела 180–220 г. Животные были разделены на шесть групп, по 12 животных в каждой: первая — контрольная, у животных второй, третьей, четвёртой, пятой и шестой групп вызвали гипотиреоз ежедневным внутривентрикулярным введением тиамазола соответственно в дозах 2,5; 20,0; 10,0; 5,0 и 1,0 мг на 100 г массы тела крысы в течение 3 нед. Забой животных осуществляли на 22-е сутки

эксперимента под эфирным наркозом путём декапитации.

С целью определения функционального состояния щитовидной железы и коркового вещества надпочечников в сыворотке крови подопытных крыс определяли уровень гормонов щитовидной железы — свободного тироксина (cT_4), общего 3,5,3'-трийодтиронина (oT_3) и тиреотропного гормона (ТТГ) — методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных тест-систем: «ТироидИФА-свободный T_4 », «ТироидИФА-трийодтиронин-01», «ТироидИФА-ТТГ-1», «СтероидИФА-кортизол» (ЗАО «Алкор Био», Россия) с помощью иммуноферментного автоматического анализатора «УНИПЛАН» (Россия).

Уровни ТТГ, oT_3 и cT_4 зависят от многих факторов. В настоящее время cT_4 является одним из определяющих маркёров в оценке функционального состояния щитовидной железы. Независимость уровня cT_4 от содержания белков, связывающих тиреоидные гормоны, позволяет использовать его в качестве надёжного диагностического параметра при всех состояниях, сопровождающихся изменением концентрации тироксинсвязывающего глобулина. При изменении уровня тироксинсвязывающего глобулина расчётные показатели cT_4 более надёжны, чем содержание общего тироксина (oT_4). При этом большинство лекарственных препаратов, искажающих результаты определения oT_4 и oT_3 , не влияет на содержание cT_4 и свободного трийодтиронина (cT_3). В этом принципиальное преимущество определения свободных фракций гормонов.

Практически весь содержащийся в крови

Таблица 1

Значения коэффициентов регрессионного полинома для крыс контрольной группы

	k_1	k_2	k_3	k_4	k_5	k_6	Относительная погрешность, %
(1)	-9,685	18,798	6,64	-0,462	-7,339	1,252	6,04
(2)	-9,992	-2,705	-2,398	6,64	2,608	-1,046	4,53
(3)	7,39	-15,428	-22,144	-0,456	18,712	-2,414	12,92
(4)	-38,133	-55,970	-86,050	36,541	63,602	-13,155	1,42

Таблица 2

Значения коэффициентов регрессионного полинома для группы крыс в состоянии гипотиреоза (тиамазол в дозе 2,5 мг/100 г массы тела)

	k_1	k_2	k_3	k_4	k_5	k_6	Относительная погрешность, %
(1)	-2,014	-0,940	-3,890	1,279	3,2	-0,327	9,88
(2)	-9,414	-6,626	2,054	8,147	1,329	-1,313	3,01
(3)	-61,351	67,886	52,387	23,217	-48,396	2,342	0,84
(4)	-88,673	79,312	63,784	37,337	-59,344	1,796	11,65

T_4 имеет тиреоидное происхождение. В то же время большая часть содержащегося в крови T_3 образуется в результате дейодирования T_4 в периферических тканях, где функционирует дейодиназный комплекс, сопряжённый с системой генерации восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН).

При гипертиреозе и дефиците йода щитовидная железа секретирует T_3 в большом количестве, что обусловлено относительным преобладанием моноидтирозина над диодтирозином. В большинстве клинических случаев уровень oT_3 коррелирует с содержанием oT_4 .

ТТГ также служит стратегическим маркером при оценке функционального состояния щитовидной железы [6]. В основе регуляции секреции ТТГ лежит механизм обратной связи: высокие концентрации cT_4 и cT_3 ингибируют, а низкие – стимулируют выброс ТТГ. Введение oT_3 быстро снижает концентрацию ТТГ. Аналогичное действие оказывает и oT_4 , но для этого его необходимо в 10 раз больше, а торможение длится в 10 раз дольше.

Концентрация сывороточного ТТГ также зависит от функциональной активности коры надпочечников. Повышение количества глюкокортикоидов тормозит секрецию ТТГ и снижает чувствительность тиреотрофных клеток гипофиза к тиреотропин-рилизинг гормону. Для прогнозирования уровня ТТГ в крови животных необходима количественная информация, отражающая связи в гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системе.

В этой связи нами проведены исследования зависимости содержания ТТГ от содержа-

ния oT_3 и cT_4 . Имеющихся экспериментальных данных достаточно для выбора метода обработки. Подтверждением корректного использования регрессионного анализа служит тот факт, что распределение экспериментальных данных далеко от нормального. По этой причине для последующего исследования взаимосвязи гормонов использована регрессионная зависимость в виде полинома второй степени [1].

Обозначим уровень содержания гормонов oT_3 , cT_4 , ТТГ и кортизола в крови x_1 , x_2 , x_3 и x_4 соответственно. Исследуем зависимости между гормонами. Пусть:

$$x_1 = k_{11}x_2^2 + k_{12}x_2x_3 + k_{13}x_3^2 + k_{14}x_2 + k_{15}x_3 + k_{16} \quad (1)$$

$$x_2 = k_{21}x_1^2 + k_{22}x_1x_3 + k_{23}x_3^2 + k_{24}x_1 + k_{25}x_3 + k_{26} \quad (2)$$

$$x_3 = k_{31}x_1^2 + k_{32}x_1x_2 + k_{33}x_2^2 + k_{34}x_1 + k_{35}x_2 + k_{36} \quad (3)$$

$$x_4 = k_{41}x_1^2 + k_{42}x_1x_2 + k_{43}x_2^2 + k_{44}x_1 + k_{45}x_2 + k_{46} \quad (4)$$

где (1) – зависимость уровня oT_3 от cT_4 и ТТГ; (2) – зависимость уровня cT_4 от oT_3 и ТТГ; (3) – зависимость уровня ТТГ от oT_3 и cT_4 ; (4) – зависимость содержания кортизола от oT_3 и cT_4 . Неизвестные коэффициенты k_{ij} найдены методом наименьших квадратов.

Для приведения данных к одному порядку воспользуемся нормировкой (5):

$$||x|| = \sqrt{\sum x_i^2} \quad (5)$$

Для значений уровня каждого гормона найдём норму и, разделив все значения на неё, получим нормированные данные. Полученные результаты представлены в табл. 1 и 2.

Сравнение расчётных и эксперименталь-

Таблица 3

Опытные и расчётные данные содержания общего 3,5,3'-трийодтиронина (oT_3), свободного тироксина (сT_4), тиреотропного гормона (ТТГ) и кортизола у клинически здоровых крыс ($M \pm m, n=12$)

oT_3 , нмоль/л		сT_4 , пмоль/л		ТТГ, мкМЕ/мл		Кортизол, нмоль/л	
Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт
2,35±0,13	2,58±0,19	10,35±0,67	10,89±0,64	0,022±0,002	0,021±0,002	19,08±2,96	20,14±2,72

Таблица 4

Опытные и расчётные данные содержания общего 3,5,3'-трийодтиронина (oT_3), свободного тироксина (сT_4), тиреотропного гормона (ТТГ) и кортизола у крыс при гипотиреозе, индуцированном тиамазолом в дозе 2,5 мг/100 г массы тела ($M \pm m, n=12$)

oT_3 , нмоль/л		сT_4 , пмоль/л		ТТГ, мкМЕ/мл		Кортизол, нмоль/л	
Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт
2,52±0,19	2,85±0,22	4,78±0,52	4,35±0,48	0,030±0,004	0,031±0,006	13,25±2,12	13,61±2,25

Таблица 5

Значения коэффициентов регрессионного полинома для крыс при гипотиреозе (тиамазол в дозе 5,0 мг/100 г массы тела)

	k_1	k_2	k_3	k_4	k_5	k_6	Относительная погрешность, %
(1)	8,504	16,548	-29,984	-9,863	9,336	0,753	36,5
(2)	3,357	0,782	3,044	-2,302	-1,879	0,844	0,36
(3)	-16,602	-45,935	-4,687	22,064	15,624	-4,953	1,52

Таблица 6

Уровни общего 3,5,3'-трийодтиронина (oT_3), свободного тироксина (сT_4), тиреотропного гормона (ТТГ), определённые с помощью иммуноферментного исследования и регрессионного анализа при гипотиреозе у крыс, индуцированном тиамазолом в дозе 5 мг/100 г массы тела ($M \pm m, n=12$)

oT_3 , нмоль/л		сT_4 , пмоль/л		ТТГ, мкМЕ/мл	
Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт
1,70±0,23	1,26±0,13	3,40±0,12	3,19±0,11	0,164±0,010	0,169±0,010

Таблица 7

Значения коэффициентов регрессионного полинома для крыс при гипотиреозе (тиамазол в дозе 1,0 мг/100 г массы тела)

	k_1	k_2	k_3	k_4	k_5	k_6	Относительная погрешность, %
(1)	-0,064	-6,841	1,516	2,198	0,662	-0,115	7,19
(2)	183,098	-190,478	-25,093	-62,719	68,987	1,090	2,15
(3)	33,441	-29,706	-4,013	-12,105	12,444	0,295	3,17

Таблица 8

Уровни общего 3,5,3'-трийодтиронина (oT_3), свободного тироксина (сT_4), тиреотропного гормона (ТТГ), определённые с применением иммуноферментного исследования и регрессионного анализа при гипотиреозе у крыс, индуцированном тиамазолом в дозе 1 мг/100 г массы тела ($M \pm m, n=12$)

oT_3 , нмоль/л		сT_4 , пмоль/л		ТТГ, мкМЕ/мл	
Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт
2,32±0,07	2,19±0,08	8,19±0,80	7,53±1,92	0,216±0,010	0,246±0,020

ных данных для контрольной группы крыс приведено в табл. 3.

Сравнение расчётных и экспериментальных данных для крыс в состоянии экспери-

ментального гипотиреоза приведено в табл. 4.

Результаты математического анализа, представленные в табл. 1 и 2, показывают, что метод регрессионного анализа позволил с вы-

Значения коэффициентов регрессионного полинома для крыс при гипотиреозе (тиамазол в дозе 20,0 мг/100 г массы тела)

	k_1	k_2	k_3	k_4	k_5	k_6	Относительная погрешность, %
(1)	8,504	16,548	-29,984	-9,863	9,336	0,753	24,76
(2)	3,357	0,782	3,044	-2,302	-1,879	0,844	1,64
(3)	-16,602	-45,935	-4,687	22,064	15,624	-4,953	6,86

Таблица 10

Уровни общего 3,5,3'-трийодтиронина (oT_3), свободного тироксина (cT_4) и тиреотропного гормона (ТТГ), определённые с помощью иммуноферментного исследования и регрессионного анализа при гипотиреозе у крыс, индуцированном тиамазолом в дозе 20 мг/100 г массы тела ($M \pm m$, $n=12$)

oT_3 , нмоль/л		cT_4 , пмоль/л		ТТГ, мкМЕ/мл	
Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт
1,44±0,10	1,27±0,17	6,02±0,23	5,81±0,18	0,196±0,020	0,192±0,020

сокой точностью рассчитать концентрацию cT_4 как у клинически здоровых крыс, так и у животных в состоянии гипотиреоза при значениях относительной погрешности в пределах от 3,01 до 4,53%. Коэффициенты (k_1 - k_6), отражающие функциональные взаимосвязи между уровнями гормонов гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы, позволяют устанавливать расчётным путём уровни ТТГ (относительная погрешность не превышает 0,84%) при известных oT_3 и cT_4 у крыс, введённых в состояние гипотиреоза оптимально допустимой дозой тиамазола (2,5 мг/100 г массы тела).

У крыс в состоянии гипотиреоза повышается точность определения cT_4 до 3,01%, что в свою очередь уменьшает значение относительной погрешности для ТТГ до 0,84% (см. табл. 2). Уменьшение погрешностей определения cT_4 и ТТГ у гипотиреоидных крыс соответственно до 3,01 и 0,84% обусловлено тем, что тиреостатик сужает диапазон колебаний концентраций этих гормонов. Дистрофические процессы в печени, а также снижение активности ферментативных систем в условиях дефицита тиреоидных гормонов при экспериментальном гипотиреозе оказывают ингибирующее влияние на процессы периферического дейодирования T_4 , соответственно, увеличивается разброс значений oT_3 и повышается погрешность в расчёте до 9,88% у гипотиреоидных крыс (см. табл. 1 и 2), тогда как у клинически здоровых крыс этот показатель составлял 6,04% [3].

Как показали результаты гистологических исследований, при увеличении дозы тиамазола возрастала выраженность дистрофических процессов в тканях печени и почек, где преимущественно протекают процессы периферического дейодирования T_4 с образованием T_3

[4]. Развитие гистологической картины функционального истощения в этих органах ведёт к увеличению диапазона колебаний уровней oT_3 , что увеличивало относительную погрешность расчётов уровня oT_3 с 7,19 до 36,5% при введении соответственно 1,0 и 5,0 мг тиамазола на 100 г массы тела (табл. 5-8).

Дейодирование наружного кольца (образование T_3) может быть заторможено в различных ситуациях, даже при нормальном функционировании системы «гипоталамус – гипофиз – щитовидная железа». К таким ситуациям относят тяжёлые заболевания, голодание, введение глюкокортикоидов, йодосодержащих препаратов, лечение пропилтиоурацилом, а также тяжёлые поражения печени и почек. На основании этих данных ингибирование или активацию дейодирования наружного кольца T_4 рассматривают как адаптивную реакцию [7].

При блокаде дейодирования T_4 с образованием T_3 большее количество T_4 становится доступным для системы дейодирования его внутреннего кольца и, соответственно, образуется большее количество ревертированного T_3 .

Как уже было указано, дейодирование наружного кольца требует участия НАДФН, именно доступность этого кофактора определяет скорость реакций периферического дейодирования T_4 . При тяжёлых формах гипотиреоза, индуцированного тиамазолом в дозах 20,0 мг и 10,0 мг/100 г массы тела, видимо, резко угнетается активность ферментов пентозофосфатного цикла окисления глюкозы, в ходе которого образуется НАДФН.

Как показали результаты наших экспериментов у крыс с тяжёлой формой гипотиреоза — доза тиамазола составляла 20,0 мг/100 г массы тела (табл. 9 и 10) —

Значения коэффициентов регрессионного полинома для крыс при гипотиреозе (тиамазол в дозе 10,0 мг/100 г массы тела)

	k_1	k_2	k_3	k_4	k_5	k_6	Относительная погрешность, %
(1)	-7,107	50,792	14,284	-9,600	-18,576	3,630	26,12
(2)	-15,384	23,122	15,045	5,392	-16,326	1,425	1,34
(3)	-7,113	-14,369	-10,643	7,898	10,939	-2,404	2,53

Таблица 12

Уровни общего 3,5,3'-трийодтиронина (oT_3), свободного тироксина (сT_4) и тиреотропного гормона (ТТГ), определённые с помощью иммуноферментного исследования и регрессионного анализа при гипотиреозе у крыс, индуцированном тиамазолом в дозе 10 мг/100 г массы тела ($M \pm m$, $n=12$)

oT_3 , нмоль/л		сT_4 , пмоль/л		ТТГ, мкМЕ/мл	
Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт	Опыт	Расчёт
1,64 \pm 0,12	2,28 \pm 0,54	2,70 \pm 0,24	3,14 \pm 0,53	0,118 \pm 0,010	0,102 \pm 0,010

снижался уровень oT_3 по отношению к контрольной группе: концентрация общего 3,5,3'-L-трийодтиронина в сыворотке крови крыс при гипотиреозе составляла 1,44 \pm 0,10 нмоль/л против 1,88 \pm 0,13 нмоль/л у животных контрольной группы ($p < 0,05$). При более лёгких формах гипотиреоза, индуцированного относительно низкими дозами тиамазола (1,0 мг/100 г массы тела), у крыс наблюдались адаптивные реакции функционирования в условиях дефицита йода и воздействия ксенобиотического субстрата: на фоне дефицита сT_4 повышалась концентрация oT_3 до 2,32 \pm 0,07 нмоль/л против 1,88 \pm 0,13 нмоль/л в контроле ($p < 0,01$).

При этом относительная погрешность при расчётах сT_4 в этих же группах крыс не превышала 2,15%, составляя 1,64; 1,34; 0,36 и 2,15% соответственно при введении 20,0; 10,0; 5,0 и 1,0 мг анти тиреоидного препарата на 100 г массы тела животного (табл. 11 и 12, см. табл. 5, 7 и 9).

С уменьшением дозы тиреостатика повышалась и точность расчётов по определению уровня ТТГ: при использовании высоких доз тиреостатика (20 мг/100 г массы тела) относительная погрешность составляла 6,86% (см. табл. 9), а при суточных дозах 10,0; 5,0 и 1,0 мг тиамазола на 100 г массы тела этот показатель соответственно составил 2,53% (см. табл. 11), 1,52% (см. табл. 5) и 3,17% (см. табл. 7). Важно, что параметры (k), вычисленные методом наименьших квадратов, позволяют с достаточно высокой степенью точности рассчитывать у крыс значения диагностических маркёров I и II ступени – соответственно ТТГ и сT_4 .

ВЫВОД

Важнейшим показателем функционального состояния щитовидной железы является уровень тиреотропного гормона, который служит маркёром при эпидемиологических исследованиях. В результате проведённого регрессионного анализа получено уравнение взаимосвязи между уровнями тиреоидных гормонов (общего трийодтиронина, свободного тироксина) и тиреотропного гормона, а также вычислена погрешность расчётов. Разработанная математическая модель вполне приемлема для расчёта уровня тиреотропного гормона. При отсутствии современных высокочувствительных иммунохемилюминесцентных методов диагностики полученные результаты можно использовать для расчёта уровня тиреотропного гормона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Большой энциклопедический словарь «Математика» / Под ред. Ю.В. Прохорова. 3-е изд. – М.: Советская энциклопедия, 1998. – 848 с. [*Bolshoy entsiklopedicheskiy slovar «Matematika»*. (Math. Large encyclopedic dictionary.) Ed. by Prokhorov Yu.V. 3rd edition. Moscow: Sovetskaya entsiklopediya. 1998; 848 p. (In Russ.)]
2. Камиллов Ф.Х., Мамцев А.Н., Козлов В.Н. и др. Активность антиоксидантных ферментов и процессы свободнорадикального окисления при экспериментальном гипотиреозе и коррекции тиреоидных сдвигов йодированным полисахаридным комплексом // Казанский мед. ж. – 2012. – Т. 93, №1. – С. 116–119. [Kamilov F.Kh., Mamtsev A.N., Kozlov V.N. et al. Activity of antioxidant enzymes and processes of free radical oxidation in experimental hypothyroidism and correction of thyroid shifts with iodized polysaccharide complexes. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2012; 93 (1): 116–119. (In Russ.)]
3. Козлов В.Н. Морфофункциональные изменения в печени у белых крыс при экспериментальном гипотиреозе // Ветеринарн. мед. – 2006. – №2–3. – С. 33–35.

[Kozlov V.N. Morphological and functional changes in the liver of white rats with experimental hypothyroidism. *Veterinarnaya meditsina*. 2006; 2-3: 33-35. (In Russ.)]

4. Козлов В.Н. Патоморфологические изменения в почках у крыс при гипотиреозе и его коррекции йодобогатёнными рационами // Рос. ветеринарн. ж. Мелкие домашние и дикие животные. — 2007. — №2. — С. 19-21. [Kozlov V.N. Pathomorphological changes in the hypothyroid rat kidneys and its correction by the iodine enriched rations. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye*. 2007; 2: 19-21. (In Russ.)]

5. Мамцев А.Н., Козлов В.Н., Бондарева И.А. Экспериментальная оценка йодобогатённых рационов питания и кормов на основе хронобиологических исследований и хемилюминесцентного метода анализа. — Уфа: Гилем, 2005. — 107 с. [Mamtsev A.N., Kozlov V.N., Bondareva I.A. *Eksperimentalnaya otsenka yodobogashchennykh ratsionov pitaniya i kormov na osnove khronobiologicheskikh issledovaniy i khemilyuminestsentnogo metoda analiza*. (Experimental evaluation of iodine fortified

diets and feed on the basis of chronobiological research and chemiluminescence analysis method.) Ufa: Gilem. 2005; 107. (In Russ.)]

6. Самсонова Л.Н., Касаткина Э.П. Нормативы уровня тиреоидного гормона в крови: современное состояние проблемы // Пробл. эндокринол. — 2007. — Т. 53, №6. — С. 40-43. [Samsonova L.N., Kasatkina E.P. Standards of blood thyroid-stimulating levels: state-of-the-art. *Problemy endokrinologii*. 2007; 53 (6): 40-43. (In Russ.)]

7. Теннермен Дж., Теннермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. Вводный курс. Пер. с англ. — М.: Мир, 1989. — 656 с. [Tepperman J., Tepperman H. *Metabolic and Endocrine Physiology: An Introductory Text*. Transl. from Engl. Moscow: Mir. 1989; 656.]

8. Яглова Н.В., Яглов В.В., Березов Т.Т. Проблемы экспериментального моделирования гипо- и гипертиреоидных состояний // Вестн. РАМН. — 2009. — №3. — С. 30-35. [Yaglova N.V., Yaglov V.V., Berезov T.T. Problems of experimental simulation of hypo- and hyperthyroidism. *Vestnik RAMN*. 2009; 3: 30-35. (In Russ.)]

УДК 612.084: 612.015.33: 612.015.11: 616.153.478.6: 616.12-009.72

ИЗУЧЕНИЕ ДИСФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ КАРДИОМИОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ И ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА

Дмитрий Валериевич Медведев*, Валентина Ивановна Звягина

Рязанский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, г. Рязань, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-837

Цель. Изучение значения нарушения метаболизма оксида азота для развития митохондриальной дисфункции при гипергомоцистеинемии.

Методы. Исследование проведено на 32 крысах-самцах линии Wistar. Гипергомоцистеинемию моделировали путём внутрижелудочного введения суспензии метионина, приготовленной с использованием крахмала и твина-80, с добавлением этой аминокислоты в питьевую воду. Дефицит оксида азота индуцировали внутрибрюшинным введением раствора метилового эфира L-N^o-нитроаргинина (L-NAME).

Результаты. Гипергомоцистеинемия сопровождается нарушением функционирования митохондрий клеток сердца, выражающимся в нарастании уровня лактата в цитоплазме и развитии оксидативного стресса с усилением карбонилирования белков митохондрий. Оксидативный стресс в значительной мере компенсировался за счёт активации системы антиоксидантной защиты (в том числе посредством супероксиддисмутазы), о чём свидетельствуют незначительное снижение активности сукцинатдегидрогеназы и H⁺-АТФазы, отсутствие статистически значимых изменений активности цитоплазматической лактатдегидрогеназы. Твин-80 проявлял антиоксидантные свойства, снижая содержание карбонильных производных белков и активность супероксиддисмутазы в митохондриях кардиомиоцитов. Дефицит оксида азота, вызванный введением L-NAME, сопровождался торможением в митохондриях клеток сердца процессов аэробного окисления, о чём свидетельствует статистически значимое снижение активности сукцинатдегидрогеназы, а также незначительное падение активности лактатдегидрогеназы и накопление лактата в цитоплазме, и снижение окислительного фосфорилирования, что проявлялось в уменьшении активности H⁺-АТФазы. Одна из причин этих изменений — усиление карбонилирования белков из-за увеличения синтеза активных форм кислорода, которое не компенсируется в достаточной мере повышением активности супероксиддисмутазы.

Вывод. Так как гипергомоцистеинемия сопряжена со снижением концентрации метаболитов оксида азота в митохондриях клеток сердца, а изменения в этих органеллах после введения метионина имеют некоторое сходство с таковыми после введения L-NAME, можно утверждать, что дефицит оксида азота играет важную роль в патогенезе дисфункции митохондрий кардиомиоцитов при гипергомоцистеинемии.

Ключевые слова: гипергомоцистеинемия, оксид азота (II), метиловый эфир L-N^o-нитроаргинина (L-NAME), митохондриальная дисфункция, оксидативный стресс.

THE STUDY OF CARDIOMYOCYTES MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION IN HYPERHOMOCYSTEINEMIA AND NITRIC OXYDE DEFICIENCY

D.V. Medvedev, V.I. Zvyagina

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

Aim. To study the influence of nitric oxide metabolism disturbance on the development of mitochondrial dysfunction in case of hyperhomocysteinemia.

Methods. The research was conducted on 32 Wistar male rats. Hyperhomocysteinemia was simulated by intragastric injection of methionine suspension prepared using starch and Tween-80 with addition of this amino acid into the drinking water. The nitric oxide deficiency was induced by intraperitoneal injection of L-N^o-nitroarginine methyl ester (L-NAME) solution.