

УДК 612.441:612.273.4:577.1561:577.34]-092.9:599.323.41

О.В. Кузнєцова

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Ключові слова: гіпоксія, фотоперіод, протеолітична активність, щитоподібна залоза.**ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ В ТКАНИНІ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ САМОК ЩУРІВ ЗА УМОВ ОДНОЧАСНОЇ ДІЇ ЕКЗОГЕНОЇ ГІПОКСІЇ ТА РІЗНОЇ ДОВЖИНИ ФОТОПЕРІОДУ****Резюме.** В експериментах на статевонезрілих самках білих щурів за умов одночасної дії екзогенної гіпоксії та різної довжини фотоперіоду було встановлено пригнічення протеолітичної активності тканини щитоподібної залози. Комбінований вплив дії стресорів (гіпоксія та повна темрява) спричиняє тотальне пригнічення протеолітичної активності.**Вступ**

Гіпоксія - типовий процес, якій ускладнює протікання різних хвороб. Як відомо, гіпоксія визначає важкість протікання ішемічного ушкодження міокарду, головного мозку, поліорганної недостатності при ДВЗ синдромі, шоківих та колаптоїдних станах, є незмінним супутником захворювань інфекційної та неінфекційної природи, а також стресових ситуацій [1,11]

Невпинне погіршення екології, гіподинамічний спосіб життя людини утримує на високому рівні цікавість до гіпоксії, зумовленою зовнішніми чинниками.

Висока цікавість до функції щитоподібної залози при гіпоксії також зрозуміла: жоден з ендокринних органів не пов'язаний так вірогідно з регуляцією кисневого обміну в організмі, як щитоподібна залоза [6].

Цікавість до вивчення структури та функції щитоподібної залози постійно зростає у зв'язку з важливістю та багатогранністю впливу тиреоїдних гормонів на процеси життєдіяльності [2].

Нині не підлягає сумніву, що регуляція гормональної активності щитоподібної залози здійснюється двома системами - гіпоталамо-гіпофізарною через тиреоліберин і тиреотропін і епіталамо-епіфізарною через мелатонін та епіфізарні пептиди. У свою чергу, активність цих нейроендокринних структур мозку виявляє виражені добові ритми і регулюється циклом світло-темрява [3,4,5,7,9].

Отже, механізми реагування основних регуляторних систем організму на поєднаний вплив тривалої екзогенної гіпоксії та змін довжини фотоперіоду потребують подальшого вивчення

Матеріал і методи

Експерименти проведено на 72 статевонезрілих самицях масою 45-50 г. (віком 5-6 тижнів). Щурів утримували при температурі 20-24 °С на

стандартному вітамінізованому харчовому раціоні з вільним доступом до води. Фотоперіодичні зміни в організмі тварин моделювали протягом одного тижня за допомогою 4-х режимів: природне освітлення (співвідношення світлової та темної фаз складало 16/8), 12 годинне штучне освітлення, цілодобове світло та цілодобова темрява.

За два тижні до початку досліджень визначали чутливість щурів до гіпоксії [8] і в подальшому використовували лише середньостійких до гіпоксії тварин.

Після моделювання фотоперіодичних змін тварини зазнавали впливу хронічної гіпобаричної гіпоксії. Використовували власну модель дослідження, яка певною мірою наближена до фізіологічної гіпоксії і включала: гіпобаричну гіпоксію в проточній барокамері, створювану шляхом розрідження повітря до рівня, що відповідає висоті 4000 м над рівнем моря зі швидкістю "підйому" 0,4 км/хв; утримання тварин за гіпоксичних умов протягом 7 діб по 6 годин щодня (з 9.00 по 15.00) за різних варіантів фотоперіодичних змін освітлення. Щодня протягом 7 діб за вищенаведеними режимами освітлення, після чого всіх тварин декапітували під легким ефірним наркозом.

Тканини внутрішніх органів (щитоподібна залоза) одразу після декапітації щурів заморожували в рідкому азоті. Наважку гомогенізували в 2,0 мл боратному буфері (рН 9.0) і надалі використовували в біохімічному аналізі.

Протеолітичну активність цитратної плазми крові і тканин внутрішніх органів визначали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу ("Simko Ltd", Україна). Принцип методу полягає в тому, що при інкубації білкових азосполук у присутності активаторів та інгібіторів протеолізу, які містяться в плазмі крові і тканинах, відбувається лізис азоальбуміну (деградація низькомолекулярних протеїнів), азоказеїну (протеоліз високомо-

лекулярних білків) та азоколу (колагеноліз), інтенсивність якого оцінюється за ступенем забарвлення інкубаційного середовища.

Визначення сумарного, ферментативного і неферментативного фібринолізу в плазмі крові і тканинах внутрішніх органів проводили за лізисом азофібрину ("Simko Ltd", Україна): при інкубації азофібрину із стандартною кількістю плазміногену в присутності активаторів та інгібіторів фібринолізу, які містяться в плазмі крові або в тканинах, утворюється плазмін, а інтенсивність фібринолізу оцінюється за ступенем забарвлення розчину в лужному середовищі в присутності ϵ -амінокапронової кислоти (неферментативний фібриноліз), або без неї (сумарна фібринолітична активність). Різниця між ними відповідає інтенсивності ферментативного фібринолізу [10].

Обговорення результатів дослідження

При дослідженні впливу комбінованої дії екзогенної гіпоксії за різної довжини фотоперіоду на протеолітичну активність ферментів у статевонезрілих самиць відмічалось (табл.): за умов постійного освітлення інтенсивність протеолітичної деструкції низькомолекулярних білків в тканині щитоподібної залози зростала в 1,7 раза, лізис

високомолекулярних білків в свою чергу зазнавав пригнічення в 1,7 раза, а колагенолітична активність у порівнянні з контрольною групою тварин зменшувалася майже в 2 рази.

При дослідженні впливу повної темряви в статевонезрілих самиць було виявлено збільшення деградації низькомолекулярних білків на 27%, при одночасному пригніченні лізису високомолекулярних в 1,6 раза, та колагеназної активності в 3,7 раза.

Спостерігалися достовірні міжгрупові різниці показників тканинного протеолізу в щитоподібній залозі статевонезрілих самиць за умов постійного освітлення та повної темряви: в останньому випадку інтенсивність протеолітичної деградації низькомолекулярних білків та колагену були відповідно нижче на 24% та 2рази.

Моделювання хронічної гіпобаричної гіпоксії за умов природного освітлення в статевонезрілих самиць у тканині щитоподібної залози призвело до зниження в 2,8 раза лізису низькомолекулярних білків, у порівнянні з контролем, високомолекулярних майже в 2 рази, лізис колагену пригнічувався в 2,6 раза.

При моделюванні гіпоксії за умов постійного освітлення інтенсивність розпаду низькомоле-

Таблиця

Вплив екзогенної гіпоксії за різної довжини світлового дня на протеолітичну активність тканини щитоподібної залози статевонезрілих самиць ($M \pm m_x$)

Серія досліджень	Лізис азоальбуміну $E_{440}/г$ тканини за год	Лізис азоказеїну $E_{440}/г$ тканини за год	Лізис азоколу $E_{440}/г$ тканини за год
Контроль, $n=9$	$542,2 \pm 77,7$	$1064,6 \pm 97,3$	$99,6 \pm 14,6$
Постійне освітлення, $n=9$ 1 серія	$899,1 \pm 68,6$ $p_k < 0,005$	$624,1 \pm 43,5$ $p_k < 0,005$	$55,1 \pm 12,2$ $p_k < 0,005$
Повна темрява $n=9$ 2 серія	$689,5 \pm 85,1$ $p_k < 0,005$ $p_{1-2} < 0,05$	$676,2 \pm 57,1$ $p_k < 0,005$	$27,2 \pm 3,9$ $p_k < 0,001$ $p_{1-2} < 0,001$
Природне освітлення + гіпоксія $n=9$ 3 серія	$195,3 \pm 36,1$ $p_k < 0,001$	$565,0 \pm 89,9$ $p_k < 0,001$	$37,2 \pm 4,2$ $p_k < 0,001$
Постійне освітлення + гіпоксія, $n=9$ 4 серія	$631,5 \pm 64,1$ $p_{3-4} < 0,001$	$312,0 \pm 28,1$ $p_k < 0,001$ $p_{3-4} < 0,005$	$21,2 \pm 2,7$ $p_k < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$
Повна темрява + гіпоксія $n=9$ 5 серія	$409,3 \pm 22,3$ $p_k < 0,01$ $p_{3-5} < 0,001$ $p_{4-5} < 0,005$	$504,7 \pm 82,7$ $p_k < 0,001$ $p_{4-5} < 0,05$	$11,3 \pm 1,7$ $p_k < 0,001$ $p_{3-5} < 0,001$ $p_{4-5} < 0,001$

Примітки: p - ступінь достовірності різниць показників відносно контролю; $p_{n-n'}$ - ступінь достовірності різниць показників у відповідних групах тварин; n - число спостережень

кулярних білків не зазнавала вірогідних змін, у свою чергу лізис високомолекулярних протеїнів та колагеназна активність пригнічувалися відповідно в 3,4 раза та 4,6 раза, порівнянно з контрольною групою тварин.

Відмічаються вірогідні міжгрупові різниці: у щурів при постійному освітленні за умов гіпоксії, на відміну від щурів, які знаходилися в умовах природного освітлення при дії також хронічної гіпоксії в тканині щитоподібної залози - лізис низькомолекулярних білків активізувався в 3,2 раза, протеолітична деградація високомолекулярних білків та колагену зменшувалася в 1,8 раза.

За умов гіпоксії при повній темряві в порівнянні з контрольною групою тварин: відбувається пригнічення інтенсивності розпаду низько- та високомолекулярних білків відповідно на 25% та в 2,1 раза, колагеназна активність зазнала тотального пригнічення - в 8,8 рази.

Варто зазначити, що спостерігалися достовірні міжгрупові різниці, при порівнянні вивчаємих показників у тканині щитоподібної залози статевонезрілих самиць за умов гіпоксії при природньому освітленні, та за умов повної темряви: відмічалася активація низькомолекулярних білків у 2,1 раза, з одночасним пригніченням колагеназної активності в 3,3 раза за умов повної темряви.

При порівнянні досліджуваних показників тварин, які зазнали гіпоксичного впливу та знаходилися в умовах постійного освітлення і повної темряви також відмічалися вірогідні міжгрупові різниці: лізис низькомолекулярних білків та колагену зменшився в 1,5 та 1,9 раза відповідно, казеїнолітична активність навпаки збільшувалася в 1,6 раза за умов повної темряви.

Висновки

1. Постійне освітлення та повна темрява призводить до односпрямованих змін у тканині щитоподібної залози, але більш тотального пригнічення набуває колагенолітична активність ферментів щитоподібної залози за умов повної темряви статевонезрілих самиць.

2. Гіпоксія у статевонезрілих самиць призводить до пригнічення колагеназної активності та лізису азоказеїну й активації розпаду низькомолекулярних білків у щитоподібній залозі за умов постійного освітлення в порівнянні зі щурами з природним режимом освітлення.

3. Комбінований вплив таких факторів як гіпоксія та повна темрява спричиняє тотальне пригнічення протеолітичної активності ферментів у тканині щитоподібної залози статевонезрілих самиць.

4. Інфантильні тварини більш чутливі до стрес-

сових факторів, але здатні до поступової адаптації навіть при комбінованій дії стресорів.

Перспективи подальших досліджень

Будуть продовжені дослідження у вибраному напрямку.

Література. 1. Агаджанян Н.А. Классификация гипоксических, гипо- и гиперкапнических состояний / Н.А. Агаджанян, А.Я. Чижов // Физиол. ж.-2003.-Т. 49, № 3.- С. 11-16. 2. Александрова Н.В. Адаптивно-компенсаторные изменения щитовидной железы при экспериментальной гипоксии / Н.В. Александрова // Вестник Новгородского университета им. Я. Мудрого вып. № 32/ 2005 с.88-91. 3. Анохина С.І. Вивчення змін процесів фібринолізу в тканині щитоподібної залози в статевозрілих самців щурів за умов одночасної дії екзогенної гіпоксії та різної довжини фотоперіоду / С.І. Анохіна, О. В. Кузнецова // Клін. та експерим. патологія, 2013, Т. XII, №1(43) С.- 18-20. 4. Анохіна С.І. Характеристика змін фібрино- та протеолітичної активності плазми крові та тканин внутрішніх органів в освітлених щурів / С.І. Анохіна // Клін. та експерим. патологія, 2016, Т. XV, №1(55).-С. 5-8. 5. Бондаренко Л.О. Мелатонін і гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдна система: Хронобіологічні аспекти / Л.О. Бондаренко, В.О. Дунаєв // Физиол. журнал, 2002. Т. 48., №2. - С. 138. 6. Васильев Е.В. Показатели активности щитовидной железы при действии прерывистой гипобарической гипоксии // Электронный научно-обозреваемый вестник "Здоровье и образование в XXI веке" вып. 3, том 8.- 2006.- С. 138. 7. Воронцов З.А., Смирнов К.А. Синтетические возможности секреторных нейронов гипоталамуса и щитовидной железы в условиях гипоксии // Электронный научно-обозреваемый вестник "Здоровье и образование в XXI веке" вып. 2, том 14.- 2012. 8. Гипоксия и индивидуальные особенности реактивности / Березовский В.А., Бойко К.А., Клименко К.С. и др. / под общ. ред. В.А. Березовского. - К.: Наук.думка, 1978.- 216с. 9. Кузнецова О. В. Влияние гипоксичного прекодицирования на особенности фибринолитического та протеолитического процессов плазмы крови щурів зумовлених темною гіперфункцією епіфіза / О. В. Кузнецова, С. І. Анохіна // Клін. та експерим. патологія, 2015, Т. XIV, №3(53) С.- 77-80. 10. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.03.05 / О.Л. Кухарчук. - Одеса, 1996. - 37 с. 11. Чеснокова Н.П. Современные представления о патогенезе гипоксии. Классификация гипоксий и пусковые механизмы их развития / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // "Современные наукоемкие технологии" - вып.5/ 2006. - С. 23-27.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В ТКАНИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ИНФАНТИЛЬНЫХ САМОК КРЫС ПРИ ОДНОВРЕМЕННОМ ДЕЙСТВИИ ЭКЗОГЕННОЙ ГИПОКСИИ И РАЗНОЙ ДЛИНЫ ФОТОПЕРИОДА

А.В. Кузнецова

Резюме. В экспериментах на инфантильных самках белых крыс в условиях одновременного действия экзогенной гипоксии и различной длины фотопериода было установлено угнетение протеолитической активности ткани щитовидной железы. Комбинированное влияние действия стрессоров (гипоксия и полная темнота) оказывает тотальное угнетение протеолитической активности.

Ключевые слова: гипоксия, фотопериод, протеолитическая активность, щитовидная железа.

DESCRIPTION OF CHANGES PROTEOLYTIC ACTIVITY IN THE THYROID TISSUE INFANTILE FEMALE RATS AT SIMULTANEOUS EXOGENOUS HYPOXIA IN MULTIPLE LENGTHS PHOTOPERIOD

A.V. Kuznetsova

Abstract. In experiments on infantile female white rats with simultaneous exposure to exogenous hypoxia and varying lengths of photoperiod was found inhibition of the proteolytic activity of the thyroid gland. Simultaneous exposure to the action of stress factors (hypoxia and complete darkness) has a total inhibition of the proteolytic activity.

Key words: hypoxia, photoperiod, the proteolytic activity, thyroid gland.

**Higher State Educational Establishment of Ukraine
"Bukovinian State Medical University", Chernivtsi**

Clin. and experim. pathol.- 2016.- Vol.15, №2 (56),p.1.-P.90-93.

Надійшла до редакції 10.06.2016

Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький

© О.В. Кузнєцова, 2016
