

ЭКСПРЕССИЯ КАСПАЗЫ 32 И КАСПАЗЫ 8 В ЯИЧНИКАХ У САМОК КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗАХ ЙОДИДА КАЛИЯ

*Н.Л. Басалаева**, *В.К. Стрижиков***, *О.В. Дружинина****, *Г.В. Сычугов*****

**Региональная дирекция медицинского обеспечения на ЮУЖД,*

г. Челябинск,

***Уральская академия ветеринарной медицины Минсельхоза России,*

г. Троицк,

****Министерство здравоохранения Челябинской области, г. Челябинск,*

*****Областное патологоанатомическое бюро Министерства здравоохранения Челябинской области, г. Челябинск*

Выявлено, что йодид калия оказывает дозозависимое влияние на уровень экспрессии каспазы 8 в яичниках эутиреоидных самок крыс.

Ключевые слова: каспаза 32, каспаза 8, йодид калия, яичники, крысы.

В литературе имеются данные о том, что йодиды стимулируют в щитовидной железе процессы апоптоза [2]. Некоторые исследователи считают, что йодиды влияют на митохондриальный путь программированной гибели клеток как в тканях щитовидной железы [1], так и в экстратиреоидных тканях [4].

Имеются также экспериментальные данные о влиянии йодида калия на выраженность экспрессии каспазы 32 и каспазы 8 в тканях щитовидной железы, гипофиза и яичников [5]. При дальнейших исследованиях было выявлено, что выраженность этого процесса в гипофизе и щитовидной железе дозозависима – активация каспаз возникает только при определенных дозах йодида калия, индивидуальных для гипофиза и щитовидной железы [3]. Оставался открытым вопрос, справедливо ли это утверждение для яичников.

Исходя из вышеизложенного **целью настоящего исследования** стало изучение влияния различных доз йодида калия на экспрессию каспазы 32 и каспазы 8 в яичниках у эутиреоидных самок крыс.

Материалы и методы. В эксперименте, выполненном на кафедре анатомии и гистологии Уральской академии ветеринарной медицины Минсельхоза России (зав. кафедрой – проф. В.К. Стрижиков), были использованы 32 беспородные крысы-самки 6-месячного возраста со средней массой 250 ± 30 г. Животные содержались в виварии со стандартным световым режимом (12 ч света : 12 ч темноты (дневная фаза – с 7:00 до 19:00 летнего времени)) и получали стандартный корм и воду. Эксперимент проводился в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к Приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 775). Самки были взяты на опыт в фазы диэструса и метаэструса. 8 животных составили контрольную группу, 24 – 1, 2, 3 и 4-ю групп

(от 6 до 8 крыс в каждой). Крысам 1–4-й групп однократно через желудочный зонд вводили йодид калия из расчета соответственно 1 мкг/100 г, 4 мкг/100 г, 8 мкг/100 г и 25 мкг/100 г массы животного (м. ж.).

Анализ цикличности функционирования гонад проводился на основании определения гормонов репродуктивной сферы в сыворотке крови и исследования вагинальных мазков.

Все животные были подвержены эвтаназии под эфирным наркозом в период с 11 до 13 ч дневной фазы экспериментальных суток через 48 ч после введения йодида калия. Предварительно у животных проводился забор крови из яремной вены. У всех крыс были изъяты яичники.

Морфологический раздел работы был выполнен в Областном патологоанатомическом бюро Министерства здравоохранения Челябинской области (начальник – канд. мед. наук Г.В. Сычугов) и на кафедре анатомии и гистологии Уральской академии ветеринарной медицины Минсельхоза России (зав. кафедрой – профессор В.К. Стрижиков).

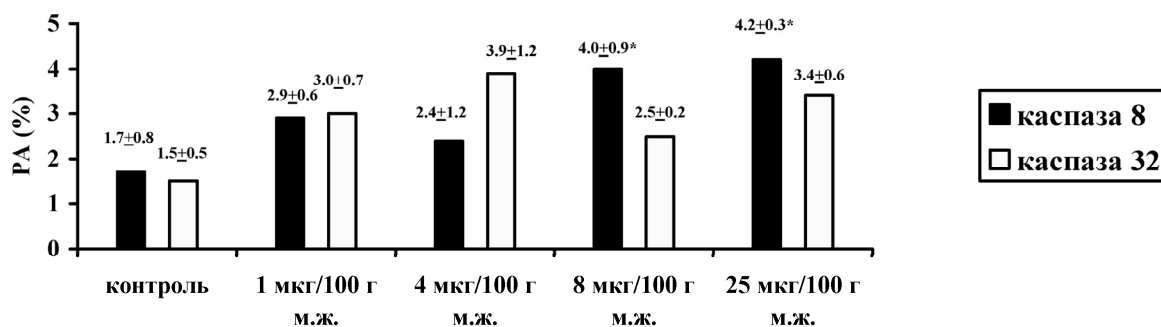
Определение экспрессии каспазы 32 и каспазы 8 в тканях яичников осуществляли стрептавидин-биотиновым методом с помощью моноклональных антител к каспазе 32 (clone GHM62, 1:50 v/v) и каспазе 8 (clone 11 B6, 1:30v/v) (Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK). Было исследовано 32 образца (по 8 образцов в контрольной и второй группах, и по 6 – в первой, третьей и четвертой). Для визуализации антигенреактивных клеток использовали тест-систему «Novostain Universal Detection Kit» (Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK).

Препараты исследовались с помощью светового микроскопа Axiostar plus (Carl Zeiss Jena, Germany), оснащенного 35-мм фотоаппаратом (Cannon Power Shot A520). Подсчет числа клеток с позитивным (коричневым) иммуногистохимическим окрашиванием проводился при увеличении

Проблемы здравоохранения

× 400 по проценту окрашенных клеток (positive area % (РА)). Результаты подвергались автоматизированному количественному анализу с использованием программного обеспечения BioVision Professional 3.0 (West Medica Handels GmbH, Vienna, Austria).

Комплексный статистический анализ был выполнен с использованием пакета прикладных программ Statistica for Windows 6.0. Достоверность различий между группами вычисляли с помощью *t*-критерия Стьюдента. Достоверными считали значения при $p \leq 0,05$.



Динамика изменений экспрессии каспазы 8 и каспазы 32 в яичниках при различных дозах йодида калия. * – $p \leq 0,05$ – различия с контрольной группой

Результаты исследования и обсуждение. Экспрессия каспазы 8 (см. рисунок). Уровень экспрессии каспазы 8 достоверно повышался с $1,7 \pm 0,8$ % РА в контроле до $4,0 \pm 0,9$ % РА после дозы йодида калия 8 мкг/100 г м. ж. ($p < 0,05$) и до $4,2 \pm 0,3$ % РА после 25 мкг/100 г м. ж. ($p < 0,05$).

Экспрессия каспазы 32 (см. рисунок). Повышение экспрессии каспазы 32 было недостоверным при всех дозах йодида калия: от $1,5 \pm 0,5$ % РА в контроле до $3,0 \pm 0,7$ % РА ($p > 0,05$), $3,9 \pm 1,2$ % РА ($p > 0,05$), $2,5 \pm 0,2$ % РА ($p > 0,05$), $3,4 \pm 0,6$ % РА ($p > 0,05$) после доз йодида калия 1, 4, 8 и 25 мкг/100 г м. ж. соответственно. Однако пик экспрессии каспазы 32 наблюдался после дозы 4 мкг/100 г м. ж.

При сравнении влияния различных доз йодида калия на экспрессию каспаз 32 и 8 в тканях яичника, гипофиза и щитовидной железы определяется, что реакция яичника на KI ближе к изменениям в щитовидной железе, чем к гипофизу. В гипофизе экспрессия каспаз 32 и 8 достоверно вырастает при всех исследуемых дозах йодида калия (с 1 до 25 мкг/100 г м. ж.) [3]. В щитовидной железе, как и в яичнике, – только после дозы 8 мкг/100 г м. ж. [3].

Было выявлено и отличие в реакции каспаз между щитовидной железой и яичником: в тканях щитовидной железы повышалась экспрессия эффекторной каспазы 32, а в тканях яичника – инициаторной каспазы 8. Также можно отметить, что

экспрессия каспазы 32 в щитовидной железе изменялась только при 8 мкг/100 г м. ж. [3]. В яичнике реакция каспазы 8 была с более широким диапазоном – достоверный рост был как после 8, так и после 25 мкг/100 г м. ж.

Понимание деталей процессов регуляции каспаз тесно связано с возможностью рационально манипулировать апоптозом с целью получения терапевтических выгод.

По результатам проведенного нами исследования можно предположить, что реакция каспаз на введение йодида калия не только дозозависима, но

и органоспецифична, причем каспазы в тканях экстратиреоидных органов изменяются активнее, чем в тканях щитовидной железы.

Литература

1. Boechat, L. Effect of iodide on Fas, Fas-ligand and Bcl-w mRNA expression in thyroid of NOD mice pretreated with methimazole / L. Boechat, C. Vilella, R. Zollner // Brazil J. Medic. Biol. Res. – 2002. – Vol. 35. – P. 289–295.
2. Influence of iodide and iodolactones on thyroid apoptosis: Evidence that apoptosis induced by iodide is mediated by iodolactones in intact porcine thyroid follicles / R. Langer, C. Burzler, G. Bechtner, R. Gartner // Exper. Clin. Endocrinol Diab. – 2003. – Vol. 111. – P. 325–329.
3. Iodine concentration and signs of apoptosis in the thyroid and pituitary of female rats after different single doses of potassium iodide / N. Basalaeva, G. Sychugov, V. Strizhikov, E. Mikhailova // Endocr. Regul. – 2011. – Vol. 45. – P. 183–190.
4. Molecular iodine induces caspase-independent apoptosis in human breast carcinoma cells involving the mitochondria-mediated pathway / A. Shrivastava, M. Tiwari, A. Sinha et al. // J. Biol. Chem. – 2006. – Vol. 281. – P. 19762–19771.
5. Signs of apoptosis in the pituitary, thyroid and ovaries of female rats after a single dose of potassium iodide. Endocrine Regul / N. Basalaeva, G. Sychugov, N. Miphtakhutdinov, V. Strizhikov // Endocr. Regul. – 2010. – Vol. 44. – P. 83–88.

Поступила в редакцию 14 июня 2012 г.