

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ЙОДИДА КАЛИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА И ГИПОФИЗАРНЫХ ГОНАДОТРОПИНОВ В ГИПОФИЗЕ И КРОВИ У САМОК КРЫС

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

**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 в различных дозах оказывает влияние на тиреотропный гормон и гонадотропины у эутиреоидных самок крыс. Влияние оказывается как на уровень гипофизарных гормонов в крови, так и на их экспрессию в тканях гипофиза.

Ключевые слова: йодид калия, тиреотропный гормон, гипофизарные гонадотропины.

В последние годы физиологическая роль йода в экстратиреоидных тканях вновь вызвала интерес исследователей. Общеизвестно накопление йода в тканях молочной железы, желудка, слюнных желез, матке и яйцеховодах крыс [5].

Накопление йода при йодной нагрузке происходит и в гипофизе самок крыс, однако при проведении исследования была выявлена особенность аккумуляции йодидов в гипофизе: интенсивность накопления йода зависела от дозировки [8]. Была сделана попытка провести аналогию между дозой йодидов и содержанием йода в гипофизе и щитовидной железе самок крыс. Уровень йода в выше-названных органах был определен с помощью количественного рентгеноспектрального микроанализа [6].

Накопление йода в гипофизе начиналось, когда доза KI соответствовала уровню йода в йод-позитивных точках гипофиза (ПИПП) (1 мкг/100 г массы животного (м. ж.)). Аккумуляция йода достигала максимума при дозе, 10-кратно превышающей уровень йода в ПИПП и в 1,5 раза превышающей средний уровень йода в щитовидной железе (8 мкг/100 г м. ж.). При дальнейшем повышении дозы KI (25 мкг/100 г м. ж.) внутриорганный йод в гипофизе не увеличивался и не отличался от контрольных показателей [8].

При исследовании гормонального статуса у самок крыс было выявлено, что введение вышеназванных доз йодида калия оказывает тормозящее влияние на функциональную активность гипофиза:

снижается уровень тиреотропного гормона (ТТГ) и растут показатели фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов, причем выраженность изменений не зависела от дозы KI [3, 4].

Встал вопрос: реагируют ли на введение йодидов морфологические структуры гипофиза – изменяется ли экспрессия гипофизарных гормонов в клеточных структурах гипофиза? Совпадают ли эти изменения с колебаниями уровней гормонов в крови?

Целью настоящего исследования стало изучение влияния различных доз йодида калия на содержание ТТГ и гипофизарных гонадотропинов в крови и их экспрессию в тканях гипофиза 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 34 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

Проблемы здравоохранения

в фазы диэструса и метаэструса. 9 животных составили контрольную группу, 7 – первую. По 6 крыс вошло во 2, 3 и 4-ю группы. Анализ цикличности функционирования гонад проводился на основании определения гормонов репродуктивной сферы в сыворотке крови и исследования вагинальных мазков.

Крысам 1, 2, 3 и 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 м. ж.

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 гипофизы.

В сыворотке крови животных определяли содержание ТТГ, ФСГ и ЛГ методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов тест-систем ОАО «Алкор-Био» (Санкт-Петербург, Россия). Исследования проводили на иммуноферментном автоматическом анализаторе (фотометр «BIO-RAD model 680 MR 12726», США) в иммунологической лаборатории НУЗ «Дорожная клиническая больница ОАО „РЖД“ на ст. Челябинск».

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 Уральского академии ветеринарной медицины Минсельхоза России (зав. кафедрой – профессор В.К. Стрижилов).

Определение экспрессии ТТГ, ФСГ и ЛГ в тканях гипофиза осуществляли стрептавидин-биотинным методом с помощью моноклональных антител (МКАТ) к ТТГ (clone QB2/6, 1:200 v/v), ФСГ (clone INN-hFSH-60, 1:2500 v/v) и ЛГ (clone C93, 1:75 v/v) (Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK).

Имуногистохимическому исследованию были подвергнуты 34 гипофиза. Материал фиксировали 10%-ным нейтральным формалином в течение 24 ч, обезвоживали и подвергали парафиновой заливке. Срезы ткани толщиной 5 мкм помещали на покрытые силаном предметные стекла, депарафинировали, обезвоживали и отмывали в растворе трис-буфера при pH 7,2–7,4.

Для восстановления антигенной активности срезы обрабатывали 0,01 М – цитратным буфером с pH 6,0 в течение 30 мин в СВЧ печи при 95 °С. Затем срезы инкубировали с 0,3%-ным пероксидом водорода для блокирования эндогенной активности пероксидазы в течение 5 мин, обрабатывали нормальной 1%-ной лошадиной сывороткой в течение 30 мин при комнатной температуре для снижения неспецифического связывания и инкубировали со специфическими первичными антителами в рабочих разведениях при 40 °С в течение 12 ч.

Для визуализации антигенреактивных клеток использовали тест-систему «Novostain Universal Detection Kit» (Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK). После окончания инкубации с первичными антителами препараты обрабатывали сначала вторичными биотинилированными, затем третичными стрептавидиновыми антителами. После проведения иммуногистохимической реакции срезы окрашивали гематоксилином и заключали в канадский бальзам.

Препараты исследовались с помощью светового микроскопа Axiostar plus (Carl Zeiss Jena, Germany), оснащенного 35-мм фотоаппаратом (Cannon Power Shot A520). При просмотре препаратов на светооптическом уровне антигенпозитивные клетки идентифицировали по их коричневому окрашиванию. Подсчет числа клеток с позитивным иммуногистохимическим окрашиванием проводился при увеличении $\times 400$. Результаты реакции с антигенами оценивали с помощью автоматизированного количественного анализа с использованием программного обеспечения BioVision Professional 3.0 (West Medica Handels GmbH, Vienna, Austria) по проценту окрашенных клеток (positive area % (PA%)).

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 $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. Результаты исследования гипофизарных гормонов приведены на рис. 1–3.

В контрольной группе показатели ТТГ соответствовали эутиреоидному состоянию животных,

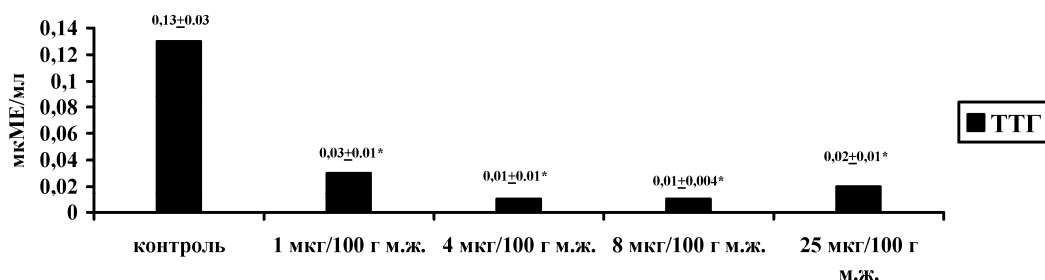


Рис. 1. Динамика изменений ТТГ в крови при различных дозах йодида калия. Здесь и на рис. 2, 3 знак * – $p \leq 0,05$ – различия с контрольной группой

ФСГ и ЛГ – диэструсу и метаэструсу, не отличаясь от литературных данных [1, 2].

После введения йодида калия у всех крыс в крови наблюдалось снижение ТТГ в сочетании с подъемом ФСГ и ЛГ. Эти изменения были максимально выражены при дозах KI 4 и 8 мкг/100 г м. ж.

Динамика изменений экспрессии ТТГ, ФСГ и ЛГ в гипофизе несколько отличалась от динамики изменений параметров гормонов в крови. Так, достоверное снижение уровня экспрессии ТТГ (более чем в 2 раза) начиналось с дозы 4 мкг/100 г м. ж. При нарастании дозы йодида калия выраженность снижения экспрессии ТТГ уменьшалась.

Экспрессия ФСГ и ЛГ в тканях гипофиза максимально (более чем в 2 раза) возрастала также при дозе 4 мкг/100 г м. ж. При увеличении дозы KI сохранялось повышение экспрессии ФСГ, а показатели ЛГ достоверно не отличались от уровня контрольной группы.

При анализе результатов проведенного нами исследования можно предположить, что воздействие доз йодида калия, соответствующих содержанию йода в гипофизе и щитовидной железе, привело к снижению функции гипофиза у самок крыс – гипофизарному гипотиреозу и персистирующему эструсу.

Было установлено, что ФСГ и ЛГ реагировали на йодид калия сочетанно с изменениями ТТГ. Реакция происходила как на уровне показателей в крови, так и на уровне морфологических структур. Однако если изменения уровня гормонов в крови наблюдались при всех исследуемых дозах йодида калия, то одновременная вариабельность экспрес-

сии гормонов в гипофизе – только при дозе KI, 5-кратно превышающей уровень йода в ПИПП (4 мкг/100 г м. ж.).

Уровень гипофизарных гормонов в крови изменялся начиная с дозы йодида калия, соответствующей уровню йода в йод-позитивных точках гипофиза (1 мкг/100 г м. ж.). Экспрессия гипофизарных гормонов в тканях гипофиза начинала варьировать при дозе KI, 5-кратно превышающей уровень йода в ПИПП (4 мкг/100 г м. ж.).

При дозе йодида, соответствующей среднему уровню йода в щитовидной железе (8 мкг/100 г м. ж.), достоверно менялась только экспрессия ТТГ.

При воздействии 25 мкг/100 г м. ж. наблюдался интересный феномен: изменилась экспрессия не только ТТГ, но и ФСГ, однако экспрессия ЛГ достоверно не отличалась от показателей контроля. Эти данные соответствовали полученным ранее результатам: при дозе 25 мкг/100 г м. ж. прогестерон, в отличие от эстрадиола, не отличался от уровня контрольной группы [8]. Можно предположить, что гипофизарные гонадотропины индивидуально чувствительны к различным дозам йода.

Ранее исследователями проводились попытки оценить экспрессию ТТГ в гипофизе при воздействии различных доз йодидов. Однако авторы применяли значительно большие дозы препаратов, и оценка экспрессии ТТГ была затруднена выраженными явлениями гипертрофии аденоцитов гипофиза [7].

Таким образом, при анализе результатов проведенного нами исследования выявлено, что калий-йодид в дозах, кратных содержанию йода в гипофизе и щитовидной железе, влиял на экспрессию

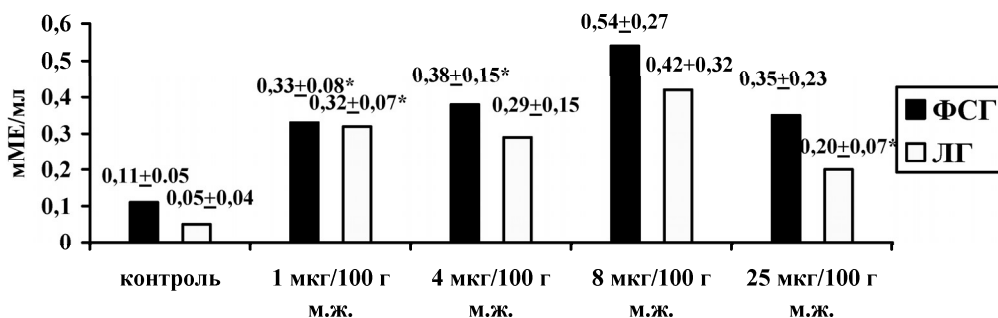


Рис. 2. Динамика изменений ФСГ и ЛГ в крови при различных дозах йодида калия

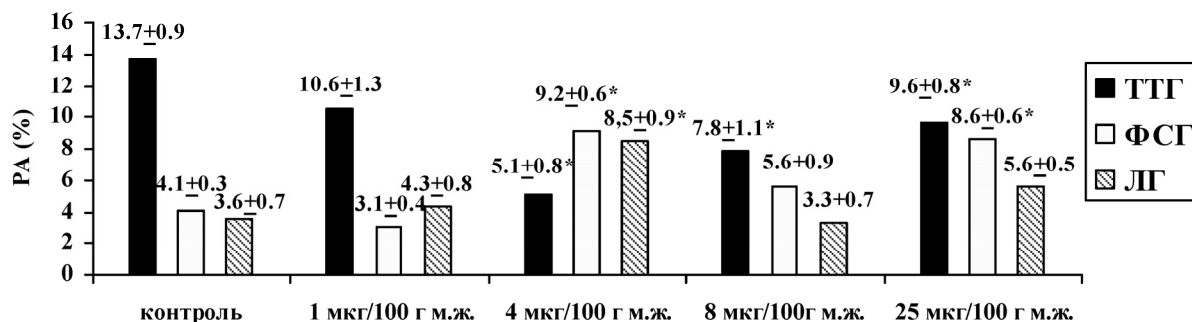


Рис. 3. Динамика изменений экспрессии ТТГ, ФСГ и ЛГ в гипофизе при различных дозах йодида калия

гипофизарных гормонов в клеточных структурах гипофиза, причем дозозависимо. Одновременно гуморальные и местные иммуногистохимические параметры ТТГ, ФСГ и ЛГ изменялись начиная с концентраций KI, 5-кратно превышающих уровень йода в йод-позитивных точках гипофиза.

Литература

1. Анисимов, В.Н. Световой режим, мелатонин и риск развития рака / В.Н. Анисимов, И.А. Виноградова // *Вопросы онкологии*. – 2006. – Т. 52, № 5. – С. 491–498.
2. Козлов, В.Н. Интегральная оценка и коррекция тиреоидзависимых морфофункциональных нарушений у животных: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / В.Н. Козлов – М., 2008. – 38 с.
3. Особенности влияния йодида калия на функциональные параметры тиреоидной и репродуктивной системы самок крыс / Н.Л. Басалаева, В.К. Стрижиков, Н.Т. Мифтахутдинов и др. // *Вестник ЮУрГУ. «Образование, здравоохранение, физическая культура»*. – 2010. – Вып. 23. – № 19 (195). – С. 77–79.
4. Особенности влияния различных доз йодида калия на функциональные параметры тиреоидной и репродуктивной системы самок крыс / Н.Л. Басалаева, В.К. Стрижиков, Н.Т. Мифтахутдинов и др. // *Вестник ЮУрГУ. «Образование, здравоохранение, физическая культура»*. – 2011. – Вып. 26. – № 7 (224). – С. 72–74.
5. Cann, S. Hypothesis: Dietary Iodine Intake in the Etiology of Cardiovascular Disease / S. Cann // *J. Amer. Coll. Nutrition*. – 2006. – Vol. 25. – P. 1–11.
6. Expression of NIS in the thyroid and pituitary of female rats after a single dose of potassium iodide / N. Basalaeva, G. Sychugov, V. Strizhikov, E. Mikhailova // *Endocr. Regul.* – 2011. – Vol. 45. – P. 23–28.
7. Histological Study on TSH Cells of Postnatal Rats with Iodine Excess / Li Jin-ru, Li-na Zheng, Hao Liu, Jin-bao Liu // *Chinese Journal of Comparative Medicine*. – 2007. – Vol. 7. – P. 390–392.
8. 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.

Поступила в редакцию 16 июня 2012 г.