

## Состояние процессов пероксидации в тканях поверхности глаза при моделированном гипотиреозе

Г. И. Дрожжина<sup>1</sup>, д-р мед. наук, профессор; М. И. Павловский<sup>2</sup>, аспирант;

Г. Я. Павловская<sup>3</sup>, канд. мед. наук

<sup>1</sup> ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины» Одесса (Украина)

<sup>2</sup> Львовская областная клиническая больница Львов (Украина)

<sup>3</sup> Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого; Львов (Украина)

E-mail: lvivmic87@gmail.com

### Ключевые слова:

гипотиреоз, эксперимент, слеза, роговица, конъюнктива, малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты

**Актуальность.** Гипотиреоз – это клинический синдром, развитие которого обусловлено стойким дефицитом гормонов щитовидной железы в организме.

Среди заболеваний щитовидной железы гипотиреоз является наиболее частой патологией, которая в связи с неспецифичностью клинических признаков на ранних стадиях заболевания диагностируется довольно поздно. Распространенность гипотиреоза в общей популяции составляет 3,7-4,6% и зависит от пола, возраста, уровня потребления йода. Чаще болеют женщины, у которых его частота в старших возрастных группах

**Актуальность.** Известно, что снижение уровня тиреоидных гормонов (ТГ) приводит к развитию гипотиреоза и сопровождается метаболическими, функциональными и структурными изменениями в разных органах и тканях, в том числе, в глазу – в слезных железах. Однако эти изменения в конъюнктиве, роговице и слезной жидкости не изучены. В эксперименте показано, что снижение уровня ТГ способствует развитию синдрома «сухого глаза». Доказано, что гормоны щитовидной железы (ЩЗ) индуцируют изменения в слезной железе и влияют на эпителий тканей поверхности глаза. Однако механизмы этого влияния на ткани поверхности глаза не изучены. Не выясненными до настоящего времени остаются изменения в тканях поверхности глаза при гипотиреозе.

**Цель.** Изучить в эксперименте на модели гипотиреоза у крыс состояние процессов перекисного окисления липидов в роговице, конъюнктиве и слезной жидкости.

**Материал и методы.** Исследования проведены на самцах белых крыс линии Вистар. Всего использовали 42 животных, которые были рандомизировано разделены на три группы: I группа – контрольная (14 крыс), II группа – опытная (14 крыс), животные с легкой начальной стадией гипотиреоза, III группа - опытная (14 крыс), животные с выраженной стадией гипотиреоза. Гипотиреоидизм вызывали с помощью антитиреоидного препарата Тиамазол, который опытные группы животных получали с питьевой водой, при моделировании начальной стадии гипотиреоза – в течение четырех недель, выраженной стадии – в течение десяти недель. В тканях роговицы, конъюнктивы и слезной жидкости спектрофотометрически определяли содержание малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов.

**Результаты.** При экспериментальном гипотиреозе выявлена активация процессов пероксидации в тканях поверхности глаза - концентрация МДА и диеновых конъюгатов повышена в конъюнктиве (на 85,6 и 55,6%) и роговице (на 51,3 и 25,4% соответственно), особенно в выраженной стадии гипотиреоза. Степень повышения уровня продуктов перекисного окисления липидов, в частности, их конечного компонента – МДА, зависит от стадии гипотиреоза. Наибольшие значения этого показателя характерны для выраженной стадии гипотиреоза. Особо резкое увеличение концентрации МДА наблюдалось в слезной жидкости (на 70,2% в начальной и на 101,3% – в выраженной стадиях гипотиреоза).

**Выходы.** Повышение концентрации МДА в роговице, конъюнктиве, а особенно, в слезной жидкости свидетельствует об активации процессов перекисного окисления липидов и зависит от стадии развития экспериментального гипотиреоза. Полученные результаты позволяют рассматривать уровень МДА в слезе как биохимический показатель повреждения тканей поверхности глаза при гипофункции ЩЗ.

достигает 12,0-21%. Манифестная форма гипотиреоза наблюдается в 0,2-2% случаев. Субклинический гипотиреоз выявляется у 7-17% женщин и 2-3% мужчин. У 95% больных наблюдается первичный гипотиреоз, наиболее частыми причинами которого являются аутоиммунный тиреоидит, хирургическое вмешательство на щитовидной железе и лечение радиоактивным йодом [7, 12, 16].

Распространенность гипотиреоза делает актуальной эту проблему не только для эндокринологов, но и для врачей других специальностей, в частности, офтальмологов.

Гормоны щитовидной железы играют важную роль в регуляции различных метаболических процессов в организме. Установлено, что недостаточное поступление в организм гормонов щитовидной железы (ЩЖ) ведет к нарушению белкового, углеводного, липидного, водно-солевого и энергетического обмена в организме. Одной из основных функций тиреоидных гормонов (ТГ) является регулирование клеточного дыхания. При дефиците ТГ происходит снижение потребления кислорода тканями, а также расходования энергии и утилизации энергетических субстратов, что ведет к развитию окислительного стресса [14].

Как известно, к развитию гипотиреоза приводит снижение уровня тиреоидных гормонов в организме, что сопровождается метаболическими, функциональными и структурными изменениями в различных органах и тканях, в том числе в глазу и, в частности, в слезных железах. В экспериментальных исследованиях было установлено, что снижение уровня тиреоидных гормонов вызывает развитие синдрома «сухого глаза» (ССГ). Показано, что гормоны ЩЖ индуцируют изменения в слезной железе и оказывают прямое влияние на эпителий тканей поверхности глаза. Однако механизмы этого влияния на ткани поверхности глаза не изучены. Не выясненными также являются изменения в тканях поверхности глаза при гипотиреозе [1, 3, 9, 11, 17].

Анализ литературных источников и наши наблюдения свидетельствуют о том, что различные офтальмологические изменения являются частыми клиническими проявлениями гипофункции ЩЖ и отражают степень её выраженности. Исследование органа зрения имеет важное значение в диагностике, а также в оценке тяжести и эффективности лечения больных гипотиреозом [16, 19].

Необходимо отметить, что исследования процессов пероксидации в тканях переднего отдела глаза в условиях развития гипотиреоза могут способствовать поиску новых эффективных методов коррекции метаболических и функциональных нарушений при этом заболевании.

**Цель работы:** изучить в эксперименте на модели гипотиреоза у крыс состояние процессов перекисного окисления липидов в роговице, конъюнктиве и слезной жидкости.

#### Материал и методы исследования

Для проведения экспериментов были использованы самцы белых крыс линии Вистар массой 190–210 г.

Работа с животными проводилась с учетом Международных руководящих принципов для биомедицинских исследований с участием животных, предложенных на Совете международных медицинских научных организаций (2012 г.).

Всего было использовано 42 животных, рандомизированно разделенных на три группы: I группа – контрольная (14 крыс), II группа – опытная (14 крыс), животные с начальной (легкой) стадией гипотиреоза, III группа – опытная (14 крыс), животные с выраженной стадией гипотиреоза.

Гипотиреоидизм вызывали с помощью антитиреоидного препарата Тиамазол, который опытные группы животных получали с питьевой водой (500 мг/л). При моделировании начальной (легкой) формы гипотиреоза, животные получали тиамазол в течение четырех недель [6, 13]. Моделирование выраженной формы гипотиреоза проводили в течение 10 недельного приема препарата [8]. Обе группы животных после окончания периода моделирования гипотиреоза были выведены из эксперимента с помощью избыточной анестезии этиловым эфиром.

Для исследования брали ткани роговой оболочки и конъюнктивы, а слезную жидкость собирали с помощью модифицированного теста Ширмера [8] перед выведением животных из эксперимента. В исследуемых тканях спектрофотометрически определяли содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов [5].

Полученные результаты содержания малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в тканях роговицы, конъюнктивы и слезной жидкости подвергались статистической обработке с помощью пакета SPSS 11.0 [2].

#### Результаты

Данные о содержании продуктов перекисного окисления липидов в тканях поверхности глаза при экспериментальном гипотиреозе отражены в таблице 1.

Содержание малонового диальдегида в роговице животных в начальной стадии гипотиреоза было повышенено до  $(362,70 \pm 24,87)$  нмоль/г, что составило  $-135,2\%$ , по сравнению с контролем  $(268,20 \pm 18,35)$  нмоль/г ( $p < 0,05$ ). В выраженной стадии гипотиреоза концентрация малонового диальдегида возрастила до  $(405,78 \pm 28,70)$  нмоль/г, составляя  $151,3\%$  относительно показателя контроля ( $p < 0,01$ ).

Концентрация диеновых конъюгатов в роговице животных в начальной стадии гипотиреоза повышалась до  $(83,40 \pm 5,12)$  нмоль/г, что составило  $-115,3\%$ , по сравнению с контролем  $(72,34 \pm 4,26)$  нмоль/г. В выраженной стадии гипотиреоза содержание диеновых конъюгатов увеличилось до  $(90,71 \pm 6,03)$  нмоль/г, составляя  $125,4\%$  относительно показателя контроля ( $p < 0,05$ ).

Как видно из данных таблицы 1, содержание малонового диальдегида в конъюнктиве животных в начальной стадии гипотиреоза существенно возрастило до  $(656,83 \pm 48,60)$  нмоль/г, что составило  $170,5\%$ , сравнительно с контролем  $(385,24 \pm 24,30)$  нмоль/г ( $p < 0,001$ ). В выраженной стадии гипотиреоза концентрация малонового диальдегида в конъюнктиве увели-

**Таблица 1.** Содержание продуктов перекисного окисления липидов в тканях поверхности глаза при экспериментальном гипотиреозе (n=14)

Биохимические показатели	Стат. показатели	Условия эксперимента		
		Контроль	Начальная стадия гипотиреоза	Выраженная стадия гипотиреоза
Роговица, нмоль/г				
Малоновый диальдегид	M m p %	268,20 18,35 - 100,0	362,70 24,87 <0,05 135,2	405,78 28,70 <0,01 151,3
Диеновые конъюгаты	M m p %	72,34 4,26 - 100,0	83,40 5,12 >0,05 115,3	90,71 6,03 <0,05 125,4
Конъюнктива, нмоль/г				
Малоновый диальдегид	M m p %	385,24 24,30 - 100,0	656,83 48,60 <0,001 170,5	715,02 54,36 <0,001 185,6
Диеновые конъюгаты	M m p %	84,32 5,68 - 100,0	118,30 7,85 <0,01 140,3	131,20 9,65 <0,01 155,6
Слезная жидкость, нмоль/л				
Малоновый диальдегид	M m p %	45,64 2,94 - 100,0	77,68 5,90 <0,001 170,2	91,87 7,40 <0,001 201,3
Диеновые конъюгаты	M m p %	17,40 1,03 - 100,0	19,17 1,20 >0,05 110,2	22,83 1,54 <0,05 131,2

Примечание: р – уровень значимости различия данных по отношению к контрольной группе

чилась до (715,02±54,36) нмоль/г, составляя 185,6% относительно контрольных значений (p<0,001).

Концентрация диеновых конъюгатов в конъюнктиве животных в начальной стадии гипотиреоза повышалась до (118,30±7,85) нмоль/г, т.е. на 140,3% по сравнению с показателем контроля (84,32±5,68) нмоль/г (p<0,01). В выраженной стадии гипотиреоза содержание диеновых конъюгатов в конъюнктиве возрастало до (131,20±9,65) нмоль/г, составляя 155,6% относительно контроля (p<0,01).

В слезной жидкости экспериментальных животных содержание малонового диальдегида в начальной стадии гипотиреоза было повышенено до (77,68±5,90) нмоль/л, что составило 170,2%, по сравнению с контролем (45,64±2,94) нмоль/л (p<0,001). При выраженной стадии гипотиреоза концентрация малонового диальдегида увеличилась до (91,87±7,40) нмоль/л, составляя 201,3% относительно показателя в контроле (p<0,001).

Концентрация диеновых конъюгатов в слезной жидкости животных с начальной стадией гипотиреоза повышалась до (19,17±1,20) нмоль/л, что составило – 110,2%, по сравнению с контролем (17,40±1,03) нмоль/л. В выраженной стадии гипотиреоза содержание диеновых конъюгатов увеличилось до (22,83±1,54) нмоль/л, составляя 131,2% относительно контрольного показателя (p<0,05).

### Обсуждение

Обобщая результаты проведенных нами исследований конечных (малоновый диальдегид) и промежуточных (диеновые конъюгаты) продуктов перекисного окисления липидов, можно заключить, что гипотиреоз значительно активирует в тканях глаза процессы пероксидации. Это приводит к накоплению липидных гидропероксидов в слезной жидкости, конъюнктиве и роговой оболочке. Степень повышения уровня продуктов перекисного окисления липидов, главным образом, их конечного продукта – малонового диальдегида, зависит от стадии гипотиреоза. Наиболее высокие величины этого маркерного показателя процессов пероксидации характерны для выраженной стадии гипотиреоза. Необходимо особо отметить резкий подъем концентрации малонового диальдегида в слезной жидкости во всех стадиях экспериментального гипотиреоза. Этот факт в перспективе можно будет использовать в качестве элемента диагностики повреждения поверхности глаза при гипофункции щитовидной железы.

Полученные нами данные относительно тканей поверхности глаза при гипотиреозе интересно сопоставить с данными литературы о состоянии процессов пероксидации и антиоксидантной системы в ткани слезной железы [8].

В указанной работе анализ результатов изучения процессов перекисного окисления липидов, уровня глутатиона и активности пероксидазы в слезной железе при экспериментальном гипотиреозе показал, что гипофункция щитовидной железы приводит к повышению уровня глутатиона и возрастанию концентрации малонового диальдегида в изучаемых тканях. При этом также было выявлено троекратное снижение пероксидазной активности. Все эти факты являются важным элементом механизма нарушения баланса между восстановительной системой глутатиона и процессами оксидативного повреждения липидов, т.к. известно, что глутатион снижает интенсивность перекисного окисления липидов и накопление его продуктов посредством глутатионпероксидазной реакции, в которой он восстанавливает липидные гидроперекиси, при этом глутатион переходит в окисленную форму [4, 8, 18].

Таким образом, наши данные в комплексе с данными литературы свидетельствуют о том, что при гипотиреозе наблюдается дисрегуляция процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы, что в итоге приводит к состоянию оксидативного стресса, который, как известно, негативно влияет на функции и защитно-приспособительные механизмы тканей глаза [8, 10, 11, 15, 20] и может являться одним из патогенетических звеньев развития синдрома «сухого глаза» при этом заболевании.

### Выводы

1. Установлено, что при экспериментальном гипотиреозе у крыс в тканях поверхности глаза происходит активация перекисного окисления липидов, что подтверждается повышением концентрации малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в тканях конъюнктивы (на 85,6% и 55,6%) и роговой оболочки (на 51,3% и 25,4%) соответственно, особенно в выраженной стадии гипотиреоза.

2. Обнаружено, что при моделированном гипотиреозе наиболее значительное увеличение уровня малонового диальдегида наблюдается в слезной жидкости (на 70,2% в начальной стадии и на 101,3% – в выраженной стадии гипотиреоза). Этот биохимический показатель можно рассматривать как диагностический показатель, характеризующий состояние оксидативного стресса в тканях поверхности глаза при гипотиреозе уже на начальной стадии его развития.

### Литература

- Городинська О. Ю. Прогностична характеристика поширеності гіпотиреозу в Полтавській області та в Україні в цілому за умов йодного дефіциту / О. Ю. Городинська, Л. Є. Бобирьова // Міжнар. ендокрин. журн. – 2016. - №2 (74). – С. 44–48.
- Наследов А. SPSS компьютерный анализ данных в психологии и социальных науках. // Спб.: Питер, 2005. – 416 с.
- Павловська Г. Я., Павлів О. Б., Павловський М. І., Пастер С. Я. Сухий кератокон'юнктивіт у хворих з гіпотиреозом. Матеріали XIII з'їзду офтальмологів України, 21-23 травня 2014, Одеса, 37-38.
- Babu K, Jayaraaj IA, Prabhaka J: Effect of Abnormal thyroid hormone changes in lipid peroxidation and Antioxidant imbalance in Hypothyroid and Hyperthyroid patients. *Int J Biol Med Res.* 2011, 2(4), 1122 – 1126.
- Bergmeyer HU Methoden der enzymatischen Analyse. – Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. Berlin. 1986, 2220 р.
- Cano-Europa E, Blas-Valdivia V, Lopez-Galindo GE: Methimazole-induced hypothyroidism causes alteration of the REDOX environment, oxidative stress, and hepatic damage; events not caused by hypothyroidism itself. *Ann Hepatol.* 2010, 9(1), 80-88.
- Cooper DS: Antithyroid drugs. *N Engl J Med.* 2005, 352(9), 905-917.
- Dias AC, Módulo CM, Jorge AG, Braz AM: Influence of thyroid hormone on thyroid hormone receptor beta-1 expression and lacrimal gland and ocular surface morphology. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012, 52(7), 3038-3042.
- Gatziofas Z, Panos GD, Brugnolli E, Hafezi F: Corneal topographical and biomechanical variations associated with hypothyroidism. *J Refract Surg.* 2014, 30(2), 78-79.
- Kumari SN, Sandhya, Damodara Gowda KM: Oxidative Stress in Hypo and Hyperthyroidism. *Al Ame en J Med Sci.* 2011, 4 (1), 49-53.
- Micali A, Pisani A, Puzzolo D, Spinella R: Effect of hypothyroidism on postnatal conjunctival development in rats. *Ophthalmic Res.* 2011, 45(2), 102-112.
- Mohanty S, Amruthlal W, Reddy G. C: Diagnostic strategies for subclinical hypothyroidism. *Indian J Clin Biochem.* 2010, 25(3), 279-282.
- Ortiz-Butron R, Pacheco-Rosado J, Hernández-Garcia A: Mild thyroid hormones deficiency modifies benzodiazepine and mu-opioid receptor binding in rats. *Neuropharmacology.* 2013, 54(1), 111-116.
- Ozturk BT, Kerimoglu H, Dikbas O: Ocular changes in primary hyperthyroidism. *BMC Research Notes.* 2010, 3, 266-271.
- Petruela M, Muresan A, Duncea I: Oxidative Stress and Antioxidant Status in Hypo- and Hyperthyroidism. *Antioxidant Enzymes.* Licensee InTech. 2012, 8, 197-236.
- Plummer CE, Specht A, Gelatt KN: Ocular manifestations of endocrine disease. *Compend Contin Educ Vet.* 2013, 31(12), 733-743.
- Shashikala P: Prevalence of dry eye in hypothyroidism. *Int J Clin Cases Investigations.* 2013, 5 (1), 46-51.
- Venditti P, Balestrieri M, Di Meo S, De Leo T: Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidant defences, and susceptibility to oxidative stress in rat tissues. *J Endocrinol.* 1997, 155(1), 151-157.
- Villanueva I, Alva-Sánchez C, Pacheco-Rosado J: The Role of Thyroid Hormones as Inductors of Oxidative Stress and Neurodegeneration. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2013, 13, 1-15.
- Yilmaz S, Ozan S, Benzer F, Canatan H: Oxidative damage and antioxidant enzyme activities in experimental hypothyroidism. *Cell Biochem Funct.* 2003, 21(4), 325-330.

Поступила 30.07.2019

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, которые могли бы повлиять на их мнение относительно предмета или материалов, описанных и обсуждаемых в данной рукописи.

## Стан процесів пероксидації в тканинах поверхні ока при модельованому гіпотиреозі

Дрожжина Г.І., Павловський М.І., Павловская Г.Я.

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України»; Одеса (Україна)

Львівська обласна клінічна лікарня; Львів (Україна)

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького; Львів (Україна)

**Актуальність.** Відомо, що зниження рівня тиреоїдних гормонів (ТГ) призводить до розвитку гіпотиреозу й супроводжується метаболічними, функціональними та структурними змінами в різних органах і тканинах, зокрема, в очі – в слізних залозах, але ці зміни не досліджені в кон'юнктиві, рогівці та слізний рідині. В експерименті встановлено, що зниження рівня ТГ спричиняє розвиток синдрому «сухого ока». Доведено, що гормони щитоподібної залози (ЩЗ) індукують зміни в слізній залозі й впливають на епітелій тканин поверхні ока. Проте механізми цього впливу на тканини поверхні ока не вивчені. Не з'ясовані дотепер зміни в тканинах поверхні ока при гіпотиреозі.

**Мета.** Вивчити в експерименті на моделі гіпотиреозу в щурів стан процесів перекисного окислення ліпідів в рогівці, кон'юнктиві та слізі.

**Матеріал і методи.** Дослідження проводили на самцях білих щурів лінії Вістар. Усього використали 42 тварини, яких рандомізовано поділили на три групи: I група – контрольна (14 щурів), II група – дослідна, тварини з початковою стадією гіпотиреозу (14 щурів), III група – дослідна, тварини з вираженою стадією гіпотиреозу (14 щурів). Гіпотиреоз моделювали за допомогою антитиреоїдного препарату „Тіамазол”, який тварини отримували з питною водою, при моде-

люванні початкової стадії гіпотиреозу – протягом чотирьох тижнів, вираженої стадії – протягом десяти тижнів. В тканинах рогівки, кон'юнктиви та слізний рідині спектрофотометрично визначали вміст малонового диальдегіду (МДА) та дієнових кон'югатів.

**Результати.** При експериментальному гіпотиреозі виявлено активацію процесів пероксидації в тканинах поверхні ока – концентрація МДА і дієнових кон'югатів підвищена в кон'юнктиві (на 85,6 і 55,6%) та рогівці (на 51,3 і 25,4%) відповідно, особливо у вираженій стадії гіпотиреозу. Ступінь підвищення рівня продуктів перекисного окислення ліпідів, зокрема, їх кінцевого компоненту – МДА, залежить від стадії гіпотиреозу. Найбільші величини цього показника властиві для вираженої стадії гіпотиреозу. Особливо різке збільшення концентрації МДА було в слізний рідині (на 70,2% у початковій і на 101,3% – у вираженій) стадіях гіпотиреозу.

**Висновок.** Підвищення концентрації МДА в рогівці, кон'юнктиві, а особливо, у слізний рідині свідчить про активування процесів перекисного окислення ліпідів і залежить від стадії розвитку експериментального гіпотиреозу. Отримані результати дозволяють розглядати рівень МДА в слізі як біохімічний показник пошкодження тканин поверхні ока при гіпофункції ЩЗ.

**Ключові слова:** гіпотиреоз, експеримент, слізоза, рогівка, кон'юнктиви, малоновий диальдегід, дієнові кон'югати