DOI: 10.17117/na.2015.08.923

Поступила (Received): 19.08.2015

<http://ucom.ru/doc/na.2015.08.923.pdf>

Ахмаджонув А.К., Саидов С.А., Алимов Т.Р.
Изменения отдельных биохимических показателей
сыворотки крови у крыс с учетом фенотипа
ацетилирования при экспериментальном гипотиреозе

Ahmadzhonuv A.Q., Saidov S.A., Alimov T.R.
Changes in individual biochemical parameters of blood serum rats
with regard to the pilot acetylating phenotype hypothyroidism

В ходе проведения работы планировалось выявить влияния различных фенотипов ацетилирования на скорость и степень выраженности изменений биохимических показателей характеризующих активность дезинтоксикационной функции печени и интенсивность процессов катаболизма, при экспериментальном гипотиреозе. У крыс исследовали концентрации креатинина и мочевины. Наиболее выраженные различия выявлялись при исследовании концентрации креатинина, причем наибольшая выраженность изменений исследуемых показателей более характерна для β -фенотипа ацетилирования

Ключевые слова: экспериментальный гипотиреоз, крысы, фенотип ацетилирования, общий белок, альбумин

During the operation was planned to identify the impact of different phenotypes of acetylation on the rate and extent of changes in biochemical parameters characterizing the activity of detoxifying the liver and intensity of catabolism during experimental hypothyroidism. Were studied concentrations of creatinine and urea. Most pronounced differences were detected in the study of the concentration of creatinine, with the largest changes in the severity of the studied parameters is more typical of β -acetylation phenotype

Key words: experimental hypothyroidism, rats, acetylation phenotype, total protein, albumin

Ахмаджонов Аслбек Косим Угли

Ассистент

Ташкентский фармацевтический институт
 Министерства Здравоохранения Республики
 Узбекистан

г. Ташкент, Мирабадский р-н, ул. Ойбека, 45

Ahmadzhonuv Asilbek son of Qosim

Assistant

Tashkent pharmaceutical Institute of Ministry of
 Health Republic of Uzbekistan

Tashkent, Mirabad dist., Oybek st., 45

Саидов Садамир Аброрович

Доктор медицинских наук, доцент, зав. кафедрой
 Ташкентский фармацевтический институт
 г. Ташкент, Мирабадский р-н, ул. Ойбека, 45

Saidov Saidamir Abrorovich

Doctor of Medical Sciences, Associate Professor,
 Head of Department

Tashkent pharmaceutical institute

Tashkent, Mirabad dist., Oybek st., 45

Алимов Тимур Рауфович

Кандидат медицинских наук, ст. науч. сотрудник
 Научно-исследовательский институт
 гематологии и переливания крови
 г. Ташкент, ул. Шота-Руставели, 138

Alimov Timur Raufovich

Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher
 Research science institute of hematology and blood
 transfusion

Tashkent, Shota Rustaveli st., 138

Известная роль тиреоидных гормонов в регуляции процессов катаболизма и белкового распада. В частности известно, что трийодтиронин способствует активации калий-натриевой АТФ-азы и расходу энергии влияющем на рост калорических потребностей растут и активизацию использование энергетических субстратов, включая аминокислоты. В печени под действием трийодтиронина активируются ферменты цикла мочевины, и увеличивается ее продукция [6].

Развитие гипотиреоза способствует замедлению вышеуказанных процессов, но, как известно, скорость метаболических процессов в организме зависит от активности ферментов системы биотрансформации, одну из основных ролей в которой играет система ацетилирования. В связи с этим фенотип ацетилирования имеет большое значение в изучении отдельных аспектов гипотиреоза [4, 5, 7].

Несмотря на повышение качества диагностики и терапии заболеваний щитовидной железы остается множество аспектов взаимосвязи тиреоидной и нетиреоидной патологий требующие прояснения и дальнейших более глубоких исследований [8]. Исследование некоторых биохимических параметров сыворотки крови в эксперименте может помочь лучше изучить особенности метаболизма при гипотиреозе с учетом фенотипа ацетилирования [1, 2].

Целью работы являлось выявление влияния различных фенотипов ацетилирования на скорость и степень выраженности изменений биохимических показателей характеризующих активность дезинтоксикационной функции печени и интенсивность процессов катаболизма, при экспериментальном гипотиреозе.

Материалы и методы исследования.

Эксперименты были проведены на 60 крысах массой 180-220г., которые были разделены на 2 равные, по количеству животных, основные группы в зависимости от типа ацетилирования на: α - медленных и β - быстрых метаболизёров (ацетиляторов). В каждой группе моделировали экспериментальный гипотиреоз путем введения мерказолила в дозе 5 мг, на протяжении 14 дней [3]. Каждая из групп, в свою очередь, была поделена 5 равных подгрупп в зависимости от сроков исследования. Так группа α -«медленных» метаболизёров (ацетиляторов) была поделена на следующие подгруппы: I α – интактные, II α – на 4-м часу исследования, III α – на 1-й неделе исследования, IV α – на 2-й неделе исследования, V α – на 3-й неделе исследования. Соответственно группа β - быстрых метаболизёров (ацетиляторов) состояла из следующих подгрупп: I β – интактные, II β – на 4-м часу исследования, III β – на 1-й неделе исследования, IV β – на 2-й неделе исследования, V β – на 3-й неделе исследования. Динамику показателей тиреоидных гормонов, отражающих развитие патологического процесса, оценивали как в данных подгруппах по отдельности, в зависимости от скорости и типа ацетилирования, так и в «объединенных» группах I $\alpha\beta$, II $\alpha\beta$, III $\alpha\beta$, IV $\alpha\beta$ и V $\alpha\beta$ без учета фенотипа ацетилирования. Результаты данного сравнения отражены в таблице 2. Также, было произведено объединение данных двух аналогичных подгрупп соответствующего срока с различной скоростью ацетилирования, статистически обработанные результаты которых,

сравнивали с данными других объединенных подгрупп различных сроков исследования, что отражено в таблице №1. В данной таблице описываются изменения уровней тиреоидных гормонов происходящие в Iαβ, IIαβ, IIIαβ, IVαβ и Vαβ группах.

Изучались изменения концентрации мочевины, креатинина, общего белка и альбумина на вышеуказанных сроках. Исследуемые параметры изучались, как в объединенных группах, включавших α и β подгруппы (с фенотипом «медленного» и «быстрого» ацетилирования метаболических систем организма соответственно), так и в данных подгруппах по отдельности, а также проверялась достоверность различий между ними.

Фенотип ацетилирования определяли по общепринятой методике [2]. Концентрацию биохимических показателей в сыворотке крови определяли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе «Mindray BA88» (Китай), при помощи тест систем «Human» (Германия) [5].

Статистическая обработка полученных данных производилась при помощи критерия Стьюдента с использованием программ Excel и Биостат. Критерием статистической значимости было значение $P < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение.

На различных стадиях моделирования экспериментального гипотиреоза наблюдались изменения исследуемых биохимических показателей, характеризующих активность процессов катаболизма. К таким показателям можно отнести мочевины и креатинин.

Так на 1-й неделе исследования наблюдались достоверно более высокие уровни мочевины относительно показателей животных интактной группы, который был выше на 48,2%, а относительно 4-го часа моделирования тиреоидной патологии в опытной группе на 43,4% (табл. 1). Уровень же данного показателя на 2-й неделе относительно показателей животных интактной группы и животных на 4-м часу наблюдения был выше, соответственно на 48,7% и на 43,9%, на 3-й неделе аналогичное различие составляло 64,1% и 58,8%.

Таблица 1. Изменения отдельных биохимических показателей крови крыс при моделировании гипотиреоза ($M \pm m$)

Исследуемые группы	Мочевина (ммоль/л)	Креатинин (мкм)
Iαβ группа интактные	3,90±0,75	57,20±2,6
IIαβ группа (4 час)	4,03±0,87	52,78±2,5
IIIαβ группа (1-я неделя)	5,78±0,19*^	57,90±1,08
IVαβ группа (2-я неделя)	5,80±0,12*^	57,08±0,90
Vαβ группа (3-я неделя)	6,40±0,30*^	70,68±1,80*^#&

Примечание: * – достоверное различие ($P < 0,05$) при сравнении результатов с данными в группе интактных; ^ – то же при сравнении результатов с данными в 1-й группе; # – то же при сравнении результатов с данными в 2-й группе; & – то же при сравнении результатов с данными в 3-й группе; \$ – то же при сравнении результатов с данными в той же группе с подгруппой медленных ацетиляторов

В уровне креатинина, достоверно более высокие его уровни наблюдались только на 3-й неделе экспериментального гипотиреоза относительно показате-

теля группы интактных животных, 4-го часа, 1-й и 2-й недель наблюдения соответственно на 23,6%, 33,9%, 22,1 и 23,8%. Из предоставленных данных видно, что на 3-й неделе эксперимента, относительно 4-го часа исследования, наблюдается более выраженное различие, относительно показателей 1-й и 2-й недель исследования, указывающее на более низкие значения концентрации креатинина на раннем сроке экспериментального гипотиреоза.

В результате проведенного анализа результатов, полученных в группах, разделённых в зависимости от фенотипа ацетилирования, были выявлены статистически достоверные различия исследуемых показателей (табл. 2).

Так уровень мочевины у животных β - быстрых метаболизёров (ацетиляторов) на 4-м часу исследования повысился на 47,4% относительно показателей интактных животных с аналогичным фенотипом, а на 1-й, 2-й и 3-й неделях, данное различие составило 52,3%, 48,9% и 76,0%. В подгруппе с α -«медленным» фенотипом метаболизма (ацетилирования) статистически значимое повышение концентрации мочевины по сравнению с показателями интактных животных наблюдалось только на 3-й неделе исследования и составило 40,0%.

Таблица 2. Изменения отдельных биохимических показателей крови крыс при моделировании экспериментального гипотиреоза в подгруппах С α - и β -фенотипами ацетилирования ($M \pm m$)

Группы, (срок исследования)	Подгруппы	Мочевина (ммоль/л)	Креатинин (мкмоль/л)
I $\alpha\beta$, (интактные)	I α	3,8 $\pm$ 0,8	56,4 $\pm$ 1,8
	I β	4,05 $\pm$ 0,65	58,1 $\pm$ 2,1
II $\alpha\beta$, (4-й час)	II α	2,10 $\pm$ 0,07	35,07 $\pm$ 2,47*
	II β	5,97 $\pm$ 0,05*\$	70,50 $\pm$ 0,09*\$
III $\alpha\beta$, (1-я неделя)	III α	5,40 $\pm$ 0,12^	50,97 $\pm$ 0,14*^
	III β	6,17 $\pm$ 0,09*\$	64,83 $\pm$ 0,94*^\$
IV $\alpha\beta$, (2-я неделя)	IV α	5,57 $\pm$ 0,02^	51,33 $\pm$ 0,16*^
	IV β	6,03 $\pm$ 0,10*\$	62,83 $\pm$ 0,70^\$
V $\alpha\beta$, (3-я неделя)	V α	5,67 $\pm$ 0,05*^	56,33 $\pm$ 1,04^#&
	V β	7,13 $\pm$ 0,06*^#&\$	85,03 $\pm$ 0,48*^#&\$

Примечание: * – достоверное различие ($P < 0,05$) при сравнении результатов с данными в группе интактных; ^ – то же при сравнении результатов с данными в 1-й группе; # – то же при сравнении результатов с данными в 2-й группе; & – то же при сравнении результатов с данными в 3-й группе; \$ – то же при сравнении результатов с данными в той же группе с α -подгруппой низкоустойчивых метаболизёров

По сравнению с показателями 4-го часа исследования в подгруппах с β -быстрым фенотипом метаболизма (ацетилирования) статистически значимое повышение уровня мочевины отмечалось только на 3-й неделе эксперимента и составляло 19,4%. В III α , IV α , V α подгруппах, относительно II α подгруппы, концентрация мочевины была выше в 2,6, 2,7 и 2,7 раза соответственно. В подгруппе с β -фенотипом ацетилирования на крайнем сроке (3-й неделе) исследования по сравнению с 1-й и 2-й неделями отмечались на 15,6% и 18,2% более высокие показатели.

Статистически значимые различия в уровнях мочевины между подгруппами с различными фенотипами ацетилирования, кроме интактных животных, наблюдались практически на всех сроках исследования – на 4-м часу, 1-й, 2-й и 3-й неделях исследования развития гипотиреоза и их значения были выше в подгруппах с β -фенотипом, относительно подгрупп с α -фенотипом ацетилирования, на 184,3%, 14,3%, 8,3% и 25,7% соответственно. Наблюдая результаты исследования необходимо отметить уменьшение выраженности отличий между подгруппами с различной скоростью метаболизма по мере развития тиреоидной патологии и только на крайнем сроке небольшое увеличение данных различий.

Полученные данные свидетельствуют, что концентрация мочевины на 4-м часу исследования в подгруппах с α -фенотипом ацетилирования несущественно снижалась, в то время как в подгруппах животных с β -фенотипом наблюдалось статистически значимое повышение данного показателя.

На всех последующих сроках исследования в подгруппах с α -фенотипом наблюдались более высокие уровни мочевины относительно 4-го часа. В то же время, в подгруппах с β -фенотипом наблюдались более высокие уровни мочевины относительно интактных животных, по сравнению с концентрацией в α -подгруппах, но динамики изменения данного показателя не прослеживалось, за исключением крайнего срока эксперимента, где различия относительно более ранних сроков были более выраженными, по сравнению со значениями мочевины в подгруппах с α -фенотипом ацетилирования. В целом, динамика уровня мочевины может свидетельствовать о более активных изменениях данного показателя в подгруппе β -«быстрых» метаболизёров, по сравнению с показателями животных с α -фенотипом.

Как известно, основным путем обезвреживания высокотоксичного аммиака в печени, образующегося в результате распада аминокислот, является образование мочевины, выводимой с мочой в качестве главного конечного продукта белкового обмена в организме. Наблюдаемые изменения уровня мочевины могут свидетельствовать о степени воздействия экспериментального гипотиреоза, как на интенсивность процессов катаболизма, так и на эффективность детоксицирующей способности печени в зависимости от фенотипа ацетилирования.

В уровне креатинина на 4-м часу исследования в подгруппах с α -фенотипом ацетилирования наблюдались на 60,8% более низкие, а в подгруппе с β -быстрым фенотипом метаболизма на 21,3% более высокие показатели относительно показателей интактных животных в подгруппах с аналогичным фенотипом ацетилирования. В сравнении же с показателями интактных животных в подгруппах α - и β -фенотипом на 1-й неделе исследования концентрация креатинина была на 10,7% ниже и 11,6% выше соответственно. На 2-й неделе эксперимента относительно показателей интактных животных статистически значимые различия наблюдались в подгруппе с α -фенотипом, где уровень креатинина был на 9,9% ниже и на 3-й неделе исследования в у животных с β -фенотипом на 46,4% выше. На 1-й неделе в подгруппах с «быстрым» и «медленным» типами метаболизма, относительно показателей животных со-

ответствующих подгрупп на 4-м часу исследования, наблюдались концентрации креатинина на 45,3% выше и на 8,7% ниже, а на второй и третьей неделях экспериментальной патологии, относительно того же срока сравнения, на 46,4% выше, на 12,2% ниже соответственно и на 60,6% и 82,3% выше. По сравнению с 1-й неделей в IV α и в IV β подгруппах значительных изменений не наблюдалось, а в V α и V β подгруппах уровень креатинина был выше на 10,5%, и на 31,2% соответственно. На 3-й относительно 2-й недели эксперимента в подгруппах с α -фенотипом ацетилирования отмечались на 9,7%, а в подгруппе с β -быстрым фенотипом метаболизма на 35,3% более высокие уровни креатинина.

При анализе концентрации креатинина в подгруппах β -фенотипом, относительно показателей α -медленных метаболизёров, существенные изменения отмечались на 4-м часу, исследования и уровень их был выше более чем вдвое. На 1-й, 2-й и 3-й неделях данное различие составляло 27,2%, 22,4% и 50,9%. Как можно заметить из результатов, приведённых выше, наибольший разрыв между группами с различной скоростью метаболизма наблюдался на раннем и крайнем сроках экспериментального гипотиреоза.

При исследовании изменения концентрации креатинина на раннем сроке исследования, (на 4-м часу), в сравнении с уровнем данного показателя у интактных животных, необходимо отметить, что в подгруппах с α -медленным фенотипом наблюдается снижение его значений, причём, данная тенденция характерна почти для всех сроков исследования, кроме крайнего, где статистически значимых различий не выявляется. В подгруппах же с β -фенотипом ацетилирования, напротив, отмечается повышение его концентрации, прослеживаемое на всех сроках экспериментального гипотиреоза. Полученные результаты изменения концентрации креатинина показывают, что фенотип ацетилирования оказывает существенное воздействие на его уровень в сыворотке крови при экспериментальном гипотиреозе.

Как известно, значительная часть азота, образующегося в результате процесса распада, аминокислот, образуемого из креатина и креатинфосфата, выделяется из организма в форме креатинина. Таким образом, креатинин, наряду с мочевиной, является важным индикатором активности процессов белкового распада [9]. Существенные изменения в направлении изменений концентрации креатинина между подгруппами с различным фенотипом ацетилирования, свидетельствуют о выраженных различиях в механизмах утилизации продуктов белкового распада, у животных в зависимости от типа и скорости метаболизма при экспериментальном гипотиреозе. Известно, что в норме, из экскретируемого с мочой количества азота, на долю мочевины приходится около 85%, креатинина – около 5%, оставшиеся проценты распределяются между аммонийными солями, мочевой кислотой и другими формами [4]. Полученные результаты свидетельствуют не только об изменении концентраций мочевины и креатинина, но и их соотношении между собой.

Так в подгруппах с α -фенотипом ацетилирования отношение мочевины к креатинину составляло у интактных животных, на 4-м часу, 1-й, 2-й и 3-й неделях экспериментального гипотиреоза составляло 67,4, 58,9, 105,9, 108,5 и

100,7% соответственно. Аналогичное соотношение уровней мочевины и креатинина между подгруппами с β -фенотипом ацетилирования на тех же сроках исследования составляло 69,7, 84,7, 95,2, 96,0 и 100,7% соответственно. Как видно из вышеуказанных значений, если в α -подгруппах данный коэффициент резко снижается на раннем сроке, то уже к 1-й неделе наблюдается, резкое его увеличение, нарастающее ко 2-й неделе и немного снижающееся к крайнему сроку. В подгруппах с β -фенотипом, напротив отмечалось равномерное на всех сроках повышения значений мочевины к креатинину. В целом, сопоставимые у интактных животных с различным фенотипом величины соотношения мочевины к креатинину имеют существенные расхождения на 4-м часу исследования, которые, по мере развития экспериментального гипотиреоза, немного сглаживаются, исчезая к крайнему сроку эксперимента.

Полученные, при исследовании отдельных параметров, характеризующих активность процессов белкового распада и дезинтоксикационную функцию печени при экспериментальном гипотиреозе, результаты свидетельствуют о наличии статистически значимых различий в динамике изменения значений данных показателей между подгруппами с α - и β -фенотипами ацетилирования. Наиболее выраженные различия между значениями подгрупп проявляются в подгруппах с β -«быстрым» фенотипом метаболизма, в отличие от подгрупп с α -фенотипом метаболической активности. Также следует отметить, что наиболее существенные различия исследуемых показателей как относительно других сроков исследования, так и между подгруппами одного срока исследования проявляются на более поздних сроках моделирования экспериментального гипотиреоза.

Вывод.

Экспериментальный гипотиреоз в динамике, в целом характеризуется усилением процессов катаболизма, при из исследуемых биохимических показателей между значениями подгрупп с различными фенотипами ацетилирования этом наиболее выраженные различия наблюдались в концентрации креатинина.

Наибольшая выраженность изменений значений креатинина и мочевины на крайних сроках экспериментального гипотиреоза в большей степени свойственна, для β -фенотипа, чем для α -фенотипа ацетилирования.

Список используемых источников:

1. Голденкова И.В. Сравнительный анализ результатов фенотипирования и генотипирования по полиморфизму N-ацетилирования у человека // Генетика. 2006. 42. С. 1143-1150. 8.
2. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Гисмятов Р.Г., Шитова Н.С., Зыкова И.Е. Неинвазивные методы определения фенотипа ацетилирования // Вопросы биол., мед. и фармацевт, химии. 2003. 3. С. 34-39.
3. Манюк Е.С., Изатуллин В.Г., Васильева Л.С. Коррекция экспериментального гипотиреоза растительным препаратом «Баякон» // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2008. 59. С. 54-57.
4. Никитина Л.П. Соловьева Н.В., Цидендамбаев П.Б. Биохимия печени в норме и при патологии: учебное пособие для преподавателей и студентов медицинских вузов, врачей, интернов, клинических ординаторов // ГОУ ЧГМА. Чита: 2004. 52.
5. Николаев А.Я. Биологическая химия. М.: Медицинское информационное агентство. 2004. 556 с.
6. Фадеев В.В. Современные концепции диагностики и лечения гипотиреоза у взрослых // Пробл. Эндокринолог. 2004. №2. С. 47-53.

7. Ткачук А. Клиническая биохимия. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. 512 с.

8. Lindeman R.D., Romero L.J., Schade D.S. et al. Impact of subclinical hypothyroidism on serum total homocysteine concentrations, the prevalence of coronary heart disease (CHD), and CHD risk factors in the New Mexico Elder Health Survey. *Thyroid*. 2003. №13. P. 595–600. 6.

© 2015, Ахмаджонув А.К., Саидов С.А., Алимов Т.Р.
Изменения отдельных биохимических показателей
сыворотки крови у крыс с учетом фенотипа
ацетилирования при экспериментальном
гипотиреозе

© 2015, Ahmadzhonuv A.Q., Saidov S.A., Alimov T.R.
*Changes in individual biochemical parameters of
blood serum rats with regard to the pilot acetylating
phenotype hypothyroidism*