

Zarichna O. Y., Klishch I. M., Krynytska I. Ya. Особливості клітинної ланки імунної системи у щурів з гострим гепатитом на тлі мерказоліл-індукованого гіпотиреозу = Cellular features of the immune system of rats with acute hepatitis combined with merkazolil-induced hypothyroidism. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(8):85-90. ISSN 2391-8306. DOI [10.5281/zenodo.27248](https://doi.org/10.5281/zenodo.27248)
<http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.27248>
<https://pbn.nauka.gov.pl/works/604305>
POL-index <https://pbn.nauka.gov.pl/polindex/browse/article/article-fa2ae17c-9ef3-4fcb-bf3f-8baf66fb89c5>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%288%29%3A85-90>
Formerly Journal of Health Sciences. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011–2014
<http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive>

Deklaracja.
Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.
Zgodnie z informacją MNiSW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.
The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).
© The Author (s) 2015;
This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 05.06.2015. Revised 15.07.2015. Accepted: 25.07.2015.

УДК [612.017.1-02:616.36-002.1-06:616.441-008.64]-092.9

**ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ У ЩУРІВ З
ГОСТРИМ ГЕПАТИТОМ НА ТЛІ МЕРКАЗОЛІЛ-ІНДУКОВАНОГО
ГІПОТИРЕОЗУ
CELLULAR FEATURES OF THE IMMUNE SYSTEM OF RATS WITH ACUTE
HEPATITIS COMBINED WITH MERKAZOLIL-INDUCED HYPOTHYROIDISM**

**О. Я. Зарічна, І. М. Клішч, І. Я. Криницька
Зарічна О. Й., Клішч І. М., Криницька І. Я.**

**ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я.
Горбачевського МОЗ України»**

**SHEI "Ternopil State Medical University by I. Ya Horbachevsky of MPH of
Ukraine"**

Резюме. В експерименті на щурах з модельованим гіпотиреозом, гострим галактозаміновим гепатитом та гострим гепатитом на тлі гіпотиреозу проведено дослідження змін показників клітинного імунітету в крові. Результати проведеного дослідження вказують на виражені порушення з боку клітинної ланки імунітету крові у вигляді Т-лімфоцитопенії, дисбалансу субпопуляційного складу Т-лімфоцитів з переважним зменшенням Т-хелперів, зменшення імунорегуляторного індексу та зниження вмісту загальних В-лімфоцитів у тварин з гіпотиреозом. Т-лімфоцитоз, дисбаланс субпопуляційного складу Т-лімфоцитів з переважним підвищенням Т-хелперів, збільшення імунорегуляторного індексу та підвищення вмісту загальних В-лімфоцитів встановлено у тварин з гострим гепатитом. Найсуттєвішого пригнічення клітинної ланки імунітету зазнали щури з гострим гепатитом на тлі гіпотиреозу.

Ключові слова: гострий гепатит, гіпотиреоз, клітинний імунітет.

SUMMARY. In experiments on rats with modulated hypothyroidism, acute galactosamine hepatitis, acute hepatitis combined with merkazolil-induced hypothyroidism the changes in the indexes of cellular immunity in blood were studied. Results of the investigation indicate a pronounced imbalance of blood cellular immunity in the form of T-lymphocytopenia, imbalance subpopulation of T-lymphocytes with a predominant decreasing in T-helper cells, reducing the immunoregulatory index and decreasing of total B-lymphocytes in rats with hypothyroidism. T-lymphocytosis, imbalance subpopulation of T-lymphocytes with a predominant increasing in T-helper cells, increasing of immunoregulatory index and increasing of B-lymphocytes was determined in rats with acute hepatitis. Rats with acute hepatitis

combined with merkazolil- induced hypothyroidism had the most significant suppression of cellular immunity.

Key words: acute hepatitis, hypothyroidism, cellular immunity.

Вступ. Сьогодні захворювання щитоподібної залози є найбільш поширеною ендокринною патологією після цукрового діабету типу 2 [5, 6, 12]. За даними МОЗ України за останні 5 років кількість захворювань щитоподібної залози збільшилась у 5 разів [4].

Гіпотиреоз – це захворювання ендокринної системи, обумовлене тривалою, стійкою нестачею гормонів щитоподібної залози в організмі або дефіцитом їх біологічного ефекту на тканинному рівні [7]. Субклінічний гіпотиреоз характеризується зниженням рівня циркулюючого ТТГ на тлі нормального вмісту тироксину та трийодтироніну в крові [18].

За даними Американської асоціації ендокринологів, субклінічний гіпотиреоз спостерігають у 3 % чоловіків і 10 % жінок, а у віковій групі старше 60 років – 20 %. Значимість цієї патології зумовлена тим, що протягом одного року в 5-15 % пацієнтів субклінічний гіпотиреоз переходить у маніфестний стан [6].

Серед населення України в структурі ендокринних захворювань розповсюдженість тиреоїдної патології становить 51 %, частота виникнення гіпотиреозу серед дорослих та дітей в Україні за останні 10 років зростає відповідно на 7,5 % і 4,3 % проти 0,5 % і 0,12 %, а розповсюдженість субклінічного гіпотиреозу серед жінок репродуктивного віку сягає 13,6-17,4 % [5, 6].

Порушення функціональної активності щитоподібної залози супроводжується зміною структури та функціональної активності ряду тиреоїдзалежних органів, у тому числі і печінки [10]. Гормони щитоподібної залози регулюють рівень базального метаболізму всіх клітин, включаючи клітини травних залоз, їх дефіцит відбивається на функціонуванні печінки та підшлункової залози [9, 17]. Отже, поєднана патологія гепатобіліарної системи та щитовидної залози є актуальною сучасною проблемою.

Тому, **метою** нашої роботи стало дослідження впливу зниженої продукції тиреоїдних гормонів на клітинну ланку імунної системи у тварин з токсичним ураженням печінки.

Матеріали і методи дослідження.

Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях масою тіла 180-200 г, отриманих з віварію ТДМУ, відповідно до вимог «Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин» [8]. Тварини знаходилися на повноцінному раціоні віварію з вільним доступом до води.

Гіпотиреоз моделювали щоденним введенням рег ос за допомогою спеціального зонда фармакопейного тиреостатика мерказолілу («Здоров'я», Україна) у дозі 25 мг/кг протягом 21-ї доби [16]. Контроль здійснювали за рівнем тироксину, трийодтироніну і тиреотропного гормону, а також за масою тварин і їх руховою активністю. До групи порівняння входили тварини, яким мерказоліл не вводили.

Вплив гіпотиреозу на перебіг запального процесу в печінці вивчали на моделі галактозамінового гепатиту, який викликали шляхом внутрішньоочеревинного уведення піддослідним тваринам галактозаміну в дозі 400 мг/кг у вигляді 20 % розчину [3]. Через 1-у і 7-у добу після моделювання гепатиту щурів декапітували під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Групами порівняння служили тварини з експериментальним гіпотиреозом і щури з токсичним галактозаміновим гепатитом. Контролем служив матеріал від інтактних тварин.

У щурів визначали показники клітинного імунітету: CD3+ – Т-лімфоцити загальні, CD4+ – Т-лімфоцити-хелпери, CD8+ – Т-лімфоцити-супресори, CD19+ – В-лімфоцити загальні та імунорегуляторний індекс CD4+/ CD8+ на проточному цитофлюориметрі Epics-XL виробництва Beckman Coulter (США).

Метод дослідження клітинного імунітету ґрунтується на взаємодії моноклональних антитіл, мічених флюоресцентною міткою, з поверхневими антигенами лімфоцитів [14].

Обробка результатів виконана у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» в програмному пакеті Statsoft STATISTICA. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою критерію Мана-Уїтні.

Результати досліджень та їх обговорення. Основну роль в імунних реакціях відіграють Т-лімфоцити, які за рахунок клітинних рецепторів розпізнають антигени [13]. У щурів з експериментальним гіпотиреозом нами зафіксовано зниження вмісту загальних Т-лімфоцитів (CD3+) в крові на 25,2 % ($p<0,05$) відносно інтактних тварин. При вивченні хелперної та супресорної фракцій клітинної ланки імунітету встановлено достовірне зниження CD4+ на 28,8 % і CD8+ – на 16,1 % відносно інтактних тварин.

При цьому достовірних змін зазнав і імунорегуляторний індекс (CD4+/CD8+). Він зменшився на 15,1 % ($p<0,05$). Вміст загальних В-лімфоцитів в крові гіпотиреодних тварин також достовірно знизився, хоча і менш виражено (на 13,2 %).

Таблиця 1

Показники клітинної ланки імунітету у тварин з гострим гепатитом на тлі гіпотиреозу, M±m

Показник\ група тварин	Інтактні тварини, n=10	Гіпотиреоз, n=10	Галактозаміновий гепатит		Гепатит+гіпотиреоз	
			1-а доба n=10	7-а доба n=10	1-а доба n=10	7-а доба n=10
CD3+, %	46,83 ± 1,61	35,04 ± 1,24 $p<0,05$	63,42 ± 1,88 $p<0,05$ $p_1<0,05$	59,82 ± 1,62 $p<0,05$ $p_1<0,05$ $p_2>0,05$	32,37 ± 0,96 $p<0,05$ $p_1>0,05$ $p_3<0,05$	31,56 ± 0,79 $p<0,05$ $p_1>0,05$ $p_2>0,05$ $p_3<0,05$
CD4+, %	39,23 ± 0,66	27,92 ± 0,67 $p<0,05$	49,89 ± 1,05 $p<0,05$ $p_1<0,05$	47,53 ± 1,01 $p<0,05$ $p_1<0,05$ $p_2>0,05$	21,31 ± 0,66 $p<0,05$ $p_1<0,05$ $p_3<0,05$	19,31 ± 0,77 $p<0,05$ $p_1<0,05$ $p_2>0,05$ $p_3<0,05$
CD8+, %	25,93 ± 0,76	21,76 ± 0,81 $p<0,05$	28,49 ± 0,63 $p<0,05$ $p_1<0,05$	27,13 ± 0,51 $p>0,05$ $p_1<0,05$ $p_2>0,05$	22,11 ± 0,60 $p<0,05$ $p_1>0,05$ $p_3<0,05$	20,91 ± 0,36 $p<0,05$ $p_1>0,05$ $p_2>0,05$

						p ₃ <0,05
CD19+, %	10,79 ± 0,29	9,37 ± 0,22 p<0,05	13,10 ± 0,23 p<0,05 p ₁ <0,05	12,09 ± 0,37 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	6,79 ± 0,22 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₃ <0,05	6,27 ± 0,14 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05 p ₃ <0,05
CD4+/ CD8+	1,52 ± 0,05	1,29 ± 0,03 p<0,05	1,76 ± 0,06 p<0,05 p ₁ <0,05	1,76 ± 0,06 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05	0,97 ± 0,04 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₃ <0,05	0,92 ± 0,03 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05 p ₃ <0,05

Примітки:

1. p – достовірність різниці тварин дослідних груп відносно інтактних тварин;
2. p₁ – достовірність різниці тварин дослідних груп відносно гіпотиреоїдних тварин;
3. p₂ – достовірність різниці показників у відповідні доби дослідження в межах однієї експериментальної моделі
4. p₃ – достовірність різниці еутиреоїдних і гіпотиреоїдних тварин з гострим гепатитом у відповідні доби дослідження.

Враховуючи дані про регуляторну роль гормонів щитоподібної залози в імуногенезі вважаємо, що її гіпофункція зумовлює зниження клітинної імунної відповіді. Це підтверджує існуючі дані про те, що гіпотиреоз супроводжується розвитком вторинних імунodefіцитів. Так, Бондарь Т.Н. та Klecha A.J. і співавтори стверджують, що експериментальний гіпотиреоз зумовлює інволюцію селезінки і лімфатичних вузлів, а також спричинює інгібування гуморальних і клітинних імунних реакцій [1, 15].

Протилежно направлених змін зазнали показники клітинної ланки імунітету у щурів з гострим галактозаміновим гепатитом. Через одну добу після моделювання гепатиту вміст CD3+ підвищився на 35,4 % (p<0,05), через сім діб – даний показник був вищим на 27,7 % (p<0,05) відносно інтактних тварин. При вивченні хелперної фракції клітинної ланки імунітету встановлено достовірне підвищення CD4+ на 54,8, % через одну добу та на 47,5 % через сім діб. Щодо CD8+, то їх вміст перевищував рівень інтактних тварин на 9,9 % (p<0,05) через одну добу та на 4,6 % через сім діб (p>0,05). При цьому достовірних змін зазнав і імунорегуляторний індекс (CD4+/CD8+). Він збільшився на 15,8 % (p<0,05). Вміст загальних В-лімфоцитів в крові щурів з гострим галактозаміновим гепатитом збільшився на 21,4 % (p<0,05) через одну добу та залишався на 12 % вищим стосовно інтактних тварин через сім діб (p<0,05).

Відомо, що В-лімфоцити розпізнають антигени специфічними рецепторами імуноглобулінової природи, які у міру дозрівання експресуються на їх мембранах. Взаємодія антигену з такими рецепторами є сигналом активації В-лімфоцитів і їх антигензалежного диференціювання у плазматичні клітини, які активно продукують і секретують специфічні для даного антигену антитіла – імуноглобуліни [11]. При токсичних гепатитах хімічні речовини проникають в ліпопротеїнову мембрану гепатоцитів, руйнують її, і у відповідь на деструкцію виникають імунні реакції.

Отже, у еутиреоїдних щурів спостерігається нормальний перебіг запального процесу із переважанням зростання Т-хелперів над рівнем цитотоксичних Т-лімфоцитів і, відповідно, зростанням імунорегуляторного індекса.

У тварин, яким гострий гепатит моделювали на тлі гіпотиреозу зміни мали протилежний напрямок. Вміст CD-3 лімфоцитів через одну добу у порівнянні з інтактними щурами достовірно знизився на 30,9 %, через сім діб експерименту даний показник вже був на 32,6 % нижчим ($p < 0,05$). При вивченні хелперної фракції клітинної ланки імунітету встановлено достовірне зниження CD4+ на 45,7, % через одну добу та на 50,8 % через сім діб у порівнянні з інтактними щурами. Щодо CD8+, то їх вміст був також знижений відносно інтактних тварин на 14,7 % ($p < 0,05$) через одну добу та на 19,3 % через сім діб ($p < 0,05$). При цьому достовірних змін зазнав і імунорегуляторний індекс (CD4+/CD8+). Він зменшився на 39,5 ($p < 0,05$) через сім діб у порівнянні з інтактними щурами. Вміст загальних В-лімфоцитів в крові щурів з гострим галактозаміновим гепатитом на тлі гіпотиреозу зменшився на 37,1 % ($p < 0,05$) через одну добу та на 41,9 % стосовно інтактних тварин через сім діб ($p < 0,05$). Виявлена недостатність клітинної ланки імунної відповіді відображає посилення взаємного негативного впливу запального процесу у печінці і системних порушень імунного захисту за умов супутнього дефіциту гормонів щитоподібної залози.

Висновки. 1. У крові щурів з модельованим гіпотиреозом спостерігаються виражені порушення з боку клітинної ланки імунітету крові у вигляді Т-лімфоцитопенії, дисбалансу субпопуляційного складу Т-лімфоцитів з переважним зменшенням Т-хелперів, зменшення імунорегуляторного індексу та зниження вмісту загальних В-лімфоцитів.

2. За умови гострого галактозамінового гепатиту у крові щурів зсуви з боку вивчених імунологічних показників характеризувалися Т-лімфоцитозом, дисбалансом субпопуляційного складу Т-лімфоцитів з переважним підвищенням Т-хелперів, збільшенням імунорегуляторного індексу та підвищенням вмісту загальних В-лімфоцитів.

3. За умови експериментального галактозамінового гепатиту на тлі гіпотиреозу виявляється суттєве зниження CD-3-лімфоцитів, порушення співвідношення основних субпопуляцій лімфоцитів (CD-4 і CD-8), що супроводжується достовірним зниженням імунорегуляторного індексу та виражене зниження вмісту загальних В-лімфоцитів.

Література

- Бондарь Т.Н. Особенности антителогенеза при экспериментальном гипотиреозе / Т.Н.Бондарь // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: біологія. – 2009. – Вип. 10, № 878. – С. 102–108.
- Борисова Т.А. Показатели иммунной регуляции в диагностике гипотиреоза / Т.А. Борисова, И.А. Курникова // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 9. – С. 72–75.
- Венгеровский А.И., Саратиков А.С. Метаболизм липидов и функциональное состояние печени при интоксикации D-галактозамином у крыс // Пат. физиол. и эксперим. тер. – 1988. – № 3. – С. 52–55.
- Забігайло Ю.С. Маркетинговий аналіз лікарських препаратів для лікування гіпотиреозу на фармацевтичному ринку України / Ю.С. Забігайло // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2014. – №2. – С. 63–68.
- Кравченко В.І. Динаміка захворюваності на патологію щитоподібної залози в Україні / В.І. Кравченко, С.В. Постол // Международный Эндокринологический журнал. – 2011. – № 3 (35). – С. 56–59.
- Михайловська Н.С. Клініко-патогенетична роль імунозапальних порушень та ендотеліальної дисфункції у хворих на ішемічну хворобу серця, коморбідну з гіпотиреозом (огляд літератури) / Н.С. Михайловська, Т.В. Олійник, Я.М. Михайловський // Буковинський медичний вісник. – 2015. – Том 19, № 1 (73). – С. 227–231.

- Мозеров С.А. Гипотиреоз и психическое здоровье / С.А. Мозеров, Л.Д. Эркенова // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. – 2011. – Том 1, № 7. – С. 29–31.
- Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. – К.: Авіцена, 2002. – 156 с.
- Остапенко О.В. Электронно-микроскопическое исследование ациноцитов поджелудочной железы крыс на поздних этапах гипотиреоза / О.В. Остапенко, Н.П. Барсуков // Наукові праці Південного філіалу Національного університету біоресурсів і природокористування України "Кримський агротехнологічний університет". Сер. : Ветеринарні науки. – 2013. – Вип. 155. – С. 183–187.
- Реакция паренхимы печени на подкожное введение фрагментов тканей щитовидной железы и плаценты при экспериментальном гипотиреозе / В.И. Чуйкова, Т.Н. Юрченко, Т.М. Шарлай [и др.] // Проблемы криобиологии. – 2011. – Т. 21, № 1. – С. 85–95.
- Семерикова М.В. Особенности клеточного и гуморального иммунитета у женщин с наружным генитальным эндометриозом в сочетании с гипотиреозом / М.В. Семерикова, Т.С. Качалина, Л.Г. Стронгин // Медицинский альманах. – 2011. – № 6 (19). – С. 126–128.
- Скрипник Н.В. Патогенетичні основи неврологічних порушень у хворих на гіпотиреоз та їх корекція. Огляд літератури та особисті дані / Н.В. Скрипник, В.А. Гриб, Н.І. Кубарич, Т.С. Вацеба // Практикуючий лікар. – 2012. – № 4. – С. 55–60.
- Черний В.И. Нарушения иммунитета при критических состояниях: особенности диагностики / В.И. Черний, А.Н. Нестеренко // Внутренняя медицина. – 2007. – №2. – С. 12 – 22.
- Bunders M. Age-related standards for total lymphocyte, CD4+ and CD8+ T cell counts in children born in Europe / M. Bunders, M. Cortina-Borja, M. L Newell // *Pediatr. Infect. Dis. J.* – 2005. – Vol. 24, N 7. – P. 595–600.
- Experimental evidence pointing to the bidirectional interaction between the immune system and the thyroid axis / Klecha A.J., Genaro A.M., Lysionek A.E. [et al.] // *Internat. J. Immunopharmacol.* – 2000. – Vol. 22. – P. 491–500.
- Isman C.A. Methimazole-induced hypothyroidism in rats ameliorates oxidative injury in experimental colitis / C.A. Isman, B.C. Yegen, I. Alican // *J. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 177, N 3. – P. 471–476.
- Malik R. The relationship between the thyroid gland and the liver / R. Malik, H. Hodgson // *Quart. J. Med.* – 2002. – Vol. 95, N 9. – P. 559–569.
- Palacios S.S. Management of Subclinical Hyperthyroidism / S. S. Palacios, E. Pascual-Corrales, J. C. GalofreInt // *J. Endocrinol. Metab.* – 2012. – Vol. 10(2). – P. 490–496.