

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СПОСОБА МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИПОТИРЕОЗА У КРЫС

¹Полиданов М.А., ¹Кашихин А.А., ¹Цуканова П.Б., ²Волков К.А.,

²Капралов С.В., ²Масляков В.В., ²Хмара А.Д., ²Фрейтаг А.А.,

²Майоров Р.В., ²Турлыкова И.А., ³Ванжа Я.Е., ⁴Базаров Д.В.

¹ЧУОО ВО «Медицинский университет «Реавиз», Санкт-Петербург;

²ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет
имени В.И. Разумовского», Саратов;

³СПБ ГБУЗ «Городская больница № 9», Санкт-Петербург;

⁴ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва

Гипотиреоз – заболевание эндокринной системы, которое развивается при недостаточной выработке щитовидной железой гормонов тироксина и трийодтиронина, отвечающих за регуляцию метаболизма, работу сердца, терморегуляцию и другие жизненно важные процессы. Для изучения механизмов развития гипотиреоза и поиска эффективных методов лечения, несомненно, важно проводить эксперименты на лабораторных моделях. Цель исследования – экспериментально обосновать способ моделирования гипотиреоза у крыс. Для проведения эксперимента использовалось 15 взрослых крыс породы «Стандарт» массой 200–250 г. Гипотиреоз был индуцирован путем прямого введения 0,9 % физиологического раствора хлорида натрия непосредственно в ткань щитовидной железы через малоинвазивный доступ путем пункции щитовидной железы иглой инсулинового шприца в теоретически рассчитанной и экспериментально подтвержденной дозе 2 мл. В течение 14 дней за крысами наблюдали. С целью выявления признаков гипотиреоза каждые три дня проводили взвешивание крыс для оценки динамики изменения массы тела и проводили тест «Открытое поле». Кроме того, на 1-й и 14-й день эксперимента из хвостовой вены брали кровь для анализа уровня тироксина 1, трийодтиронина и тиреотропного гормона. После окончания проведения эксперимента, на 14-й день, крысы были эвтаназированы, щитовидные железы извлечены и зафиксированы в 10%-ном формалине для последующего гистологического исследования. Экспериментально подтверждено, что разработанный способ вызывает развитие гипотиреоза у крыс, что проявляется характерными физиологическими и морфологическими изменениями и может служить основой для дальнейших исследований в области эндокринологии и фармакологии. Полученные результаты подтверждают, что прямое введение 0,9 % физиологического раствора в щитовидную железу эффективно моделирует состояние гипотиреоза у крыс, вызывая характерные физиологические и морфологические изменения.

Ключевые слова: гипотиреоз, щитовидная железа, гормоны щитовидной железы, моделирование, эксперимент

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE METHOD OF MODELING HYPOTHYROIDISM IN RATS

¹Polidanov M.A., ¹Kashikhin A.A., ¹Tsukanova P.B., ²Volkov K.A.,

²Kapralov S.V., ²Maslyakov V.V., ²Khmara A.D., ²Freytag A.A.,

²Mayorov R.V., ²Turlykova I.A., ³Vanzha Ya.E., ⁴Bazarov D.V.

¹Medical University “Reaviz”, Saint Petersburg;

²Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov;

³Saint Petersburg State Budgetary Institution City Hospital № 9, Saint Petersburg;

⁴Russian Scientific Center of Surgery named after Academician B.V. Petrovsky, Moscow

Hypothyroidism is a disease of the endocrine system that develops when the thyroid gland insufficiently produces thyroxine and triiodothyronine hormones responsible for metabolic regulation, heart function, thermoregulation and other vital processes. To study the mechanisms of hypothyroidism development and search for effective methods of treatment, it is undoubtedly important to conduct experiments on laboratory models. Purpose of the study. To experimentally substantiate the method of modeling hypothyroidism in rats. For the experiment, 15 adult Standard rats weighing 200–250 g were used. Hypothyroidism was induced by direct injection of 0,9 % physiologic sodium chloride solution directly into the thyroid tissue through minimally invasive access by puncturing the thyroid gland with an insulin syringe needle at a theoretically calculated and experimentally validated dose of 2 ml. The rats were monitored for 14 days. In order to detect signs of hypothyroidism, the rats were weighed every three days to assess the dynamics of body weight changes and the “open field” test was performed. In addition, on the 1-st and 14-th day of the experiment blood was taken from the tail vein to analyze the level of thyroxine 1, triiodothyronine and thyroid hormone. After completion of the experiment on day 14, the rats were euthanized, thyroid glands were extracted and fixed in 10 % formalin for subsequent histological examination. It was experimentally confirmed that the developed method causes the development of hypothyroidism in rats, which is manifested by characteristic physiological and morphological changes and can serve as a basis for further studies in the field of endocrinology and pharmacology. The obtained results confirm that direct injection of 0,9 % physiological solution into the thyroid gland effectively simulates the state of hypothyroidism in rats, causing characteristic physiological and morphological changes.

Keywords: hypothyroidism, thyroid, thyroid hormones, modeling, experiment

Введение

Гипотиреоз – заболевание эндокринной системы, которое развивается при недостаточной выработке щитовидной железой гормонов тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3) [1; 2]. Данные гормоны регулируют экспрессию генов, отвечающих за энергетический обмен, синтез белков, терморегуляцию и клеточную дифференцировку [3; 4]. Их недостаток приводит к снижению скорости метаболических процессов, что проявляется в виде системных нарушений [5–7] и объясняет слабость больных и непереносимость физической нагрузки. Кроме того, нарушается транскрипция генов, кодирующих транспортные белки (например, альбумин), что усиливает гипопроотеинемия и отеки [8–10].

Для изучения структурно-функциональных изменений в различных органах и тканях в настоящее время исследователями широко применяются как хирургические, так и нехирургические методы моделирования экспериментальных патологических состояний.

Так, из уровня техники известен способ моделирования гипотиреоза [11], включающий применение тиамазола (мерказолила), который вводят однократно в желудок в виде водно-крахмальной суспензии в суточных дозах 5–50 мг/кг массы тела крысы в течение 21 дня. Способ позволяет получить модель гипотиреоза с возможностью спонтанного восстановления функции щитовидной железы и с сохранением нарушения функции на необходимое для развития терапевтического эффекта лекарственных средств коррекции времени.

Однако способ имеет ряд существенных ограничений. Прежде всего, использование тиамазола (антигипотиреодного препарата с известным механизмом действия) в виде водно-крахмальной суспензии при внутрижелудочном введении может быть недостаточно точным, поскольку биодоступность препарата может варьироваться в зависимости от индивидуальных особенностей животных, таких как моторика желудочно-кишечного тракта и кислотность содержимого, что снижает воспроизводимость модели. Кроме того, широкий диапазон дозировки (5–50 мг/кг) без четкого обоснования выбора конкретной дозы в тексте затрудняет стандартизацию метода и сравнение результатов между исследованиями. Также вызывает сомнение оценка спонтанного восстановления функции щитовидной железы: не указаны сроки, критерии и механизмы этого восстановления, а также отсутствуют данные о динамике уров-

ней тиреоидных гормонов (Т3, Т4, ТТГ) на протяжении эксперимента, поэтому сложно объективно оценить степень выраженности и стабильность гипотиреоза. Еще одним недостатком является отсутствие контрольной группы, получавшей плацебо, что не позволяет исключить влияние стресса и других факторов, связанных с ежедневным внутрижелудочным введением, на общее состояние животных и метаболические показатели. В целом, хотя способ и позволяет добиться снижения функции щитовидной железы, его точность, воспроизводимость и клиническая релевантность требуют дополнительного обоснования и доработки.

Известен способ экспериментального моделирования гипотиреоза у лабораторных крыс [12], который включает содержание лабораторных крыс на рационе с низким содержанием йода по 20 г смеси в сутки индивидуально каждому животному в течение 30 дней, после чего осуществляют введение тиамазола в дозе 2,5 мг/100 г живой массы в течение 21 дня. Затем в восстановительный период животных также содержат на рационе с низким содержанием йода. Использование изобретения позволяет достичь гипопункции щитовидной железы, которая характеризуется снижением уровня тироксина и трийодтиронина в крови и повышением уровня тиреотропного гормона, а также сохранения данного состояния в восстановительный период после прекращения введения крысам тиреостатического средства.

Однако данный способ имеет ряд существенных недостатков. Во-первых, отсутствует информация о динамике гормональных показателей (Т3, Т4, ТТГ) на разных этапах эксперимента, что не позволяет точно оценить степень подавления функции щитовидной железы и эффективность модели. Во-вторых, применение низкоiodного рациона в сочетании с мерказолилом может привести к слишком выраженному и не всегда физиологически обоснованному снижению тиреоидной активности, что делает модель менее релевантной для изучения клинических форм гипотиреоза у человека. В-третьих, использование дистиллированной воды для поения может повлиять на общее водно-электролитное состояние животных и, как следствие, исказить метаболические и гормональные параметры. Также не указаны сроки и критерии восстановления функции щитовидной железы, а отсутствие контрольной группы, не получавшей вмешательства, не позволяет исключить влияние стресса и изменений рациона на результаты исследования. Таким

образом, хотя модель потенциально применима для оценки йодсодержащих препаратов, ее адекватность, точность и воспроизводимость требуют дополнительного обоснования и углубленного методологического анализа.

В связи с вышеизложенным нами принята попытка создания модели мининвазивного хирургического гипотиреоза без удаления органа.

Цель исследования – экспериментально обосновать способ моделирования гипотиреоза у крыс.

Материалы и методы исследования

Для проведения эксперимента использовалось 15 взрослых крыс породы «Стандарт» массой 200–250 г. Все животные содержались в стандартных условиях вивария при температуре 22 °С, относительной влажности воздуха 55% и 12-часовом световом цикле. Крысы получали стандартный рацион и воду *ad libitum*.

Гипотиреоз был индуцирован (смоделирован) путем прямого введения 0,9% физиологического раствора хлорида натрия непосредственно в ткань щитовидной железы через малоинвазивный доступ путем пункции щитовидной железы иглой инсулинового шприца в теоретически рассчитанной и экспериментально подтвержденной дозе 2 мл.

Малоинвазивный доступ размером 1 см обеспечен вертикальным разрезом кожного покрова, подкожно-жировой клетчатки и мышечного слоя. После введения физиологического раствора непосредственно в ткань щитовидной железы вертикальный разрез ушивали послойно (мышечный слой, подкожно-жировая клетчатка, кожный покров) с последующим наложением асептической повязки на место оперативного вмешательства для создания асептических условий и предупреждения занесения инфекции.

Все оперативные вмешательства проводили с использованием золотил-ксилазинового наркоза по следующей схеме: золотил 0,3 мг в/м, ксиланит 0,8 мг в/м из расчета на 100 г массы тела животного продолжительностью от 30 мин до 1 ч, в зависимости от длительности оперативного малоинвазивного вмешательства. Наркоз верифицировали по исчезновению реакции на болевые раздражители (укол лапы лабораторного животного) и угнетению роговичного рефлекса. За период использования золотил-ксилазинового наркоза не было выявлено ни одного случая гибели крыс от остановки дыхания или нарушения сердечной деятельности, про-

буждения во время операции зарегистрировано не было.

В течение 14 дней за крысами наблюдали. С целью выявления признаков гипотиреоза каждые три дня проводили взвешивание крыс для оценки динамики изменения массы тела и проводили тест «открытого поля» [13, с. 32]. Кроме того, на 1-й и 14-й дни эксперимента из хвостовой вены брали кровь для анализа уровня тироксина (Т4), трийодтиронина (Т3) и тиреотропного гормона (ТТГ). После окончания проведения эксперимента на 14-й день крысы были эвтаназированы, щитовидные железы извлечены и зафиксированы в 10%-ном формалине для последующей гистологической обработки и микроскопического исследования.

Разрешение на проведение исследования дано локальным этическим комитетом (ЛЭК) ЧУОО ВО «Медицинский университет «Реавиз» (протокол ЛЭК номер 12 от 03.12.2024). Условия содержания в виварии лабораторных животных регламентированы РД-АПК 3.10.07.02-09 «Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений», приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными».

Результаты исследования и их обсуждение

У крыс, получавших физиологический раствор, наблюдалось значительное увеличение массы тела (на 50–80 г) по сравнению с началом эксперимента. К концу 14-го дня разница в массе тела между периодами была 260–330 г. В тесте «Открытое поле» крысы с гипотиреозом проявляли сниженную активность и слабую тревожность по сравнению с началом эксперимента. Концентрация Т4 и Т3 в крови крыс была значительно снижена, а уровень ТТГ, напротив, повышен, что обусловлено патофизиологическими механизмами, связанными с недостаточной функцией щитовидной железы и вторичным повышением стимуляции со стороны гипофиза с целью компенсации гормональной недостаточности [14, с. 7]. Эти изменения отражают типичную картину гипотиреоза, индуцированного экспериментально, и свидетельствуют о нарушении синтеза тиреоидных гормонов на периферическом уровне (табл. 2), по сравнению с началом эксперимента (табл. 1).

Таблица 1

Результаты анализа крови на гормоны щитовидной железы и тиреотропный гормон до начала эксперимента (на 1-й день проведения эксперимента)

№ крысы	T3 (нмоль/л) по результатам исследования на 1-й день проведения эксперимента (норма = 1,5)	T4 (нмоль/л) по результатам исследования на 1-й день проведения эксперимента (норма = 25,0±5,5)	Тиреотропный гормон (мг на 1 мг) белка по результатам исследования на 1-й день проведения эксперимента (норма = 30,0±5,0)
1	1,48	27,3	32,1
2	1,52	20,1	28,4
3	1,45	29,8	35,6
4	1,55	22,5	26,7
5	1,5	26,0	30,0
6	1,53	31,2	33,3
7	1,47	19,0	31,5
8	1,51	24,5	29,2
9	1,5	28,0	30,5
10	1,49	23,7	27,8
11	1,54	25,5	34,0
12	1,46	18,9	25,1
13	1,54	30,4	31,9
14	1,5	24,8	29,6
15	1,51	26,3	30,8

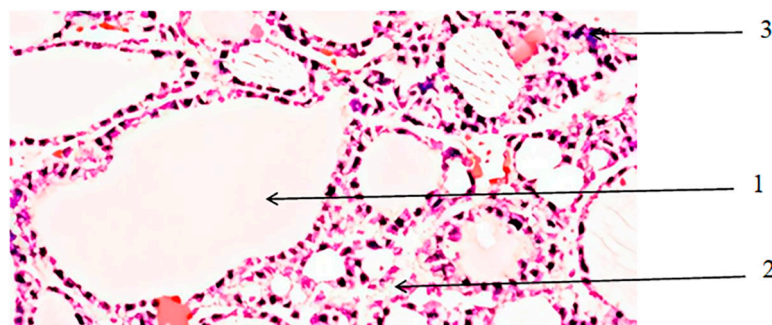
Источник: составлено авторами на основе полученных данных в ходе исследования.

Таблица 2

Результаты анализа крови на гормоны щитовидной железы и тиреотропный гормон после завершения эксперимента (на 14-й день проведения эксперимента)

№ крысы	T3 (нмоль/л) по результатам исследования на 14-й день эксперимента (норма = 1,5)	T4 (нмоль/л) по результатам исследования на 14-й день эксперимента (норма = 25,0±5,5)	Тиреотропный гормон (мг на 1 мг) белка по результатам исследования на 14-й день эксперимента (норма = 30,0±5,0)
1	0,6	10,2	58,0
2	0,5	8,5	62,3
3	0,4	12,0	65,7
4	0,7	6,8	55,1
5	0,57	5,8	65,7
6	0,44	6,2	51,9
7	0,67	10,0	55,0
8	0,5	5,45	68,8
9	0,76	3,51	70,1
10	0,8	5,1	57,5
11	0,76	4,99	58,8
12	0,6	6,7	59,0
13	0,6	13,2	61,2
14	0,51	8,0	66,7
15	0,4	12,0	58,7

Источник: составлено авторами на основе полученных данных в ходе исследования.



Морфология смоделированного гипотиреоза у крыс, окраска Г/Э, ув. X 200:

1 – атрофия фолликулов, переполненных коллоидом с уплощением эпителия;

2 – разрастание соединительной ткани; 3 – лимфоцитарная инфильтрация

Источник: фото микропрепарата получено авторами самостоятельно в ходе исследования

На гистологической картине отмечается атрофия фолликулов, переполненных коллоидом с уплощением эпителия. В строме наблюдается разрастание соединительной ткани с лимфоцитарной инфильтрацией (рисунок). Полученные результаты [15] подтверждают, что прямое введение физиологического раствора в щитовидную железу эффективно моделирует состояние гипотиреоза у крыс, вызывая характерные физиологические и морфологические изменения. Полученные данные могут быть полезны для дальнейшего изучения патогенеза гипотиреоза и разработки новых терапевтических стратегий.

Заключение

Таким образом, экспериментально подтверждено, что разработанный способ вызывает развитие гипотиреоза у крыс, что проявляется характерными физиологическими и морфологическими изменениями и может служить основой для дальнейших исследований в области эндокринологии и фармакологии. Полученные результаты подтверждают, что прямое введение 0,9% физиологического раствора в щитовидную железу эффективно моделирует состояние гипотиреоза у крыс, вызывая характерные физиологические и морфологические изменения.

Список литературы

1. Сергалиева М.У., Абдулкадырова Э.И., Ясеньевская А.Л. Экспериментальные модели патологий щитовидной железы // Астраханский медицинский журнал. 2020. № 1. URL: <https://www.astmedj.ru/jour/article/view/70> (дата обращения: 23.08.2025). DOI: 10.17021/2020.15.1.98.107.
2. Чартаков К., Разаков Б.Ю. Экспериментальные модели патологии щитовидной железы // Мировая наука. 2024. № 4 (85). С. 80–83. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/eksperimentalnye-modeli-patologii-schitovidnoy-zhelezy> (дата обращения: 01.06.2025).
3. Hughes K., Eastman C. Thyroid disease: Long-term management of hyperthyroidism and hypothyroidism // Aust J Gen Pract. 2021. Vol. 50, Is. 1–2. P. 36–42. DOI: 10.31128/AJGP-09-20-5653.

4. Чаулин А.М., Григорьева Ю.В., Суворова Г.Н., Дупляков Д.В. Методы моделирования гипотиреоза: классификация, принципы моделирования // Молекулярная медицина. 2021. Т. 19. № 4. С. 19–26. DOI: 10.29296/24999490-2021-04-04.

5. Gottwald-Hostalek U., Schulte B. Low awareness and under-diagnosis of hypothyroidism // Curr Med Res Opin. 2022. Vol. 38, Is. 1. P. 59–64. DOI: 10.1080/03007995.2021.1997258.

6. Davis M.G., Phillippi J.C. Hypothyroidism: Diagnosis and Evidence-Based Treatment // J. Midwifery Womens Health. 2022. Vol. 67. № 3. P. 394–397. DOI: 10.1111/jmwh.13358.

7. Taylor P.N., Medici M.M., Hubalewska-Dydejczyk A., Boelaert K. Hypothyroidism // Lancet. 2024. Vol. 404, Is. 10460. P. 1347–1364. DOI: 10.1016/S0140-6736(24)01614-3.

8. Brenta G., Gottwald-Hostalek U. Comorbidities of hypothyroidism // Curr Med Res Opin. 2025. Vol. 41, Is. 3. P. 421–429. DOI: 10.1080/03007995.2025.2476075.

9. Feldt-Rasmussen U., Effraimidis G., Bliddal S., Klose M. Consequences of undertreatment of hypothyroidism // Endocrine. 2024. Vol. 84, Is. 2. P. 301–308. DOI: 10.1007/s12020-023-03460-1.

10. Urgatz B., Razvi S. Subclinical hypothyroidism, outcomes and management guidelines: a narrative review and update of recent literature // Curr Med Res Opin. 2023. Vol. 39, Is. 3. P. 351–365. DOI: 10.1080/03007995.2023.2165811.

11. Патент на изобретение RU 2165648 C2, 20.04.2001. Заявка № 97120428/14 от 26.11.1997. Чугунова Л.Г., Рябков А.Н., Савилов К.В. Способ моделирования гипотиреоза. [Электронный ресурс]. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2165648C2/ru> (дата обращения: 31.05.2025).

12. Патент на изобретение RU 2818124 C1, 24.04.2024. Заявка № 2023118050 от 09.07.2023. Дельцов А.А., Бачинская В.М., Белова К.О. Способ экспериментального моделирования гипотиреоза у лабораторных крыс. [Электронный ресурс]. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2818124C1/ru> (дата обращения: 31.05.2025).

13. Синдаков Д.Б. Методология и методика физиологического эксперимента. Материалы для спецкурса: учеб.-метод. пособие для студентов кафедры физиологии человека и животных биологического факультета БГУ. Мн.: БГУ, 2007. 70 с. URL: https://elibrary.bsby.by/bitstream/123456789/104931/1/Sandakov_book.pdf (дата обращения: 31.05.2025).

14. Скударнова И.М., Соболева Н.В., Мычка Н.В. Гормоны щитовидной железы: пособие для врачей. Кольцово: ЗАО «Вектор-Бест», 2006. 32 с. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.zavlab.ru/files/pdf/gormon.pdf> (дата обращения: 31.05.2025).

15. Заявка на патент РФ № 2025114782 от 30.05.2025. Петрунькин Р.П., Полиданов М.А., Волков К.А., Кашихин А.А., Цуканова П.Б., Кравченко А.Р., Капралов С.В., Масляков В.В., Кулигин А.В., Хмара А.Д., Ванжа Я.Е., Графова Е.В., Турлыкова И.А., Гавруков Д.С., Дебердеева К.И., Дутов Е.П., Котенко Е.Н. Способ моделирования гипотиреоза у крыс в эксперименте. [Электронный ресурс]. URL: https://www.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet (дата обращения: 31.05.2025).