

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СПОСОБА МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИПЕРТИРЕОЗА У КРЫС

¹Полиданов М.А., ²Волков К.А., ¹Цуканова П.Б., ¹Кашихин А.А., ²Капралов С.В.,
²Масляков В.В., ³Базаров Д.В., ⁴Ванжа Я.Е., ²Турлыкова И.А., ²Хмара А.Д.

¹Частное учреждение образовательная организация высшего образования Университет «Реавиз»,
Санкт-Петербург, Российская Федерация, e-mail: maksim.polidanoff@yandex.ru;

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский государственный медицинский университет
имени В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Российская Федерация;

³Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский научный
центр хирургии им академика Б.В. Петровского», Москва, Российская Федерация;

⁴Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения
«Городская Больница № 9», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Гипертиреоз – состояние, характеризующееся избыточной выработкой гормонов щитовидной железы. Для изучения механизмов развития гипертиреоза и поиска эффективных методов лечения, несомненно, важно проводить эксперименты на лабораторных моделях. Цель исследования. Экспериментально обосновать способ моделирования гипертиреоза у крыс. Для проведения эксперимента использовались 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. Гипертиреоз был индуцирован путем прямого введения суспензии левотироксина натрия в 0,9% растворе хлорида натрия в концентрации 0,94 мкг/мл непосредственно в ткань щитовидной железы через малоинвазивный доступ путем пункции щитовидной железы иглой инсулинового шприца в теоретически рассчитанной и экспериментально подтвержденной дозе 0,0125 мл/г. В течение 14 дней за крысами наблюдали. С целью выявления признаков гипертиреоза каждые три дня проводили взвешивание крыс для оценки динамики изменения массы тела и проводили тест «открытого поля». Кроме того, на 1-й и 14-й день эксперимента из хвостовой вены брали кровь для анализа уровня тироксина, трийодтиронина и тиреотропного гормона. Экспериментально было подтверждено, что заявляемый способ вызывает развитие гипертиреоза у крыс, что проявляется характерными физиологическими и морфологическими изменениями и может служить основой для дальнейших исследований в области эндокринологии и фармакологии. Способ моделирования гипертиреоза у крыс в эксперименте характеризуется тем, что предварительно анестезированной крысе через малоинвазивный доступ в ткань щитовидной железы иглой инсулинового шприца вводят суспензию левотироксина натрия в 0,9% растворе хлорида натрия в концентрации 0,94 мкг/мл в дозе 0,0125 мл/г.

Ключевые слова: гипертиреоз, щитовидная железа, гормоны щитовидной железы, левотироксин натрия, моделирование, эксперимент

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE METHOD OF MODELING HYPERTHYROIDISM IN RATS

¹Polidanov M.A., ²Volkov K.A., ¹Tsukanova P.B., ¹Kashikhin A.A., ²Kapralov S.V.,
²Maslyakov V.V., ³Bazarov D.V., ⁴Vanja Y.E., ²Turlykova I.A., ²Khmara A.D.

¹Private institution of higher education University "Reaviz", Saint Petersburg,
Russian Federation, e-mail: maksim.polidanoff@yandex.ru;

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Saratov State Medical
University named after V.I. Razumovsky", Saratov, Russian Federation;

³Federal State Budgetary Scientific Institution "Russian Scientific Center of Surgery
named after Academician BV Petrovsky", Moscow, Russian Federation;

⁴St. Petersburg State Budgetary Institution City Hospital № 9, Saint Petersburg, Russian Federation

Hyperthyroidism is a condition characterized by excessive production of thyroid hormones. To study the mechanisms of hyperthyroidism development and to find 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 hyperthyroidism in rats. For the experiment, 15 adult Standard rats weighing 200–250 g were used. All animals were kept in standard vivarium conditions at a temperature of 22 °C, relative humidity of 55%, and a 12-hour light cycle. Hyperthyroidism was induced by direct administration of a suspension of levothyroxine sodium in 0,9% sodium chloride solution at a concentration of 0,94 µg/ml directly into the thyroid tissue through a minimally invasive access by puncturing the thyroid gland with an insulin syringe needle at a theoretically calculated and experimentally confirmed dose of 0,0125 ml/g. The rats were observed for 14 days. In order to identify signs of hyperthyroidism, the rats were weighed every three days to assess changes in body weight and an «open field» test was performed. In addition, on the 1st and 14th days of the experiment, blood was taken from the tail vein to analyze the levels of thyroxine, triiodothyronine, and thyroid-stimulating hormone. It was experimentally confirmed that the claimed method causes the development of hyperthyroidism 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 method of modeling hyperthyroidism in rats in the experiment, characterized by the fact that the pre-anesthetized rat through a minimally invasive access into the thyroid tissue with the needle of an insulin syringe is injected with a suspension of levothyroxine sodium in 0,9% sodium chloride solution at a concentration of 0,94 µg/ml at a dose of 0,0125 ml/g.

Keywords. Hyperthyroidism, thyroid, thyroid hormones, sodium levothyroxine, modeling, experiment

Введение

Гипертиреоз – состояние, характеризующееся избыточной выработкой гормонов щитовидной железы (тироксина и трийодтиронина), что приводит к ускорению метаболизма и различным физиологическим изменениям в организме [1; 2]. Ткань щитовидной железы заполнена преимущественно сферическими тиреоидными фолликулами [3]. Каждый фолликул представляет собой слой кубовидных клеток (тиреоцитов), окружающих полость, заполненную коллоидом, главной составляющей которого является белок тиреоглобулин (ТГ) [4-6]. Клетки обращены внутрь полости апикальными поверхностями, на которых имеются микроворсинки, проникающие в коллоид. Между фолликулами располагаются кровеносные капилляры [7; 8].

Для изучения механизмов развития гипертиреоза и поиска эффективных методов лечения, несомненно, важно проводить эксперименты на лабораторных моделях.

Так, уже известен способ моделирования гипертиреоза [9], включающий пересечение диафрагмального нерва с последующей имплантацией его конца в ткань щитовидной железы. С целью введения животного в состояние тиреотоксического криза путем создания в организме избыточного количества гормонов щитовидной железы, через 2-3 мес. после имплантации нерва ткань щитовидной железы подвергают механическому разрушению.

Однако, несмотря на определённую эффективность данного способа, он имеет ряд существенных недостатков. Во-первых, использование местной анестезии с низкой концентрацией новокаина (0,025%) может быть недостаточным для полноценного обеспечения анестезии в ходе сложного хирургического вмешательства, что повышает риск стресса и болевого шока у животных, а также может влиять на результаты эксперимента. Во-вторых, необходимость двукратного хирургического вмешательства увеличивает риск развития послеоперационных осложнений, таких как инфекция, воспаление или нарушение функции окружающих тканей, что может отрицательно сказаться на выживаемости подопытных особей и вносить дисбаланс в исследуемые параметры. В-третьих, механическое травмирование щитовидной железы зажимом Кохера может вызывать неспецифическое воспаление и фиброз, что затрудняет интерпретацию гормональных изменений и патоморфологических данных, поскольку эти изменения могут быть обусловлены не только гипертиреозом, но и посттравма-

тической реакцией ткани. Кроме того, длительный период наблюдения (2-3 месяца) делает модель трудоёмкой и менее воспроизводимой в краткосрочных исследованиях. Наконец, использование собак вместо более распространённых лабораторных животных (например, крыс или мышей) ограничивает доступность модели и усложняет её стандартизацию.

Известен способ моделирования тиреотоксикоза и коллоидного зоба [10], согласно которому животному внутрижелудочно вводят тиреотом в еженедельно возрастающей дозе, начиная с 25 до 200 мкг/кг, в течение 6 недель с последующим определением функциональной активности щитовидной железы. Способ обеспечивает создание такой патологии щитовидной железы, которая позволяет получить в крови и периферических органах клиническую картину гиперфункции щитовидной железы, а в тиреоидной паренхиме создать патологию коллоидного зоба.

Несмотря на то, что способ моделирования тиреотоксикоза и коллоидного зоба позволяет достичь выраженной гиперфункции щитовидной железы и морфологических изменений в её ткани, он имеет ряд потенциальных недостатков. Во-первых, длительное внутрижелудочное введение тиреотома в возрастающих дозах (от 25 до 200 мкг/кг) в течение 6 недель является трудоёмким и требует строгого контроля за каждым этапом введения, что может снижать воспроизводимость модели в разных лабораториях. Во-вторых, индивидуальная вариабельность метаболизма препарата у животных может приводить к неоднородности модели – у некоторых особей может развиваться недостаточно выраженный тиреотоксикоз или, напротив, чрезмерная стимуляция щитовидной железы, что затрудняет стандартизацию исследований. В-третьих, отсутствие хирургического контроля над состоянием щитовидной железы и уровнями гормонов в динамике введения препарата может ограничивать точность оценки развития патологии. Кроме того, сам механизм моделирования, основанный исключительно на фармакологическом воздействии, не воспроизводит возможных иммунных или нейрогуморальных компонентов, характерных для некоторых форм клинического гипертиреоза у человека, что снижает адекватность данной модели для изучения определённых патофизиологических аспектов заболевания.

Известен способ создания экспериментальной модели карциномы Льюиса в условиях гипертиреоза [11], согласно которому самкам и самцам мышей C57BL/6 в течение

пяти дней вводят внутривенно лекарственное вещество лиотиронин в дозировке 20 мкг/100 г в 0,5 мл физиологического раствора с понедельника по пятницу 1 раз в день, затем подкожно перевивают карциному Льюиса в дозе 2 млн клеток в 0,5 мл физиологического раствора.

Преимущество способа заключается в возможности установить усиление злокачественного потенциала опухоли за счёт стимуляции её роста и снижения продолжительности жизни животных, изучать патогенез онкологического процесса в условиях коморбидной патологии, что особенно актуально для онкологической клиники, а также разрабатывать и тестировать адекватные терапевтические воздействия на опухоль, при этом предложенный метод является экономичным, воспроизводимым и доступным для использования в лабораторной практике.

Однако данный способ имеет ряд потенциальных ограничений. Во-первых, отсутствие детального описания метода индукции гипертиреоза у мышей снижает воспроизводимость эксперимента и затрудняет его сравнение с другими моделями. Во-вторых, не указаны конкретные параметры подтверждения гипертиреоза (например, уровни ТЗ, Т4, ТТГ), что сильно усложняет оценку степени выраженности эндокринного дисбаланса и его стабильности на протяжении всего исследования. В-третьих, использование карциномы Льюиса – агрессивной и быстро растущей опухоли – на фоне системного тиреотоксикоза может приводить к чрезмерной нагрузке на организм животных, что потенциально усиливает общее состояние истощения и сокращает срок наблюдения, ограничивая возможность изучать долгосрочные эффекты взаимодействия гипертиреоза и опухолевого роста. Кроме того, не рассмотрены возможные половые различия в ответе на комбинацию гипертиреоза и опухолевой патологии, несмотря на то что исследование проводилось на мышах обоего пола, что снижает информативную ценность модели в аспекте половых особенностей течения заболевания.

Цель исследования – экспериментально обосновать способ моделирования гипертиреоза у крыс.

Материалы и методы исследования

Для проведения эксперимента использовались 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 све-

товом цикле. Крысы получали стандартный рацион и воду *ad libitum*. Гипертиреоз был индуцирован (смоделирован) путем прямого введения суспензии левотироксина натрия (L-T4) [13, с. 201] в 0.9% растворе хлорида натрия в концентрации 0,94 мкг/мл непосредственно в ткань щитовидной железы через малоинвазивный доступ путем пункции щитовидной железы иглой инсулинового шприца в теоретически рассчитанной и экспериментально подтвержденной дозе 0,0125 мл/г.

Малоинвазивный доступ размером 1 см обеспечен вертикальным разрезом кожного покрова, подкожно-жировой клетчатки и мышечного слоя. После введения суспензии 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 сопровождали с использованием золетил-ксилазинового наркоза по следующей схеме: золетил 0,3 мг в/м, ксиланит 0,8 мг в/м из расчета на 100 г массы тела животного продолжительностью от 30 минут до 1 часа, 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 золетил-ксилазинового наркоза не было выявлено ни одного случая гибели крыс от остановки дыхания или сердечной деятельности, а также пробуждения во время операции зарегистрировано не было.

В течение 14 дней за крысами наблюдали. С целью выявления признаков гипертиреоза каждые три дня проводили взвешивание крыс для оценки динамики изменения массы тела и проводили тест «открытого поля» [12, с. 32]. Кроме того, на 1-й и 14-й день 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 отражено 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 суспензию, наблюдалось значительное снижение массы тела (на 70 г) по сравнению с началом эксперимента. К концу 14-го дня разница в массе тела между периодами достигла максимума (120-180 г). В тесте «открытого поля» крысы с гипертиреозом проявляли повышенную активность и повышенную тревожность по сравнению с началом эксперимента. Концентрация Т4 и Т3 в крови крыс была зна-

чительно выше, а ТТГ понижен вследствие патофизиологических механизмов, связанных с подавлением секреции тропных гормонов из-за повышенной концентрации Т3 и Т4, что обусловлено ускоренными биохимическими процессами [14, с. 7] (табл. 2) по сравнению с началом проведения эксперимента (табл. 1), что подтверждает успешность индукции гипертиреоза.

Гистологический анализ, представленный на рисунке, показал пролиферативные изменения фолликулярного эпителия щитовидной железы с инвагинацией и уменьшением содержания коллоида, увеличением числа кровеносных сосудов и минимальной лимфоцитарной инфильтрацией в строму, что характерно для функциональной гиперплазии щитовидной железы.

Полученные результаты [15] свидетельствуют о том, что прямое введение суспензии в щитовидную железу успешно моделирует состояние гипертиреоза у крыс, вызывая характерные физиологические и морфологические изменения. Полученные данные могут быть использованы для дальнейшего изучения патогенеза гипертиреоза и разработки новых терапевтических подходов.

Таблица 1

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

№ крысы	Т3 (нмоль/л) по результатам исследования на 1-й день эксперимента (норма = $1,5 \pm 0,05$)	Т4 (нмоль/л) по результатам исследования на 1-й день эксперимента (норма = $25,0 \pm 5,5$)	Тиреотропный гормон, мг на 1 мг белка по результатам исследования на 1-й день эксперимента (норма = $30,0 \pm 5,0$)
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

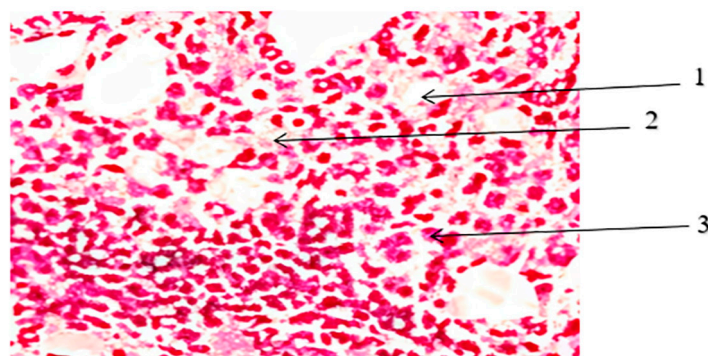
Примечание: составлено авторами на основе полученных данных в ходе исследования.

Таблица 2

Результаты анализа крови на гормоны щитовидной железы и тиреотропного гормона 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	2,8	52,0	12,5
2	3,1	60,2	9,7
3	2,6	45,0	14,0
4	3,3	65,6	8,1
5	4,96	50,0	14,4
6	3,0	58,3	16,6
7	2,95	47,5	15,0
8	3,2	62,1	12,9
9	3,26	43,0	14,7
10	3,33	68,0	12,8
11	4,8	50,0	14,2
12	2,7	51,0	11,0
13	3,2	49,9	9,8
14	2,7	63,5	15,4
15	3,3	47,2	20,0

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



Морфология смоделированного гипертиреоза у крыс:

1 – пролиферативные изменения фолликулярного эпителия щитовидной железы с инвагинацией и уменьшением содержания коллоида; 2 – увеличение количества кровеносных сосудов; 3 – небольшое количество лимфоцитов. Окраска Г/Э, ув. х 200
Источник: фото микропрепарата получено авторами самостоятельно в ходе исследования

Заключение

Таким образом, экспериментально подтверждено, что разработанный способ вызывает развитие гипертиреоза у крыс, что проявляется характерными физиологическими и морфологическими изменениями и может служить основой для дальнейших исследований в области эндокринологии и фармакологии.

Список литературы

1. Сергалиева М.У., Абдулкадырова Э.И., Ясенявская А.Л. Экспериментальные модели патологий щитовидной железы // Астраханский медицинский журнал. 2020. № 1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/eksperimentalnye-modeli-patologiiy-schitovidnoy-zhelezy> (дата обращения: 01.06.2025).
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-patologiiy-schitovidnoy-zhelezy> (дата обращения: 01.06.2025).

3. Chaker L., Cooper D.S., Walsh J.P., Peeters R.P. Hyperthyroidism // *Lancet*. 2024. Vol. 403. № 10428. P. 768-780. DOI: 10.1016/S0140-6736(23)02016-0.
4. Lee S.Y., Pearce E.N. Hyperthyroidism: A Review // *JAMA*. 2023. Vol. 330. № 15. P. 1472-1483. DOI: 10.1001/jama.2023.19052.
5. Hughes K., Eastman C. Thyroid disease: Long-term management of hyperthyroidism and hypothyroidism // *Aust J Gen Pract*. 2021. Vol. 50. № 1-2. P. 36-42. DOI: 10.31128/AJGP-09-20-5653.
6. Kim H.J., McLeod D.S.A. Subclinical Hyperthyroidism and Cardiovascular Disease. *Thyroid*. 2024. Vol. 34. № 11. P. 1335-1345. DOI: 10.1089/thy.2024.0291.
7. Giovanella L. Update on diagnosis and treatment of hyperthyroidism // *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 2021. Vol. 65. № 2. P. 89-90. DOI: 10.23736/S1824-4785.21.03351-3.
8. Tsai K., Leung A.M. Subclinical Hyperthyroidism: A Review of the Clinical Literature // *Endocr Pract*. 2021. Vol. 27. № 3. P. 254-260. DOI: 10.1016/j.eprac.2021.02.002.
9. Авторское свидетельство SU 903951, МПК G09B23/28, опубл. 07.02.1982. Заявка № 2878324 от 22.01.1980. Неймарк М.И. Способ моделирования гипертиреоза. URL: <https://patenton.ru/patent/SU903951A1> (дата обращения: 31.05.2025).
10. Патент RU 2357296, МПК G09B23/28, опубл. 27.05.2009. Заявка № 2007143562/14 от 27.11.2007. Айвазова А.С., Колхир В.К. Способ моделирования тиреотоксикоза и коллоидного зоба. URL: <https://patenton.ru/patent/RU2357296C1> (дата обращения: 31.05.2025).
11. Патент RU 2824963, МПК A61B17/00, G09B23/28, опубл. 16.08.2024. Кит О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Шихлярова А.И., Нескубина И.В., Васильева Е.О., Трепятики Л.К., Качесова П.С., Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д., Ишонина О.Г. Способ создания экспериментальной модели карциномы Льюиса в условиях гипертиреоза. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2824963C1/ru> (дата обращения: 31.05.2025).
12. Синдаков Д.Б. Методика и методология физиологического эксперимента. Материалы для спецкурса: учеб.-метод. пособие для студентов кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Белорусского государственного университета. Мн.: БГУ, 2007. 70 с. УДК 591.1:612(075.8).
13. Харкевич Д.А. Фармакология. 13-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022. 752 с. ISBN: 978-5-9704-6820-3.
14. Скударнова И.М., Соболева Н.В., Мычка Н.В. Гормоны щитовидной железы: пособие для врачей / ЗАО «Вектор-Бест». Кольцово: ЗАО «Вектор-Бест», 2006. 32 с. URL: <http://www.zavlab.ru/files/pdf/gormon.pdf> (дата обращения: 31.05.2025).
15. Заявка на патент РФ № 2025114776 от 30.05.2025. Петрунькин Р.П., Волков К.А., Полиданов М.А., Цуканова П.Б., Кашихин А.А., Капралов С.В., Кравченко А.Р., Масляков В.В., Кулигин А.В., Графова Е.В., Ванжа Я.Е., Хмара А.Д., Гавруков Д.С., Турлыкова И.А., Фрейтаг А.А., Котенко Е.Н. Способ моделирования гипертиреоза у крыс в эксперименте. URL: https://www.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet (дата обращения: 31.05.2025).

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.