

Т. В. Короткевич, Ф. И. Висмонт

УЧАСТИЕ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ СОДЕРЖАНИЯ ХОЛЕСТЕРИНА ЛИПОПРОТЕИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭНДОТОКСИНЕМИИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Белорусский государственный медицинский университет

В опытах на крысах установлено, что введение бактериального липополисахарида пирогенала в условиях экспериментального гипертиреоза сопровождается более выраженными, чем у эутиреоидных крыс, атерогенными сдвигами показателей обмена липопротеинов крови: повышением уровня ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови и коэффициента атерогенности. При СLP-перитоните действие йодсодержащего гормона щитовидной железы трийодтиронина также приводит к усилению характерных для эндотоксинемии нарушений липопротеинового обмена. Таким образом, йодсодержащие гормоны щитовидной железы усугубляют вызываемые бактериальной эндотоксинемией различного генеза атерогенные нарушения показателей липопротеинового обмена крови у крыс.

Изучение механизмов регуляции процессов жизнедеятельности и метаболического обеспечения функций организма при бактериальной эндотоксинемии является актуальной задачей теоретической и практической медицины. Ее решение позволило бы наметить пути и способы коррекции метаболических нарушений при тяжелых инфекционных и септических заболеваниях, что способствовало бы улучшению состояния больных и снижению летальности в клинике интенсивной терапии.

Известно, что бактериальная эндотоксинемия сопровождается изменением обмена липидов как клеточных мембран, так и крови, которые участвуют в адаптационных процессах не только как «топливо», но и как пластический

материал [3]. Показано, что при многих инфекционно-септических состояниях происходит изменение функциональной активности регуляторных систем организма, в частности системы гипофиз-щитовидная железа [9, 11, 12], имеющей важное значение для поддержания липидного состава органов и тканей организма.

Однако участие йодсодержащих тиреоидных гормонов в механизмах формирования метаболических нарушений, в изменении обмена липидов и особенно липопротеинов (ЛП) крови при бактериальной эндотоксинемии изучено недостаточно и во многом не ясно. Поэтому целью настоящей работы явилось исследование влияния трийодтиронина на содержание холестерина (ХС) в различных классах ЛП кро-

ви у крыс при бактериальной эндотоксемии различного генеза.

Материал и методы

Опыты выполнены на 110 взрослых белых крысах обоего пола массой 180-250 г. с соблюдением всех правил проведения работ при использовании экспериментальных животных [5, 10].

Бактериальную эндотоксемию вызывали путем однократного внутрибрюшинного введения бактериального липополисахарида ЛПС пирогенала («МЕДГАМАЛ» НИИ эпидемиологии и микробиологии РАМН) в дозе 2,5 мг/кг или путем моделирования CLP-перитонита (cecal ligation and perforation).

Для создания CLP-перитонита крысам под гексеналовым наркозом (100 мг/кг, внутрибрюшинно) производили 2-х сантиметровый разрез передней брюшной стенки по средней линии, через который извлекали слепую кишку. Ниже илео-цекального клапана на кишку накладывали лигатуру и однократно перфорировали ее иглой. Пассаж кишечного содержимого при этом не нарушался. Затем разрез брюшной стенки послойно ушивали. По данным литературы, через 18-24 часа после CLP-операции у животных развивается тяжелый полимикробный сепсис, который сопровождается выраженной полиорганной недостаточностью [8, 14]. В качестве контроля использовали ложноперитонит (ЛО) крыс, которым под наркозом проводили разрез передней брюшной стенки без извлечения и перфорации слепой кишки. Всем животным через 30 мин после оперативного вмешательства подкожно вводили 2,5 мл изотонического раствора хлорида натрия.

Декапитацию животных проводили через 20 часов после введения ЛПС или физиологического раствора, а также лигирования и перфорирования слепой кишки или ложной операции.

Участие йодсодержащих гормонов щитовидной железы в регуляции уровня ХС ЛП крови при бактериальной эндотоксемии изучали в 2-х экспериментальных моделях: 1) введение пирогенала эу- и гипертиреоидным крысам; 2) однократное введение крысам трийодтиронина в дозе 30 мкг/кг, внутрибрюшинно, через 3 часа после ложной или CLP-операции [15].

Гипертиреоз вызывали путем ежедневного внутрибрюшинного введения животным синтетического гормона трийодтиронина (Lyothyronine «Berlin-Chemie», Германия) в дозе 25 мкг/кг в течение 2 недель [13]. Крысы контрольной группы получали ежедневные инъекции апириногенного физиологического раствора.

Ректальную температуру крыс (в прямой кишке на глубине 3,0 см) измеряли электротермометром фирмы «Microlife» (Швейцария) непосредственно перед декапитацией.

Из сыворотки крови выделяли суммарную фракцию ЛП очень низкой и низкой плотности (ЛПОНП+ЛПНП) и ЛПВП по методу M. Burstein, J. Samaille [7]. Экстракцию липидов из сыворотки крови и фракции ЛПВП проводили по методу М.А. Креховой, М.К. Чехрановой [4]. После экстракции липидов в сухих липидных экстрактах определяли содержание ХС с использованием реакции Либермана-Бурхарда. Расчет содержания ХС ЛПОНП+ЛПНП проводили по формуле: ХС ЛПОНП+ЛПНП = общий ХС сыворотки крови – ХС ЛПВП. Расчет коэффициента атерогенности проводили по формуле: коэффициент атерогенности = ХС ЛПОНП+ЛПНП / ХС ЛПВП и выражали в условных единицах.

Содержание тироксина (T_4) в сыворотке крови при бактериальной эндотоксемии определяли радиоиммунологическим методом с помощью тест-наборов производства

ИБОХ НАН РБ. Все полученные данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с вычислением t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В опытах на крысах установлено, что через 20 часов после внутрибрюшинного введения крысам бактериального ЛПС пирогенала (2,5 мг/кг) у животных развивается выраженная лихорадочная реакция. Ректальная температура крыс, получивших инъекцию пирогенала (n=10), в среднем была выше, чем у контрольной группы животных (n=10), на 2,3°C (p<0,001).

У животных с CLP-перитонитом температура тела снижалась, отмечались вялость, заторможенность, в большинстве случаев – геморрагический конъюнктивит, диарея. Через 20 часов после CLP-операции лигированный участок слепой кишки некротизировался, развивался парез кишечника, перитонит с выпотом в брюшную полость. Ректальная температура крыс с CLP-перитонитом через 20 часов после оперативного вмешательства была ниже, чем у ЛО животных, на 0,9°C (p<0,05).

Несмотря на разнонаправленные изменения температуры тела (лихорадка после введения ЛПС и гипотермия после CLP-операции), при бактериальной эндотоксемии различного генеза у животных развиваются выраженные однонаправленные сдвиги содержания ХС в различных классах ЛП сыворотки крови атерогенного характера: снижение содержания ХС ЛПВП, повышение уровня ХС ЛПОНП+ЛПНП и рост коэффициента атерогенности (рис. 1). Так, через 20 часов после инъекции ЛПС уровень ХС ЛПВП в крови крыс снижался на 19,7% (p<0,02), содержание ХС ЛПОНП+ЛПНП повышалось на 52,4% (p<0,001), коэффициент атерогенности возрастал на 97,9% (p<0,001).

Установлено, что через 20 часов после CLP-операции снижение содержания ХС ЛПВП в крови опытных крыс (n=8) составляло 43,6% по сравнению с ЛО животными (p<0,01), содержание ХС ЛПОНП+ЛПНП, напротив, возрастало на 91,1% (p<0,001), а коэффициент атерогенности повышался на 221,7% (p<0,001). Увеличение значения данного показателя при бактериальной эндотоксемии различного генеза обусловлено как понижением содержания ХС ЛПВП, так и, главным образом, увеличением содержания ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови.

Таким образом, более значительные изменения показателей обмена ЛП крови имеют место в условиях CLP-перитонита, что обусловлено, по-видимому, тяжестью состояния, более выраженной системной воспалительной реакцией, вызванной массивным поступлением в кровотоки бактерий и их токсинов.

Опыты показали, что бактериальная эндотоксемия различного генеза сопровождается, наряду со сдвигами в обмене ЛП крови, значительным снижением уровня тироксина в крови крыс (рис. 1). Так, через 20 часов после введения ЛПС уровень общего T_4 в сыворотке крови животных (n=10) снижался на 74,2% (p<0,001). Через 20 часов после CLP-операции уровень общего T_4 в сыворотке крови составлял 17,1% (p<0,002), а свободного T_4 – 32,0% (p<0,02) от исходного значения. Снижение уровня T_4 в крови в условиях бактериальной эндотоксемии, по-видимому, могло быть обусловлено угнетением его секреции щитовидной железой вследствие уменьшения синтеза тиротропин-релизинг-гормона в гипоталамусе под влиянием провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ФНО- α) [12].

Таким образом, бактериальная эндотоксемия различного генеза сопровождается, наряду с разнонаправленными изменениями температуры тела (как гипер-, так и гипо-

термией), выраженными однонаправленными сдвигами показателей липопротеинового обмена атерогенного характера, а также угнетением продукции тироксина щитовидной железой и развитием тиреоидной гиподисфункции.

Выявлено, что ежедневное внутрибрюшинное введение крысам трийодтиронина в дозе 25 мкг/кг в течение 2 недель сопровождается снижением содержания общего ХС крови на 20,0% ($p < 0,01$), ХС ЛПОНП+ЛПНП – на 55,7% ($p < 0,001$); коэффициент атерогенности у гипертиреоидных крыс понижался на 56,1% ($p < 0,001$). Ректальная температура крыс в условиях гипертиреоза была в пределах значений температуры контрольных животных, получавших ежедневные инъекции апириногенного физиологического раствора.

Установлено, что внутрибрюшинное введение бактериального ЛПС пирогенала (2,5 мг/кг) гипертиреоидным крысам ($n=11$) через 20 часов после инъекции сопровождается более выраженной, чем у эутиреоидных животных, лихорадочной реакцией. Ректальная температура эутиреоидных крыс ($n=9$) после введения пирогенала повышалась на $0,5^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,05$), в то время как у гипертиреоидных животных бактериальный эндотоксин приводил к ее повышению на $1,3^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,05$).

Обнаружено, что у гипертиреоидных крыс ($n=11$) действие бактериального эндотоксина сопровождается снижением содержания ХС ЛПВП, более значительным, чем у эутиреоидных животных, повышением относительного содержания ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови и ростом коэффициента атерогенности (рис. 2). Так, введение ЛПС через 20 часов после инъекции эндотоксина приводило к снижению уровня ХС ЛПВП крови у эутиреоидных крыс на 30,1% ($p < 0,05$); у гипертиреоидных – уже на 38,7% ($p < 0,05$). После введения пирогенала уровень ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови у эутиреоидных крыс возрастал на 35,7% ($p < 0,05$), тогда как у гипертиреоидных животных – на 103,2% ($p < 0,001$); коэффициент атерогенности у эутиреоидных крыс повышался на 154,5% ($p < 0,05$), у гипертиреоидных – на 219,0% ($p < 0,001$). Увеличение коэффициента атерогенности после введения бактериального эндотоксина в условиях экспериментального гипертиреоза было обусловлено более значительным, чем у эутиреоидных крыс, ростом содержания ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови.

Таким образом, действие бактериального ЛПС у гипертиреоидных животных сопровождается, наряду с усилением лихорадочной реакции, более выраженными, чем у эутиреоидных крыс, сдвигами некоторых показателей липопротеинового обмена: более значительным повышением содержания ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови и коэффициента атерогенности.

Исследование влияния йодсодержащих тиреоидных гормонов на показатели обмена ЛП крови у крыс с CLP-перитонитом ($n=6$) выявило, что введение трийодтиронина ЛО животным вызывает понижение уровня ХС ЛПОНП+ЛПНП на 38,0% ($p < 0,02$), коэффициента атерогенности – на 38,1% ($p < 0,05$) и не влияет на содержание ХС ЛПВП сыворотки крови и температуру тела крыс.

Установлено, что в условиях CLP-перитонита введение трийодтиронина (30 мкг/кг) через 3 часа после CLP-операции предотвращает развитие гипотермии у крыс ($n=6$). Так, если через 20 часов после CLP-операции ректальная температура крыс снижалась на $2,3^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,05$), то после инъекции трийодтиронина в условиях CLP-перитонита ректальная температура крыс составляла $38,2 \pm 0,65^{\circ}\text{C}$ и была достоверно выше, чем у животных после CLP-операции ($p < 0,05$).

Установлено, что введение трийодтиронина крысам с CLP-перитонитом не предотвращает вызываемое CLP-опе-

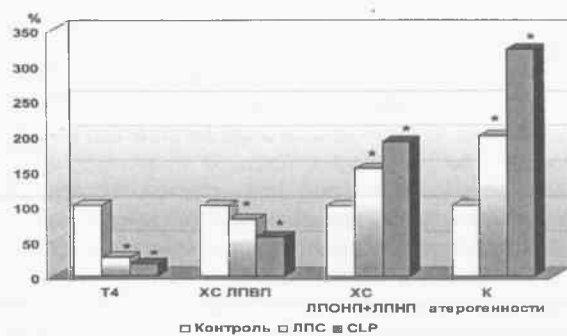


Рис. 1. Изменение содержания общего тироксина (T_4), ХС ЛП в крови крыс и коэффициента атерогенности при бактериальной эндотоксинемии различного генеза

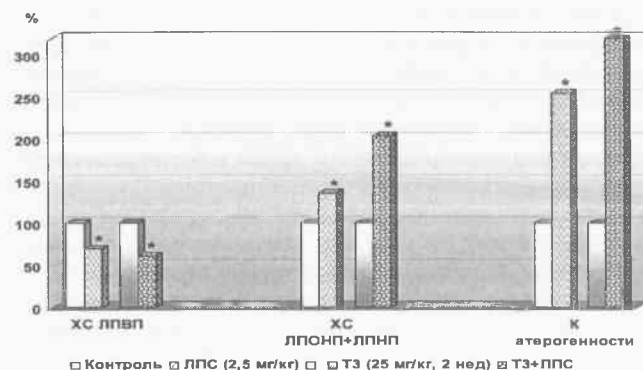


Рис. 2. Изменение содержания ХС ЛП крови через 20 часов после введения пирогенала (2,5 мкг/кг) эу- и гипертиреоидным крысам

* - изменения достоверны по отношению к соответствующему контролю (100%)

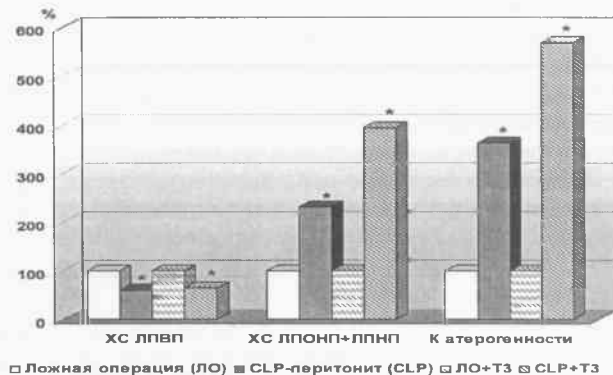


Рис. 3. Изменение содержания ХС ЛП крови при CLP-перитоните у крыс после введения трийодтиронина (T_3 , 30 мкг/кг, внутрибрюшинно)

рацией снижение содержания ХС ЛПВП в крови крыс, а также усугубляет характерные для CLP-перитонита изменения уровня ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови и коэффициента атерогенности (рис.3). Так, если прирост концентрации ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови крыс с CLP-перитонитом составлял 132,0% ($p < 0,001$), то действие трийодтиронина у таких крыс сопровождалось увеличением данного показателя на 293,5% ($p < 0,001$). Повышение коэффициента атерогенности у животных с CLP-перитонитом составляло 261,9% ($p < 0,001$), в то время как развитие CLP-перитонита у крыс, которым ввели трийодтиронин, сопровождалось еще более значительным повышением данного показателя (на 469,2%; $p < 0,001$).

☆ Новые технологии в медицине

Таким образом, действие бактериального ЛПС пирогенала в условиях гипертиреоза, также как и введение крысам триiodотирона в условиях CLP-перитонита, сопровождаются более значительным повышением содержания ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови крыс и коэффициента атерогенности.

Как известно, действие в организме бактериальных эндотоксинов вызывает снижение утилизации из крови многих субстратов, в том числе неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК), что приводит к росту их концентрации в крови [2, 6] и, как следствие, к снижению активности постгепариновой липопротеинлипазы (ЛПЛ), расщепляющей ЛПОНП [1], в результате чего содержание ЛПОНП+ЛПНП в крови повышается.

По-видимому, введение ЛПС гипертиреозидным животным приводит к усугублению дисбаланса между повышенной концентрацией НЭЖК в крови в результате липолитического действия T_3 и сниженной скоростью их утилизации. Повышенная мобилизация и сниженная утилизация НЭЖК приводят к еще большему, по сравнению с эутиреозидными животными, росту концентрации НЭЖК в крови, к более значительному угнетению активности ЛПЛ и, следовательно, к большему приросту содержания ЛПОНП+ЛПНП в крови.

Таким образом, полученные экспериментальные данные дают основание полагать, что состояние тиреоидной гипофункции, развивающееся при действии в организме бактериальных эндотоксинов, может играть компенсаторную роль и ослаблять развитие метаболических нарушений атерогенного характера, вызываемых бактериальной эндотоксией.

Выводы

1. Бактериальная эндотоксинемиа, вызванная как введением бактериального липополисахарида пирогенала, так и CLP-перитонитом, сопровождающаяся разнонаправленными изменениями температуры тела (как гипер-, так и гипотермией), приводит к снижению содержания тироксина в крови, а также к значительным изменениям содержания ХС ЛП сыворотки крови: снижению содержания ХС ЛПВП, повышению уровня ХС суммарной фракции ЛПОНП+ЛПНП и увеличению коэффициента атерогенности.

2. Действие бактериального липополисахарида пирогенала у крыс с экспериментальным гипертиреозом сопро-

вождается более значительным повышением температуры тела, а также более выраженным, чем у эутиреозидных животных, повышением уровня ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови и коэффициента атерогенности.

3. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы при CLP-перитоните усугубляют характерные для бактериальной эндотоксинемиа атерогенные нарушения показателей липопротеинового обмена крови.

Литература

1. Биохимия человека: в 2-х т. Пер. с англ. / Р. Марри [и др.]. – М.: Мир, 1993. – Т. 2. – 415 с.
2. Завада, Н.В. Хирургический сепсис / Н.В. Завада, Ю.М. Гаин, С.А. Алексеев. – Минск.: Новое знание, 2003. – 237 с.
3. Климов, А.Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения / А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева – СПб.: Питер Ком, 1999. – 512 с.
4. Крехова, М.А., Чехранова, М.К. Фракционное определение эфиров холестерина в крови и тканях с помощью хроматографии в тонком слое / Вопросы медицинской химии. – 1971. – Т.17, №1. – С. 93 – 98.
5. Лабораторные животные (разведение, содержание, использование в эксперименте) / И.П. Западнюк [и др.]. – Киев: Вища школа, 1983. – 383 с.
6. Лейдерман, И.Н. Синдром полиорганной недостаточности (ПОН). Метаболические основы // Вестник интенсивной терапии. – 1999. – №2. – С. 8 – 13.
7. Burstein, M., Samaille, J. Sur la clarification du serum lipemique par l'heparine in vitro // C. R. Acad. Sci.(Paris). – 1955. – Vol. 241, № 9. – P. 664 – 665.
8. Deitch, E.A. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned // Shock. – 1998. – Vol. 9, № 1. – P. 1 – 11.
9. De Groot, L.J. Dangerous dogmas in medicine: the nonthyroidal illness syndrome // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1999. – Vol. 84, № 1. – P. 151 – 164.
10. European convention for the protection of the vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – Appendix XXII, Article 20.
11. Kelly, G.S. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review // Altern. Med. Rev. – 2000. – № 4. – P. 306 – 333.
12. Nagaya, T., Fujieda, M., Otsuka, G. et al. A potential role of activated NF- κ B in the pathogenesis of euthyroid sick syndrome // J. Clin. Invest. – 2000. – Vol. 106, № 3. – P. 393-402.
13. Torres, S., Dias, B.P., Cabrera, J.J. et al. Thyroid hormone regulation of rat hepatocyte proliferation and polyploidization // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 1999. – Vol. 276. – № 1. – P. 155 – 163.
14. Wichterman, K.A., Baue, A.E., Chaudry, I.H. Sepsis and septic shock – a review of laboratory models and proposal // J. Surg. Res. – 1980. – Vol. 29, № 2. – P.189 – 201.
15. Yang, Z.L., Yang, L.Y., Huang, G.W., Liu, H.L. Tri-iodothyronine supplement protects gut barrier in septic rats // World J. Gastroenterol. – 2003. – Vol. 9, № 2. – P. 347 – 350.