

О РОЛИ МОНООКСИДА АЗОТА В РЕГУЛЯЦИИ УРОВНЯ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В КРОВИ И ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА ПРИ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКЕ

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

В экспериментах на крысах и кроликах установлено, что действие в организме ингибиторов NO-синтазы NG-нитро-L-аргинина (20 мг/кг) и метилового эфира NG-нитро-L-аргинина (25 мг/кг), в дозах, не влияющих на температуру тела, сопровождается снижением активности системы гипофиз – щитовидная железа. Выявлено, что действие липополисахарида в условиях угнетения активности NO-синтазы характеризуется менее выраженными изменениями активности системы гипофиз – щитовидная железа, а также не столь значимым подъёмом температуры тела. Предварительное введение в организм ингибиторов NO-синтазы ослабляет гипотермию и изменения в системе гипофиз – щитовидная железа, возникающие при действии в организме гепатотропного яда CCl₄. Полученные результаты позволяют заключить, что активность синтеза NO в печени, по-видимому, является одним из факторов регуляции уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови и температуры при бактериальной эндотоксинемии, сопровождающейся лихорадкой.

Ключевые слова: монооксид азота, йодсодержащие гормоны щитовидной железы, терморегуляция, бактериальная эндотоксинемия

Монооксид азота (NO) функционирует в биологических системах как высокоэффективный регулятор метаболизма, влияющий на протекание различных физиологических и патологических процессов. Рядом исследователей показано, что NO имеет важное значение в регуляции температуры тела [3, 8].

В литературе имеются сведения о том, что от функционального состояния печени, функции гепатоцитов и клеток Купфера зависит образование и уровень в крови целого ряда цитокинов – важнейших медиаторов «ответа острой фазы» и лихорадки, а также активность процессов деградации йодсодержащих гормонов щитовидной железы [6, 9], имеющих важное значение в терморегуляции [1, 2].

Известно, что NO участвует в регуляции функциональной активности клеток печени [4, 5, 7]. В работах различных исследователей показано, что NO подавляет синтез белка в гепатоцитах, в том числе и так называемых «белков острой фазы», играющих важную роль в патогенезе лихорадки [10]. NO, посредством угнетения активности оксидазной системы цитохрома P-450 в печени, влияет на метаболизм цитокинов, эндо- и экзотоксинов [5]. В то же время, полностью отсутствуют данные о значимости NO в формировании тиреоидного статуса и регуляции температуры тела при лихорадочных состояниях, вызываемых бактериальными эндотоксинами.

Целью настоящего исследования является выяснение роли NO в регуляции уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови и температуры тела при эндотоксиневой лихорадке.

Материал и методы

Опыты выполнены на 148 ненаркотизированных белых крысах обоего пола массой 160-220 г и 49 кроликах массой 2,5-3,5 кг. Для создания общепринятой экспериментальной модели лихорадки использовали бактериальный липополисахарид

(ЛПС) пирогенал (филиал «МЕДГАМАЛ» НИИЭМ РАМН), который вводили однократно кроликам в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг, крысам внутрибрюшинно в дозе 5,0 мкг/кг. Острое токсическое поражение печени вызывали путем однократного интрагастрального введения животным раствора СС14 (приготовленного на подсолнечном масле в соотношении 1:1) в дозе 2,0 мл/кг кроликам и 5,0 мл/кг крысам. С целью выяснения роли NO в процессах формирования тиреоидного статуса и регуляции температуры тела в условиях действия бактериального эндотоксина использовали ингибиторы NO-синтазы L-NNA (NG-нитро-L-аргинин) и L-NAME (метилвый эфир NG-нитро-L-аргинина), которые вводили крысам внутрибрюшинно однократно в дозе 20 мг/кг и 25 мг/кг соответственно. Температуру кожи, как и ректальную температуру, измеряли у крыс и кроликов общепринятым методом с помощью электротермометра ТПЭМ-1. Содержание в плазме крови тиреотропного гормона (ТТГ) и йодсодержащих гормонов щитовидной железы (трийодтиронина – Т3, тироксина – Т4) определяли радиоиммунным методом с помощью тест-наборов ХОП ИБОХ НАН Беларуси. Все полученные данные обработаны с помощью общепринятых методов вариационной статистики.

Результаты и обсуждение

В опытах на крысах и кроликах установлено, что действие в организме ЛПС приводит к повышению температуры тела животных и активности системы гипофиз - щитовидная железа. Ректальная температура у кроликов (n=8) повышалась на 0,6°C, 1,0°C и 1,6°C (p<0,001) через 30, 60 и 120 мин после введения препарата соответственно, по сравнению с животными контрольной группы (внутривенная инъекция апиrogenного физиологического раствора). Введение крысам ЛПС приводило к медленному нарастанию температуры тела и слабовыраженной гипертермии. Ректальная температура у крыс повышалась на 1,2°C и 1,1°C (p<0,001, n=12), соответственно, через 120 и 180 мин после инъекции препарата.

Выявлено, что в условиях эндотоксиновой лихорадки, через 120 и 180 мин после внутрибрюшинного введения эндотоксина, в плазме крови крыс повышалась концентрация ТТГ на 26,7% (p<0,05) и 38,5% (p<0,05), соответственно, по сравнению с контролем. Снижение уровня Т3 (на 30,8% p<0,05) и повышение концентрации Т4 (на 24,3% p<0,05) отмечалось только на 180 мин эндотоксиновой лихорадки (табл. 1).

Таблица 1. Изменение содержания ТТГ, Т₄ и Т₃ в плазме крови у крыс после внутрибрюшинного введения ЛПС в дозе 5,0 мкг/кг ($\bar{X}_S \pm x_S$)

| Группа животных | ТТГ мМЕ/л | Т ₄ нМоль/л | Т ₃ нМоль/л |
|--|--------------|---------------------------|---------------------------|
| Контрольная после введения физ. раствора через: 120 мин (n=8) 180 мин (n=6) | 1,5±0,16 | 57,1±3,35 | 1,3±0,15 |
| | 1,3±0,16 | 54,3±3,11 | 1,3±0,14 |
| Опытная после введения ЛПС через: 120 мин (n=8) 180 мин (n=10) | 1,9±0,20* | 62,5±5,15 | 1,0±0,13 |
| | 1,8±0,23* | 67,5±5,78* | 0,9±0,10* |

* Изменения достоверны по отношению к контролю (p<0,05).

Действие ЛПС у кроликов (n=6) через 30 и 60 мин после введения экзопирогена в кровотоки вызывало повышение в плазме крови уровня ТТГ на 22,1% (p<0,05) и 26,7% (p<0,05), снижение концентрации Т₄ на 51,1% (p<0,05) и 24,3% (p<0,05) соответственно. Концентрация Т₃ снижалась на 35,6% (p<0,05) по сравнению с контрольным уровнем, если действие препарата длилось 60 мин. Содержание ТТГ, Т₃ и Т₄ в плазме крови у животных контрольной группы (n=8), через 30 и 60 мин после введения в кровотоки апириногенного физ. раствора, составляло: 31,2±2,15 мМЕ/л, 8,9±0,63 нМоль/л, 72,1±12,30 нМоль/л и 30,5±2,84 мМЕ/л, 8,5±0,60 нМоль/л, 73,6±10,21 нМоль/л.

Выявлено, что в условиях острого токсического поражения печени, вызванного однократным интрагастральным введением животным масляного раствора СС14, угнетаются процессы теплообмена, детоксикации, снижается температура тела, концентрации Т₃, Т₄, ТТГ в плазме крови и развивается стойкая и выраженная гипотермия. Так через 12 и 24 часа после введения в желудок масляного раствора СС14 у крыс ректальная температура снижалась, соответственно, на 1,2±0,12°С (p<0,05, n=12) и на 1,7±0,13°С (p<0,05, n=10). У кроликов (n=8) однократное интрагастральное введение масляного раствора СС14 вызывало снижение ректальной температуры на 1,1±0,10°С и 1,5±0,11°С (p<0,05) через 12 и 24 часа соответственно.

В опытах на крысах установлено, что через 21 день после ежедневного интрагастрального введения Т₃ (30 мкг/кг) у животных повышалась температура тела на 0,7 °С (p<0,05, n = 8). Обнаружено, что введение крысам (n=8) Т₃ в условиях блокады в организм NO-синтазы (L-NNA – 20 мг/кг ежедневно внутрибрюшинно в течение 20-ти дней за 30 мин до введения Т₃) не приводит к повышению температуры тела. Развитие эндотоксиновой лихорадки у гипертиреоидных крыс (n=9) характеризовалось более высокими значениями температуры тела.

Таким образом, уровень Т₃ в крови, который во многом определяется функциональной активностью печени, процессами дейодирования в ней [9], является важным фактором поддержания температурного гомеостаза и имеют существенное значение для развития эндотоксиновой лихорадки. Известно, что у людей и крыс более 2/3 циркулирующего 3,5,3'-трийодтиронина, высокоэффективного тиреоидного

гормона, продуцируется в периферических органах из тироксина путём 5` - дейодирования последнего.

В опытах на крысах установлено, что действие в организме ингибитора NO-синтазы L-NNA в дозе 20 мг/кг – дозе, не влияющей на температуру тела, через 120 мин после инъекции препарата, сопровождается снижением активности системы гипофиз – щитовидная железа.

Через 120 мин после внутривенного введения L-NNA в плазме крови крыс (n=8) наблюдалось снижение концентрации ТТГ на 32,7%, Т3 Т4 в этих условиях достоверно не изменялось. на 19,5% по отношению к контролю (введение физ. раствора). Содержание

Показано, что лихорадочная реакция, вызываемая введением ЛПС, ослабляется предварительным введением в организм лабораторных животных как L-NNA (20 мг/кг), так и L-NAME (25 мг/кг), ингибиторов NO-синтазы, существенно не влияющих в указанных дозах на температуру тела в норме. Так ректальная температура у крыс (n=12), получивших только ЛПС повышалась на 1,2 °С и 1,1 °С через 120 и 180 мин после инъекции, в то время как у животных (n=12), которые получили ЛПС в условиях действия L-NAME наблюдалось повышение температуры всего лишь на 0,8 °С и 0,6 °С через 120 и 180 мин после введения бактериального эндотоксина.

В опытах на кроликах (n=8) показано что, через 120 мин после инъекции ЛПС, в условиях предварительного (за 30 мин до инъекции эндотоксина) введения в кровоток L-NNA ректальная температура повышалась с $38,8 \pm 0,12$ °С до $39,9 \pm 0,13$ °С ($p < 0,05$), в то время как у животных контрольной группы (n=7) с $38,7 \pm 0,10$ °С до $40,3 \pm 0,20$ °С. В опытах на крысах также установлено, что предварительное введение в организм животных ингибиторов синтеза NO не только ослабляет лихорадочную реакцию на действие эндотоксина, но и препятствует активации системы гипофиз – щитовидная железа в этих условиях. Обнаружено, что действие бактериального эндотоксина через 120 мин после инъекции, в условиях угнетения активности NO-синтазы, сопровождается у крыс (n=8) более выраженным снижением уровня Т3 (на 19%, $p < 0,05$) и снижением, а не повышением как при действии ЛПС, уровней ТТГ и Т4 в плазме крови на 26,4% ($p < 0,05$) и 34,6% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с контролем (действие ЛПС) (рис. 1).

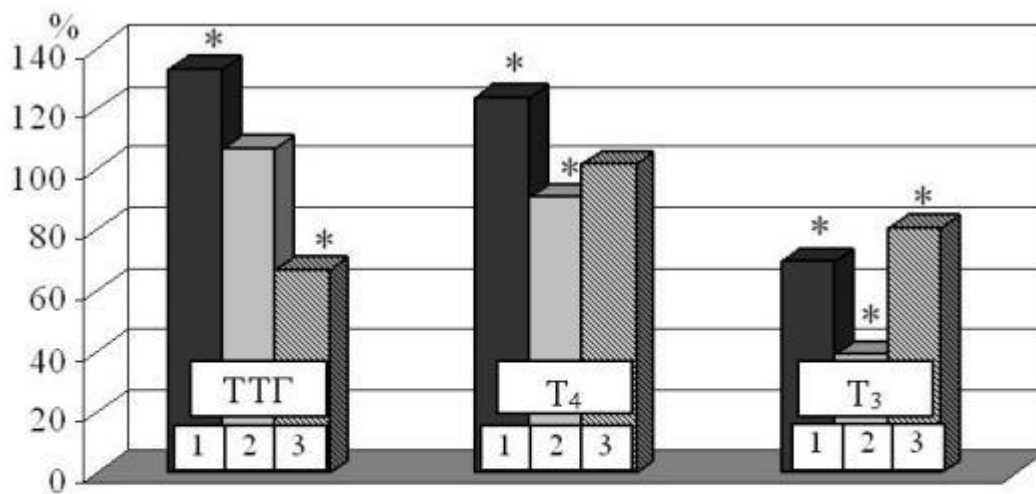


Рис. 1. Изменение содержания ТТГ, Т₄ и Т₃ (в % по отношению к контролю – введение физ. раствора) в плазме крови у крыс через 120 мин после внутривенного введения: ЛПС (1), ЛПС в условиях действия L-NNA (2), L-NNA (3).

* Изменения достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$); количество животных в каждой группе – 8.

Выявлено, что предварительное введение в организм блокатора синтеза NO L-NNA не только ослабляет лихорадочную реакцию, но и развитие гипотермии на действие гепатотропного яда CCl₄. Действие CCl₄ в организме у крыс (n=7), предварительно получивших (за 30 мин до затравки) L-NNA, сопровождается менее выраженными изменениями в системе гипофиз – щитовидная железа. Обнаружено, что действие CCl₄ в организме в этих условиях сопровождается менее значимым снижением уровня Т₃ (на 26,2%, $p < 0,05$), Т₄ (на 44,7% $p < 0,05$) и увеличением концентрации ТТГ (на 59% $p < 0,05$) в плазме крови по сравнению с животными контрольной группы, получившими только CCl₄ (рис. 2).

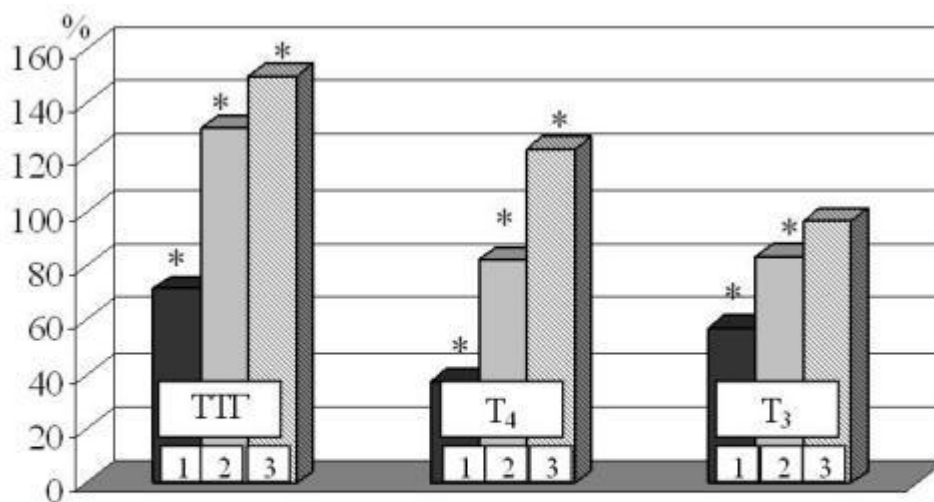


Рис. 2. Изменение содержания ТТГ, Т₄ и Т₃ (в % по отношению к контролю – введение подсолнечного масла) в плазме крови у крыс через 24 часа после введения: CCl₄ (1), CCl₄ в условиях действия L-NNA (2), L-NNA (3).

* Изменения достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$); количество животных в каждой группе – 7.

Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что тиреоидный статус организма, температура тела и характер формирования

терморегуляторных реакций у крыс и кроликов при действии в организме бактериального эндотоксина зависят от функционального состояния печени.

Результаты проведенных исследований дают основание полагать, что в изменениях функции печени, уровня йодтиронинов в плазме крови и формировании терморегуляторных реакций организма при эндотоксиновой лихорадке участвует NO. Развитие эндотоксиновой лихорадки у экспериментальных животных в условиях действия в организме веществ, ингибирующих NO-синтазу, сопровождается менее выраженными изменениями активности системы гипофиз – щитовидная железа и не столь значимым подъёмом температуры тела.

По-видимому NO, его продукция в организме, как прямо, так и опосредовано, через активацию процессов дейодирования йодсодержащих гормонов щитовидной железы в печени, а соответственно, регуляцию тиреоидного статуса организма, определяет направленность и выраженность изменения процессов теплообмена и температуры тела на действие бактериального эндотоксина. Количество и продолжительность генерации NO в печени, по-видимому, является одним из факторов регуляции функции гепатоцитов и их устойчивости к повреждающему действию гепатотропных ядов, токсинов бактериального и небактериального происхождения.

Литература

1. Божко, А. П. Повышение устойчивости организма к тепловому стрессу тиреоидными гормонами / А. П. Божко, И. В. Городецкая // Весці НАН Беларусі. Сер. медыка-біял. навук, 1998. № 2. С. 80–83.
2. Герасевич, А. Н. Изменение температуры тела крыс во время физической нагрузки в норме и при гипофункции щитовидной железы: материалы Всеросс. конф. «Кислотно-основной и температурный гомеостаз: физиология, биохимия, клиника» / А. Н. Герасевич. Сыктывкар, 1994. С. 62–63.
3. Гурин, А. В. Функциональная роль оксида азота в центральной нервной системе / Гурин А. В. // Успехи физиологических наук. 1997. Т. 28, № 1. С. 53–58.
4. Тэйлор, Б. С. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция «функции» / Б. С. Тэйлор, Л. Х. Ларсон, Т. Р. Биллиар // Биохимия. 1998. Т. 63, № 7. С. 905–923.
5. Фабри, З. С. Функциональная активность щитовидной железы и распределение её гормонов в периферических тканях при экспериментальном поражении печени / З. С. Фабри, А. Е. Пашенко, И. П. Заячук // Укр. биохим. журн. 1985. 57, № 2. С. 84–87.
6. Хаценко, О. Взаимодействие оксида азота и цитохрома P-450 в печени / О. Хаценко // Биохимия. 1998. Т. 63, № 7. С. 984–991.
7. Durante, W. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function / W. Durante, F.K. Johnson, R. Johnson // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2007. Vol. 34, № 9. P. 906–911.
8. Gerstberger, R. Nitric oxide and body temperature control / R. Gerstberger // News Physiol. Sci. 1999. Vol. 14, № 2. P. 30–36.
9. Kelly, G.S. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review / G. S. Kelly // Altern. Med. Rev. 2000. № 4. P. 306–333.

<!--[if !supportLists]-->10. Scammell, T. E. Inhibition of nitric oxide synthase produced hypothermia and depression lipopolysaccharide fever / T. E. Scammell, J. K. Elmquist, C. B. Saper // Am. J. Physiol. 1996. Vol. 271. P. 333–338.<!--[endif]-->