

К МЕХАНИЗМУ РЕАЛИЗАЦИИ ВЛИЯНИЯ ТРИЙОДТИРОНИНА НА ПРОЦЕССЫ ДЕТОКСИКАЦИИ И ТЕМПЕРАТУРУ ТЕЛА

Ф.И. Висмонт, В.В. Зенькович, А.Н. Глебов

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Введение. В последнее время в нашей стране и за рубежом наблюдается повышение интереса к физиологии и биохимии, фармакологии и вопросам клинического применения аминокислот и их производных. Однако, по проблеме влияния аминокислот на температуру тела, на терморегуляцию, имеются лишь единичные разрозненные данные, в частности, о влиянии аминокислоты L-аргинаина, субстрата как для аргиназы, так и NO-синтазы, на температуру тела и процессы теплообмена при эндотоксической лихорадке [1]. Учитывая появившиеся в последнее время сведения о значимости аргиназы печени в процессах образования монооксида азота (NO), высокоэффективного регулятора метаболизма и температуры тела [3, 5], в механизмах реализации влияния йодсодержащих тиреоидных гормонов на процессы детоксикации и терморегуляции, [2], логично было бы предположить, что валин плазмы крови, являясь эндогенным ингибитором аргиназы [4], может участвовать в реализации биологических эффектов йодсодержащих гормонов на процессы теплообмена и детоксикации. Однако такие исследования до сих пор не проводились.

Целью исследования было выяснение значимости валина плазмы крови в механизмах реализации влияния трийодтиронина на процессы терморегуляции и детоксикации у крыс.

Материалы и методы исследования. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах самцах массой 160-220г. Экспериментальный гипотиреоз воспроизводили с помощью тиреостатика мерказолила (НПО «Укрмедпрепараты», Украина). Мерказолил в дозе 25 мг/кг на 1% крахмальном растворе вводили крысам интрагастрально ежедневно в течение 20 дней. Для создания модели гипертиреоза использовали синтетический препарат трийодтиронина гидрохлорид (Liothyronin, «Berlin Chemie», Германия), который на 1% крахмальном растворе вводили животным интрагастрально ежедневно в течение 20 дней в дозе 30 мкг/кг.

О процессах химической терморегуляции судили по таким показателям, как количество потребляемого животными кислорода, активность дыхательных ферментов митохондрий печени – сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и цитохром-с-оксидазы (ЦО). Потребление животными кислорода определяли камерным способом, описанным О.Н. Елизаровой (1962). Взятие для исследований крови и ткани печени у животных проводили

сразу после декапитации. Активность СДГ и ЦО митохондрий печени оценивали по методу, предложенному Ф.Е. Путилиной, Н.Д. Ещенко (1969) и В.И. Малюк (1962) соответственно. Уровень свободных жирных кислот (СЖК) в плазме крови определяли колориметрическим методом (K. Falholf et al., 1973). О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), содержанию фракции «средних молекул» (СМ) в плазме крови и степени её токсичности (СТК). ПНС (гексенал 100 мг/кг внутривентриально) оценивали по времени нахождения животных в положении на боку. Определение содержания в крови СМ проводили методом кислотного этанольного осаждения, разработанным В.М. Моиним с соавт. (1989), СТК способом, предложенным О.А. Радьковой с соавт. (1985).

При изучении влияния L-валина на показатели терморегуляции и уровень йодсодержащих гормонов в крови, а также с целью выяснения значимости аргиназы печени в изменениях температуры тела вызванных трийодтиронином, использовали ингибитор аргиназы L-валин (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия), который в дозе 100 мг/кг вводили крысам внутривентриально. Активность аргиназы в печени оценивали спектрофотометрически [J.W. Geyer, V. Dabich, 1971]. Содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс определяли методом обращено-фазной жидкостной хроматографии на аналитической колонке Zorbax Eclipse XDB-C₈. Ректальную температуру у крыс измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1.

Полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной биологической статистики с помощью критерия Стьюдента. Все данные представлены в виде среднего арифметического и его ошибки ($\bar{X} \pm Sx$). Достоверность результатов учитывалась при «р» менее 0.05.

Результаты и обсуждение. В опытах на крысах установлено, что через 20 дней после ежедневного интрагастрального введения экзогенного Т₃ в дозе 30 мкг/кг у гипертиреоидных животных активируются процессы теплопродукции и энергетического обмена. Температура тела у крыс в этих условиях повышалась на 0,7°C (p<0,05, n=12), концентрация СЖК в плазме крови возрастала на 65,7% (p<0,05, n=8) по отношению к контролю (интрагастральное введение 1% крахмального раствора в течение 60 дней) и составляла 681±35,6 мкэкв/л. У гипертиреоидных животных отмечалось возрастание активности дыхательных ферментов митохондрий печени – СДГ и ЦО на 36,1% (p<0,05, n=8) и 25,6% (p<0,05, n=8), соответственно. Активность СДГ и ЦО митохондрий печени у крыс контрольной группы (n=6), которым в течение указанного срока вводили интрагастрально 1% раствор крахмала, составляла 24,1±0,30 мкмоль/мг/час и 465±10,8 нМоль/мг/мин.

Количество потребляемого гипертиреодными животными кислорода увеличивалось на 24,2% ($p < 0,05$, $n=8$), а именно, с $40,1 \pm 2,51$ до $49,8 \pm 3,87$ мл/кг/мин (таблица).

Установлено, что повышение температуры тела у гипертиреодных животных сопровождается повышением, по сравнению с животными контрольной группы, активности аргиназы печени на 41,0% ($p < 0,05$, $n=7$). В условиях гипертиреоза уровень L-валина в плазме крови снижался на 31,7% ($p < 0,05$, $n=7$). Активность аргиназы печени, уровень валина в плазме крови у крыс ($n=7$), которым ежедневно интрагастрально вводили в течение 60 дней 1% раствор крахмального раствора, составляли соответственно $3,9 \pm 0,31$ мкмоль мочевины/г. сырой ткани. час и $177,8 \pm 5,31$ мкмоль/л, соответственно (табл. 1).

Выявлено, что наряду с активацией процессов энергетического обмена, у крыс в условиях гипертиреоза имеет место повышение детоксикационной функции печени. Так, ПНС (гексенал 100 мг/кг внутрибрюшинно) в этих условиях сокращалась на 26,5% ($p < 0,05$, $n=7$) по отношению к контролю (эутиреодные животные, получавшие в течение 60 дней 1% крахмальный раствор интрагастрально ежедневно) и составляла $21,4 \pm 2,65$ мин, содержание в плазме крови СМ снижалось на 21,6% ($p < 0,05$, $n=7$), а СТК уменьшалась на 19,8% ($p < 0,05$, $n=7$) и составляли, соответственно, $0,59 \pm 0,014$ г/л и $1,2 \pm 0,12$ ед.

Таблица 1

Изменения активности аргиназы печени, уровня валина в плазме крови и температуры тела у крыс в условиях гипо- и гипертиреоза ($\bar{X} \pm S_x$)

Группа животных	Аргиназа мкмоль мочевины/г ткани. час.	Валин мкмоль/л	Температура тела °С
Контроль (К ₁) (1% крахмальный р/р и/г ежедневно, 60 дней, n=6)	$3,9 \pm 0,31$	$177,8 \pm 5,31$	$37,2 \pm 0,12$
Опыт (О ₁) (Т ₃ 30 мкг/кг и/г ежедневно, 60 дней, n=7)	$5,5 \pm 0,43^*$	$121,4 \pm 6,12$	$37,9 \pm 0,12^*$
Опыт (О ₂) (мерказолит 25 мг/кг и/г ежедневно, 60 дней, n=7)	$2,9 \pm 0,25^*$	$217,8 \pm 6,05$	$36,6 \pm 0,14^*$

Примечание: * – изменения достоверны по отношению к (К₁) ($p < 0,05$); n – число животных

Угнетение аргиназы печени L-валином устраняла развитие характерных изменений детоксикационной функции печени и температуры тела на действие экзогенного трийодтиронина. Так, ректальная температура у гипертиреодных крыс ($n=8$), получавших

через день в течение 20 дней, за 30 мин до введения T_3 , внутривенно L-валин (100 мг/кг) была на $0,7^{\circ}\text{C}$ ($p<0,05$, $n=8$) ниже значений температуры тела у животных контрольной группы (у гипертиреоидных крыс, которым вместо L-валина вводили физраствор) и составляла $37,2\pm 0,13^{\circ}\text{C}$.

Для создания экспериментальной модели гипотиреоза применялся тиреостатик мерказолил, который на 1% крахмальном растворе вводили ежедневно зондом в полость желудка крысам в течение 20 дней в дозе 25 мг/кг. Концентрация T_3 и T_4 в плазме крови у гипотиреоидных крыс, по сравнению с контрольной группой (интрагастральное введение 1% крахмального раствора в течение 20 дней), снижалась на 80% ($p<0,05$, $n=8$) и 84,4% ($p<0,05$, $n=8$) и составляла, соответственно, $0,32\pm 0,07$ нМоль/л ($n=8$) и $10,2\pm 2,05$ нМоль/л ($n=8$).

Опыты показали, что у гипотиреоидных крыс имеет место снижение температуры тела, активности процессов энергетического обмена и детоксикации. Так, до начала введения мерказолила, ректальная температура у крыс опытной группы составляла $37,3\pm 0,10^{\circ}\text{C}$ ($n=12$), а через 60 дней его применения снижалась на $0,9^{\circ}\text{C}$ ($p<0,05$). У животных контрольной группы, получавших интрагастрально 1% раствор крахмала, ректальная температура была равной $37,2\pm 0,12^{\circ}\text{C}$ ($n=10$). Наряду со снижением температуры тела, в условиях угнетения функциональной активности щитовидной железы мерказолилом, у крыс наблюдалось снижение уровня СЖК в плазме крови, потребления кислорода и активности СДГ и ЦО митохондрий печени. Так, через 60 дней ежедневного введения тиреостатика, уровень СЖК понижался на 14,6% ($p<0,05$, $n=7$) и составлял $351\pm 22,8$ мкэкв/л, количество потребляемого кислорода снижалось с $40,1\pm 2,51$ мл/кг/мин до $29,3\pm 2,11$ мл/кг/мин (на 26,9%, $p<0,05$, $n=7$). Активность СДГ и ЦО митохондрий печени у экспериментальных животных снижалась на 27,8% ($p<0,05$, $n=7$) и 20,9% ($p<0,05$, $n=7$) и составляла, соответственно, $17,4\pm 0,25$ мкМоль/мг/час и $368\pm 11,3$ нМоль/мг/мин. Понижение температуры тела у животных с экспериментальным гипотиреозом возникало в основном вследствие ослабления теплопродукции (о чем свидетельствовало снижение активности СДГ и ЦО митохондрий печени, уровня СЖК в крови, количества потребляемого животными кислорода).

В условиях гипотиреоза имело место снижение активности детоксикационной функции печени. Так, ПНС у крыс увеличивалась на 29,4% ($p<0,05$, $n=8$) и составляла $36,5\pm 3,85$ мин. Содержание в плазме крови гипотиреоидных крыс СМ возрастало на 18,8% ($p<0,05$, $n=8$) и было равным $0,86\pm 0,009$ г/л, а СТК в этих условиях достигала значений $1,7\pm 0,16$, т.е. увеличивалась на 17,1% ($p<0,05$, $n=8$) по сравнению с контрольной группой (интрагастральное введение 1% крахмального раствора в течение 60 дней).

У гипотиреодных крыс активность аргиназы печени снижалась на 25,6% ($p < 0,05$, $n=7$), а уровень валина в плазме крови повышался на 22,5% ($p < 0,05$, $n=7$). У крыс ($n=7$) контрольной группы (через 20 дней ежедневного интрагастрального введения 1% раствора крахмала) активность аргиназы печени составляла $3,9 \pm 0,31$ мкмоль мочевины/г. сырой ткани·час, а уровень L-валина в плазме крови $177,8 \pm 5,31$ мкмоль/л.

Заключение. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что у гипертиреодных крыс повышается, а у крыс с экспериментальным гипотиреозом – снижается активность аргиназы печени, процессов детоксикации и теплообразования, а угнетение активности аргиназы печени L-валином препятствует повышению детоксикационной функции печени и температуры тела на действие экзогенного трийодтиронина.

Таким образом, обобщая результаты выполненных исследований есть основание заключить, что уровень валина в плазме крови определяет активность аргиназы печени и характер изменений детоксикационной функции печени и температуры тела в условиях действия в организме трийодтиронина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Висмонт, Ф.И. Нейрохимические механизмы антипиретического действия L-аргинина в условиях эндотоксиновой лихорадки / Ф.И. Висмонт, Ю.Н. Степаненко // Весці Акадэміі Навук Беларусі. Серыя хім. навук. 1997. – № 2. – С. 102-106.
2. Висмонт, А.Ф. Роль аргиназы печени и мочевины крови в процессах теплообмена, детоксикации, формирования тиреодного статуса и тепловой устойчивости / А.Ф. Висмонт, Ф.И. Висмонт // Весці Акадэміі Навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. 2014. – № 2. – С. 48-55.
3. Тейлор, Б.С. Индуцибельная синтаза оксида азота печени: регуляция и функции / Б.С. Тейлор, Л.Х. Аларсон, Т.Р. Биллиар // Биохимия. 1998. – Т. 63, № 7. – С. 905-923.
4. Carvajal, N. Kinetics of inhibition of rat liver and kidney arginase by proline and branched chain amino acids / N. Carvajal, S.D. Cederbaum // Biochim. Biophys. Acta. 1986. – Vol. 870 (2). – P. 181–184.
5. Gerstberger, R. Nitric oxide and body temperature control / R. Gerstberger // News Physiol. Sci. 1999. – Vol. 14 (2). – P. 30-36.