

**Висмонт Ф.И., Висмонт А.Ф., Микулич А.Т.**

## **ОБ УЧАСТИИ ВАЛИНА КРОВИ В МЕХАНИЗМАХ РЕАЛИЗАЦИИ ВЛИЯНИЯ ТРИЙОДТИРОНИНА НА ПРОЦЕССЫ ДЕТОКСИКАЦИИ И ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ**

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

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-аргинина, субстрата как для аргиназы, так и NO-синтазы, на температуру тела и процессы теплообмена при эндотоксиновой 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 all., 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 внутривнутрибрюшинно) оценивали по времени нахождения животных в положении на боку. Определение содержания в крови СМ проводили методом кислотно-этанольного осаждения, разработанным В.М. Моиным 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 внутривнутрибрюшинно. Концентрацию мочевины в крови определяли фотометрически [В.С. Камышников, 2001], а активность аргиназы в печени – спектрофотометрически [J.W. Geyer, B. Dabich, 1971]. Содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс определяли методом обращено-фазной жидкостной хроматографии на аналитической колонке Zorbax Eclipse XDB-C<sub>8</sub> [Е.М. Дорошенко, 2010].

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 ( $\bar{X} \pm S_x$ ). 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 Т<sub>3</sub> 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 гипертиреоидными животными кислорода увеличивалось на 24,2% (p<0,05, n=8), а именно, с 40,1±2,51 до 49,8±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% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ), а мочевины – достоверно не изменялся. Активность аргиназы печени, уровень мочевины и 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,  $4,5 \pm 0,51$  ммоль/л и  $177,8 \pm 5,31$  мкмоль/л, соответственно.

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 внутривенно) в этих условиях сокращалась на 26,5% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) по отношению к контролю (эутиреоидные 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

Изменения активности аргиназы печени, уровня мочевины 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.	Мочевина ммоль/л	Валин мкмоль/л	Температура тела °C
Контроль (К <sub>1</sub> ) (1% крахмальный р/р и/г ежедневно, 60 дней, n=6)	$3,9 \pm 0,31$	$4,5 \pm 0,51$	$177,8 \pm 5,31$	$37,2 \pm 0,12$
Опыт (О <sub>1</sub> ) (Т <sub>3</sub> 30 мкг/кг и/г ежедневно, 60 дней, n=7)	$5,5 \pm 0,43^*$	$4,7 \pm 0,58$	$121,4 \pm 6,12$	$37,9 \pm 0,12^*$
Опыт (О <sub>2</sub> ) (мерказолил 25 мг/кг и/г ежедневно, 60 дней, n=7)	$2,9 \pm 0,25^*$	$3,9 \pm 0,42$	$217,8 \pm 6,05$	$36,6 \pm 0,14^*$

Примечание: \* – изменения достоверны по отношению к (К<sub>1</sub>) ( $p < 0,05$ ); 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 гипертиреоидных крыс ( $n=8$ ), получавших через день в течение 20 дней, за 30 мин до введения  $T_3$ , внутривентриально 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% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ). Уровень мочевины в крови в этих условиях достоверно не изменялся. 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 мочевины и L-валина в плазме крови –  $4,5 \pm 0,51$  ммоль/л и  $177,8 \pm 5,31$  мкмоль/л.

Следовательно, 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., Степаненко Ю.Н. Нейрохимические механизмы антипиретического действия L-аргинина в условиях эндотоксиновой лихорадки // Весці Акадэміі Навук Беларусі. Серыя хім. навук. 1997. № 2. С. 102-106.
2. Степанова Н.А., Висмонт А.Ф. Об участии монооксида азота в механизмах реализации влияния трийодтиронина на процессы терморегуляции у крыс // Актуальные теоретические и прикладные аспекты патофизиологии : сб. ст. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием / отв. ред. Н.Е. Максимович. Гродно : УО «ГрГМУ», 2010. С. 408–411.
3. Тейлор Б.С., Аларсон Л.Х., Биллиар Т.Р. Индуцибельная синтаза оксида азота печени: регуляция и функции // Биохимия. 1998. Т. 63, № 7. С. 905-923.
4. Carvajal N., Cederbaum S.D. Kinetics of inhibition of rat liver and kidney arginase by proline and branched chain amino acids // Biochim. Biophys. Acta. 1986. Vol. 870 (2). P. 181–184.
5. Gerstberger R. Nitric oxide and body temperature control // News Physiol. Sci. 1999. Vol. 14 (2). P. 30-36.