

ОБ УЧАСТИИ ВАЛИНА КРОВИ В ПРОЦЕССАХ ДЕТОКСИКАЦИИ И ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ У ГИПО- И ГИПЕРТИРЕОИДНЫХ КРЫС

Ф.И. Висмонт, В.В. Лобанова

УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

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

Целью исследования было выяснение значимости валина плазмы крови в процессах терморегуляции и детоксикации у гипо- и гипертиреоидных крыс.

Материалы и методы. 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 (Парк Д.В., 1973). 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 температуру тела и уровень йодсодержащих гормонов в крови, а также с целью выяснения значимости аргиназы печени в изменениях температуры тела вызванных триодтиронином, использовали ингибитор аргиназы L-валин (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия), который в дозе 100 мг/кг вводили крысам внутривентриально. 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-C₈ [Е.М. Дорошенко, 2010]. Ректальную температуру у крыс измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1. Полученные данные обработаны статистически с использованием пакетов прикладного программного обеспечения «Statsoft (USA) Statistica 8.0», «Microsoft Office Excell 2000», «Graph Pad Prism4». Анализ различий между двумя независимыми группами по количественным показателям, распределение которых статистически значимо не отличалось от нормального, проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента в модификации Уэлча (Welch's test). Данные для количественных показателей представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего ($\bar{X} \pm S_x$), для качественных показателей в виде процентов. Различия между экспериментальными группами считались достоверными при $p < 0,05$.

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 гипертиреодных 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±2,51 до 49,8±3,87 мл/кг/мин.

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±0,31 мкМоль мочевины/г. сырой ткани. час, 4,5±0,51 мМоль/л и 177,8±5,31 мкМоль/л, соответственно (таблица).

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 °С
Контроль (К ₁) (1% крахмальный р/р и/г ежедневно, 60 дней, n=6)	3,9 ± 0,31	4,5 ± 0,51	177,8±5,31	37,2 ± 0,12
Опыт (О ₁) (Т ₃ 30 мкг/кг и/г ежедневно, 60 дней, n=7)	5,5 ± 0,43*	4,7 ± 0,58	121,4±6,12	37,9 ± 0,12*
Опыт (О ₂) (мерказолил 25 мг/кг и/г ежедневно, 60 дней, n=7)	2,9 ± 0,25*	3,9±0,42	217,8±6,05	36,6 ± 0,14*

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

Выявлено, что наряду с активацией процессов энергетического обмена, у крыс в условиях гипертиреоза имеет место повышение детоксикационной функции печени. Так, ПНС 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±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. 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±3,85 мин. Содержание в плазме крови гипотиреоидных крыс СМ возрастало на 18,8% (p<0,05, n=8) и было равным 0,86±0,009 г/л, а СТК в этих условиях достигала значений 1,7±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 гипотиреоидных 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±0,31 мкМоль мочевины/г. сырой ткани·час, а уровень мочевины и L-валина в плазме крови – 4,5±0,51 мМоль/л и 177,8±5,31 мкМоль/л.

Выводы. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что у гипертиреоидных 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.

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. Антипиретический эффект L-валина у крыс и кроликов в условиях эндотоксиновой лихорадки / А.Ф.Висмонт, Ф.И.Висмонт// Доклады НАН Беларуси. – 2011. – Т. 55, №4. – С. 76-78.
3. Степанова, Н.А. Об участии монооксида азота в механизмах реализации влияния трийодтиронина на процессы терморегуляции у крыс / Н.А.Степанова, А.Ф. Висмонт // 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.
4. 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.
5. 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.