

В.В. ЛОБАНОВА, член-корреспондент Ф.И. ВИСМОНТ

ОБ УЧАСТИИ МОНООКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМАХ РЕАЛИЗАЦИИ ВЛИЯНИЯ ТРИЙОДТИРОНИНА НА ПРОЦЕССЫ ДЕТОКСИКАЦИИ И ТЕМПЕРАТУРУ ТЕЛА У КРЫС

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Введение. Известно, что ведущим универсальным звеном в патогенезе нарушений жизнедеятельности при экстремальных состояниях организма и различных заболеваниях как инфекционной, так и неинфекционной природы является токсинемия, выраженность которой во многом определяется активностью детоксикационной функции печени [1,2]. Показано, что от функционального состояния печени зависит активность процессов метаболизма йодсодержащих гормонов щитовидной железы [3,4], обладающих многочисленными биологическими эффектами и которые участвуют в регуляции температуры тела и процессов детоксикации в норме и при патологии [5,6].

Рядом авторов выявлено, что изменение уровня тиреоидных гормонов в крови тесно коррелирует с продукцией в организме монооксида азота (NO) [7,8], который, являясь высокоэффективным регулятором метаболизма, участвует в механизмах терморегуляции [9]. Это позволяет предположить, что NO может участвовать в реализации биологических эффектов тиреоидных гормонов, в частности их влияния на процессы детоксикации и теплообмена.

Целью настоящего исследования было выяснение роли NO в механизмах реализации влияния трийодтиронина на процессы детоксикации и температуру тела.

Материалы и методы исследования. Опыты выполнены на 97 взрослых ненаркотизированных беспородных белых крысах самцах массой 160–220г. Животные до постановки эксперимента в течение 2-х недель адаптировались к условиям вивария. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20-24°C, что находится в пределах термонеutralной зоны крыс. Соблюдался световой и шумовой режим. Животные получали полноценный пищевой рацион в соответствии с нормами содержания лабораторных животных. Экспериментальный гипертиреоз у животных воспроизводили при помощи синтетического гормона трийодтиронина гидрохлорида (Lyothyronine, “Berlin-Chemie”, Германия). Препарат вводили в полость желудка на 1% крахмальном растворе с помощью металлического зонда (диаметр 2,0 мм) с оливой в течение

20 дней в дозе 30 мкг/кг. Глубина погружения зонда – 5,0-6,0 см, в зависимости от веса животного. Скорость подачи гормона – 3,0 мл/мин.

Взятие для исследований крови и ткани печени у животных проводилось сказу после декапитации. Кровь после декапитации собирали в охлажденные центрифужные пробирки с добавлением гепарина и центрифугировали 10 мин (5000 g при 4°C). Полученную плазму отбирали пипеткой и использовали в дальнейшем для определения содержания «средних молекул» и степени токсичности крови. О процессах химической терморегуляции у экспериментальных животных судили по таким показателям, как количество потребляемого кислорода, активность дыхательных ферментов печени – сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и цитохром-с-оксидазы (ЦО). Митохондрии печени выделяли методом дифференциального центрифугирования на холоду в триссахарозной среде. Активность СДГ и ЦО оценивали колориметрически на ФЭК-56 по методике, разработанной Ф.Е. Путилиной, Н.Д. Ещенко [10] и В.И. Малюк [11], соответственно. Потребление животными кислорода определяли камерным способом, описанным О.Н. Елизаровой [12].

О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), концентрации в плазме крови фракции «средних молекул» (СМ) и степени токсичности крови (СТК). Определение содержания СМ производили методом кислотнo-этанольного осаждения, разработанным В.М. Мойным с соавт. [13], СТК-способом, предложенным О.А. Радьковой с соавт. [14]. О ПНС у крыс (гексенал 100,0 мг/кг, внутривбрюшинно) судили по времени нахождения животных в боковом положении [15].

Для выяснения роли NO в изучаемых процессах использовали неселективный блокатор NO-синтазы – L-NAME (метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинина, ACROS ORGANICS, США), который инъецировали крысам внутривбрюшинно в дозе 25 мг/кг за 30 мин до введения в организм трийодтиронина.

Все наблюдения производились в термoneйтральных условиях (20-22°C). Ректальную температуру измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1.

Все полученные данные обработаны при помощи общепринятых методов вариационной биологической статистики с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. В опытах на крысах установлено, что через 20 дней после ежедневного интрагастрального введения экзогенного трийодтиронина (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=10). У гипертиреоидных животных отмечалось возрастание активности

дыхательных ферментов митохондрий печени – СДГ и ЦО на 30,4% ($p < 0,05$, $n=7$) и 22,5% ($p < 0,05$, $n=7$) соответственно. Активность СДГ и ЦО митохондрий печени у крыс контрольной группы ($n=7$), которым в течение указанного срока вводили интрагастрально 1% раствор крахмала, составляла $21,3 \pm 0,28$ мкМоль/мг/час и $407 \pm 17,5$ нМоль/мг/мин. Количество потребляемого животными кислорода увеличивалось на 27,9% ($p < 0,05$, $n=7$), а именно, с $36,5 \pm 2,81$ до $46,7 \pm 4,13$ мл/кг/мин.

Было установлено, что наряду с активацией процессов теплопродукции и 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 27,2% ($p < 0,05$, $n=8$) по отношению к контролю (эутиреоидные животные, получавшие в течение 20 дней 1% крахмальный раствор интрагастрально ежедневно) и составляла $20,5 \pm 2,92$ мин, содержание в плазме крови СМ снижалось на 23,5% ($p < 0,05$, $n=8$), а степень ее токсичности уменьшалась на 19,2% ($p < 0,05$, $n=8$) и составляли соответственно $0,56 \pm 0,01$ г/л и $1,1 \pm 0,13$ ед.

В специальной серии исследований выявлено, что введение экзогенного T_3 в условиях угнетения в организме синтеза NO (L-NAME, 25 мг/кг, внутрибрюшинно за 30 мин. до введения трийодтиронина гидрохлорида) не приводит к активации процессов детоксикации, повышению температуры тела, количества потребляемого животными кислорода и активности дыхательных ферментов печени (см. рис. 1). В контрольной группе животных (получавших вместо L-NAME физ. раствор) наблюдалось повышение температуры тела, имела место активация процессов теплопродукции и энергетического обмена.

Так, у опытных животных, предварительно получавших L-NAME (25 мг/кг), а затем через 30 мин. синтетический T_3 (30 мкг/кг) ежедневно в течение 20 дней, через 12 часов после последнего интрагастрального введения крахмального раствора трийодтиронина гидрохлорида, активность СДГ и ЦО митохондрий печени составляла $22,3 \pm 0,28$ мкМоль/мг/час ($n=8$) и $411 \pm 16,3$ нМоль/мг/мин ($n=7$) соответственно, а количество потребляемого крысами ($n=8$) кислорода было равным $37,5 \pm 3,52$ мл/кг/мин. У животных, получавших T_3 (30 мкг/кг) в течение 20 дней, которым предварительно за 30 мин до введения гормона делали внутрибрюшинную инъекцию физраствора активность СДГ и ЦО митохондрий печени была равной $28,1 \pm 0,37$ мкМоль/мг/час ($n=7$) и $512 \pm 17,3$ нМоль/мг/мин ($n=7$), а количество потребляемого кислорода составляло $44,6 \pm 3,82$ мл/кг/мин ($n=6$).

Интрагастральное введение в течение 20 дней трийодтиронина гидрохлорида (30 мкг/кг) крысам, предварительно за 30 мин. до инъекции T_3 получавших внутрибрюшинно физраствор, приводило к повышению у животных ректальной температуры на $0,8^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$, $n=8$), а в условиях действия ингибитора NO-синтазы (L-NAME, 25 мг/кг), действие T_3 у животных ($n=8$) не вызывало достоверных изменений температуры тела.

ПНС (гексенал 100 мг/кг внутривнутрибрюшинно) у крыс опытной группы, получавших в течение 20 дней T_3 в условиях угнетения активности NO-синтазы L-NAME, через 12 часов после последнего интрагастрального введения гормона увеличивалась на 28,7% ($p < 0,05$, $n=7$) по сравнению с животными в контроле. Длительность наркотического сна у крыс в контроле (интрагастральное введение T_3 в дозе 30 мкг/кг в течение 20 дней и физиологического раствора внутривнутрибрюшинно за 30 мин. до введения гормона) составляла $20,4 \pm 2,51$ мин. ($n=7$).

Наряду с увеличением ПНС, у гипертиреоидных крыс, предварительно получавших L-NAME, наблюдалось также повышение, по сравнению с животными контрольной группы, содержания в плазме крови СМ на 22,7% ($p < 0,05$, $n=7$). Показатель токсичности крови у опытных крыс по сравнению с таковыми в контроле был выше на 24,3% ($p < 0,05$, $n=6$).

Складывалось впечатление, что в условиях действия в организме ингибитора NO-синтазы L-NAME, трийодтиронин не оказывает свое характерное активирующее влияние на процессы детоксикации и термогенеза.

Выводы. Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что интрагастральное введение животным экзогенного T_3 в условиях действия в организме ингибитора NO-синтазы L-NAME, не приводит к изменениям в процессах детоксикации и температуры тела, характерным для гипертиреоза, а именно, в этих условиях не отмечалось снижение ПНС, уровня СМ, СТК, а также не наблюдалось повышения температуры тела, активности СДГ и ЦО в митохондриях печени и количества потребляемого животными кислорода. Полученные данные дают основание полагать, что NO может участвовать в реализации биологических эффектов тиреоидных гормонов, в частности их влияния на процессы детоксикации и температуру тела.

Литература

1. Яковлев М.Ю. // Успехи современной биологии. 2003. Т. 123, № 1. С. 31–40.
2. Яковлев М.Ю. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2003. Т. 29, № 4. С. 98–109.
3. Kelly G.S. // Altern. Med. Rev. 2000. Vol. 4. P. 306–333.
4. Туракулов Я.Х., Ташкоджаева Т.П., Артыкбаева Г.М. // Пробл. эндокринологии. 1991. Т. 37, № 4. С. 44–46.
5. Степанова Н.А., Висмонт Ф.И. // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. 2003. № 1. С. 36–41.
6. Acheson K. J., Burger A. G. // Clin. Endocrinol. and Metab. 1980. Vol. 51, № 1. P. 84–89.
7. Quesada A., Sainz J., Wangenstein R., Rodriguez-Gomez I., Vargas F., Osuna A. // Eur. J. Endocrinology. 2002. Vol. 147. P. 117–122.

8. Fernandez V., Cornejo P., Tapia G., Videla L.A. // Nitric Oxide. 1997. № 6. P. 463-468.
9. Gerstberger R. // News Physiol. Sci. 1999. Vol. 14. № 2. P. 30-36.
10. Путилина Ф. Е., Ещенко Н.Д. // Вестник Ленинград. ун-та. Сер. Биология. 1969. Вып. 4. № 21. С. 74-78.
11. Малюк В. И. // Вопр. мед. химии. 1965. Т. 2. № 4. С. 243-246.
12. Елизарова О. Н. Определение пороговых доз промышленных ядов при пероральном введении / О. Н. Елизарова. М. : Медгиз., 1962.
13. Способ определения веществ группы средних молекул в биологических жидкостях : а.с. 1520445 СССР, VRB F 01 № 33/50. / В.М. Моин [и др.] – №4323421/28-14 ; заявлено 02.11.87; опубл. 07.11.89 // Открытия. Изобретения. 1989. № 41. С. 415.
14. Способ определения токсичности биологических жидкостей : а.с. 1146570 СССР, МКИ б О1 № 1/28. / О.А. Радькова [и др.] – № 3458007/28-13 ; заявлено 18.06.84 ; опубл. 23.03.85 // Открытия. Изобретения. 1985. №11. С. 2.
15. Парк Д.В. Биохимия чужеродных соединений / М. : Медицина, 1973.