ОБ УЧАСТИИ α_1-АНТИТРИПСИНА В РЕГУЛЯЦИИ УРОВНЯ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В КРОВИ, ПРОЦЕССОВ ДЕТОКСИКАЦИИ И ТЕПЛООБМЕНА ПРИ ПЕРЕГРЕВАНИИ

ШУСТ Л.Г., ВИСМОНТ Ф.И.

УО «Белорусский государственный медицинский университет»; кафедра патологической физиологии

Резюме. В опытах на крысах показано, что в развитии сдвигов в эффекторных процессах и гормональных механизмах регуляции теплообмена при перегревании, характеризующихся угнетением теплопродукции, усилением процессов теплоотдачи, понижением детоксикационной функции печени и активности системы гипофиз-щитовидная железа важная роль принадлежит снижению активности α_1-антитрипсина в плазме крови. Установлено, что введённый перед перегреванием в кровоток животным α_1-антитрипсин в дозе 20 мг/кг, ослабляет характерные для действия на организм высокой внешней температуры изменения в процессах детоксикации и содержания тиреоидных гормонов в крови и способствует развитию гипертермии. Активность α_1-антитрипсина крови является важным фактором в механизмах поддержания температурного гомеостаза, тиреоидного статуса и формирования терморегуляторных реакций организма на действие высокой внешней температуры у крыс.

Ключевые слова: терморегуляция, перегревание, α_1-антитрипсин, детоксикация, система гипофиз-щитовидная железа.

Abstract. Experiments on rats show that decreased activity of blood plasma α_1- antitrypsin is likely to play an important role in the development of changes in effector processes and hormonal mechanisms of thermal exchange regulation in overheating. These processes are also characterized by inhibited heat production, increased heat loss, decreased detoxifying liver function and reduced activity of hypophysis- thyroid system. It was found that adjuncted before overheating α_1- antitrypsin (in dose 20 mg/kg) decreases characteristically changes of influence of high external temperature on organism in detoxifying processes and blood thyroid hormones balance and leads to hyperthermia. The activity of blood α_1- antitrypsin is the main factor in regulating temperature homeostasis maintenance, thyroid status and initiation of thermoregulatory bodily reactions under the influence of high external temperature in rats.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, Висмонт Ф.И.: г. Минск, ул. Рыбалко 8-81, Тел. 298- 23 – 66, Шуст Л.Г.: Республика Беларусь, г. Минск, ул. Жудро 31-77; Тел. 255 - 54 - 91

Известно, что печень играет важную роль в образовании и деградации физиологически активных веществ белковой и пептидной природы, участвующих в развитии защитно-приспособительных реакций организма, определяющих резистентность к факторам среды обитания. Показано, что от функционального состояния печени зависит активность процессов дейодирования йодсодержащих гормонов щитовидной железы [9, 11], имеющих особое значение в терморегуляции [8, 10]. Рядом исследователей выявлена тесная взаимосвязь между функциональной активностью терморегуляторных структур мозга и уровнем в крови «белков острой фазы» [3, 4, 5], во многом синтезируемых гепатоцитами [12]. Получены доказательства роли детоксикационной функции печени и ингибиторов протеиназ в механизмах формирования терморегуляторных реакций организма на действие бактериальных эндотоксинов [4, 5, 13]. Однако, участие ингибиторов протеиназ, синтезируемых печенью, в механизмах терморегуляции при перегревании до сих пор остаётся неизученным. Исследования по выяснению их роли в формировании тиреоидного статуса организма вообще не проводились.

Целью работы было выяснить значение некоторых эндогенных ингибиторов протеиназ в регуляции уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови, детоксикационной функции печени и температуры тела при перегревании.

Методы

Опыты выполнены на 164 ненаркотизированных белых крысах обоего пола массой 160 – 200 г. Перегревание животных осуществляли в суховоздушной термокамере (40–42°С). Экспериментальный гипотиреоз у животных воспроизводили с помощью тиреостатика пропилтиоурацила, который в дозе 25 мг/кг на 1% крахмальном растворе вводили ежедневно интрагастрально в течение 20 дней. Для создания модели гипертиреоза использовали синтетический препарат трийодтиронина гидрохлорид (Liothyronin, «Berlin Chemi», Германия), который на 1% крахмальном растворе вводили животным интрагастрально в течение 20 дней в дозе 30 мкг/кг. Острое токсическое поражение печени вызывали однократным интрагастральным введением животным масляного раствора (1:1) CCl_4 (из расчета 4.0 мл/кг веса). Ректальную температуру у животных измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1. Определение активности α_1-антитрипсина (α_1-АТ) и α_2-макроглобулина (α_2-МГ), а также трипсиноподобной протеолитической активности в плазме крови, проводили по методу И.Ю. Карягиной и соавт. [6]. Для оценки процессов обмена белков плазмы крови использовали биохимические методы определения концентрации в крови экспериментальных животных общего белка, альбуминов и глобулинов по методикам, описанным В.Г. Колбом, В.С. Камышниковым [7]. О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), содержанию в плазме крови фракции «средних молекул» (СМ) и степени ее токсичности (СТК). Содержание СМ определяли методом, разработанным В.М. Моиным и соавт. [2]. СТК оценивали способом, предложенным О.А. Радьковой и соавт. [1]. О ПНС у крыс (гексенал

100 мг/кг, внутрибрюшинно) судили по времени нахождения животных в боковом положении. Концентрацию тиреотропного (ТТГ) и йодсодержащих гормонов щитовидной железы в плазме крови определяли радиоиммунным методом с помощью тест-наборов, производства ИБОХ НАН Беларуси соответственно. Все полученные данные обработаны методами вариационной биологической статистики с помощью критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В опытах на крысах установлено, что перегревание сопровождается у животных изменениями показателей теплообмена, активности системы гипофиз-щитовидная железа, ингибиторов протеиназ в плазме крови и детоксикационной функции печени. Перегревание крыс (n=12) приводило к повышению ректальной температуры на 1.5, 2.1 и 2.4 ^{o}C ($p<0.05$) через 15, 30 и 60 минут от начала теплового воздействия. Опыты показали, что перегревание крыс в термокамере в течение 30 и 60 мин, одновременно с повышением ректальной температуры, проявляется у животных уменьшением в плазме крови концентрации альбумина, снижением трипсинподобной протеолитической активности (ТПА), активности α_1-антитрипсина, но не α_2-макроглобулина, и увеличением содержания общего белка и ряда глобулинов. Изменения соответствующих показателей обмена белков в плазме крови крыс (n=10) протекали в условиях повышения значений гематокрита (на 15% и 36% через 30 и 60 мин теплового воздействия). Установлено, что перегревание, через 60 мин от момента воздействия высокой внешней температуры, вызывает снижение содержания альбумина, активности ТПА и α_1-АТ в плазме крови у крыс на 15.0% ($p<0.05$, n=8), 63.6% ($p<0.05$, n=8) и 22.1% ($p<0.05$, n=8) соответственно. Уровень альбумина, ТПА и активность α_1-АТ в плазме крови у крыс (n=8) в контроле составляли соответственно 24.0±0.35 г/л, 416.7±66.2 нмоль/с·л и 21.7±1.5 мкмоль/с·л. Перегревание животных в течение 30 мин не сопровождалось достоверными изменениями активности α_1-АТ и ТПА, а также уровня альбумина в плазме крови. В условиях перегревания (60 мин) в плазме крови у крыс (n=7) возрастало на 69.1% ($p<0.05$) концентрация СМ. Развитие гипертермии сопровождалось повышением СТК, которое через 30 и 60 мин от начала перегревания составляло 16.1% ($p<0.05$, n=7) и 27.4% ($p<0.05$, n=6) соответственно. ПНС у крыс, перенесших перегревание (60 мин), повышалось на 12% ($p<0.05$, n=8) и составляла 30±2.5 мин.

Установлено, что в условиях гипертермии у животных снижается содержание трийодтиронина (T_3) и ТТГ в плазме крови. Воздействие высокой внешней температуры (30 и 60 мин) приводило у крыс (n=7) к понижению уровня ТТГ на 21.1% ($p<0.05$) и 17.4% ($p<0.05$) и концентрации T_3 на 35.0 ($p<0.05$) и 38.5% ($p<0.05$) соответственно. Концентрация T_4 понижалась на 20.0% ($p<0.05$) через 30 мин перегревания, а затем к 60 мин возвращалась к исходному значению. Содержание ТТГ, T_3 и T_4 в плазме крови у животных контрольной группы (n=7) составляло 1.6±0.18 мМЕ/л, 1.4±0.15 нМоль/л и 53.2±3.41 нМоль/л соответственно.

Выявлено, что в условиях поражения печени CCl_4 у крыс снижается активность α_1-антитрипсина в плазме крови, угнетается тиреотропная функция гипофиза, процессы теплообмена и детоксикации и понижается ректальная температура. Так, через 12, 24 и 48 часов после введения раствора CCl_4 ректальная температура у крыс (n=9) понижалась на 0.9±0.12, 1.2±0.13 и 1.8±0.14°C ($p<0.05$). Развитие гипотермии у животных, через 24 часа после затравки животных CCl_4, сопровождалось снижением в плазме крови активности α_1-АТ на 30.8% ($p<0.05$, n=7). Активность α_2-макроглобулина в крови в этих условиях достоверно не изменялась. Интрагастральное введение животным раствора CCl_4 приводило к повышению в плазме крови уровня СМ и СТК. Концентрация СМ, через 12 и 24 часа от момента затравки животных CCl_4, повышалась на 24.5% ($p<0.05$, n=8) и 30.1% ($p<0.05$, n=7). В этих условиях СТК была выше у опытных крыс по сравнению с таковыми в контроле на 32.8% ($p<0.05$, n=7) и 52.2% ($p<0.05$, n=7) соответственно. ПНС, через 12 и 24 часа после введения CCl_4 возрастала по сравнению с животными, которым вводили интрагастрально подсолнечное масло на 23.7% ($p<0.05$, n=7) и 20.7% ($p<0.05$, n=6) соответственно. Поражение печени CCl_4 у крыс (n=7) сопровождалось, через 24 часа после введения животным гепатотропного яда, снижением в плазме крови уровня T_3 на 43.4% ($p<0.05$), T_4 на 42.1% ($p<0.05$) и ТТГ – на 29.3% ($p<0.05$) по сравнению с контролем (интрагастральное введение подсолнечного масла).

Обнаружено, что введение в кровоток α_1-АТ вызывает у животных повышение температуры тела и активности системы гипофиз-щитовидная железа. Так, α_1-АТ, при внутривенном введении в дозе 20 мг/кг, повышал температуру тела у крыс на 0.9°C ($p<0.001$, n=8) и 0.7°C ($p<0.001$, n=8) через 120 и 180 мин после инъекции соответственно. Действие α_1-АТ в организме у крыс (n=7) через 120 мин после введения в кровоток приводило к повышению уровня ТТГ на 28.5% ($p<0.05$) по сравнению с контролем соответственно. В этих условиях у крыс концентрация T_3 в крови возрастала на 21.8% ($p<0.05$), а содержание T_4 снижалось на 30.1% ($p<0.05$).

Установлено, что введенный перед перегреванием в кровоток животным (n=6) α_1-антитрипсин в дозе 20 мг/кг ослабляет характерные для действия на организм высокой внешней температуры изменения в процессах детоксикации и содержания тиреоидных гормонов в крови и способствует развитию гипертермии.

Результаты выполненных исследований дали основания полагать, что тиреоидный статус организма, состояние печени, ее детоксикационной и белоксинтезирующей функции имеет важное значение для формирования терморегуляторных реакций у крыс на действие высокой внешней температуры. Подтверждение было получено в экспериментах на животных с гипо- и гипертиреозом. У крыс (n=8) с экспериментальным гипотиреозом перегревание животных сопровождалось более выраженным угнетением детоксикационной функции печени, более значительным снижением активности α_1-антитрипсина, уровня три- и тетрайодтиронина в плазме крови, снижением тепловой устойчивости и большей скорости повышения температуры тела. Воздействие высокой внешней температуры, хотя и не сказывалось на состоянии перегревания гипертри-

реоидных крыс (n=7), однако сопровождалось менее выраженными изменениями детоксикационной функции печени, активности α_1-антитрипсина в плазме крови и повышением терморезистентности.

В последующих исследованиях было выявлено, что поражение печени CCl_4 приводит к снижению тепловой устойчивости животных к перегреванию. Опыты показали, что время достижения ректальной температуры у крыс 42 ^oC под влиянием высокой внешней температуры (40-42 ^oC) и время наступления гибели животных, затравленных CCl_4, значительно меньше, чем в контрольной группе (интрагастральное введение подсолнечного масла). Время жизни животных в опыте (n=9) и контроле (n=7) составляло соответственно 65±8.1 и 97±8.4 мин. Установлено, что перегревание (30 мин) в условиях предварительной (за 24 часа) затравки животных CCl_4 не только усугубляет эндотоксинемию и приводит к более выраженной гипертермии, но и сопровождается менее значительным снижением концентрации T_3 в плазме крови.

Заключение

Очевидно, процессы детоксикации, активность α_1-антитрипсина и уровень трийодтиронина в крови, который во многом определяется функциональной активностью печени, процессами дейодирования в ней, являются важными факторами поддержания температурного гомеостаза организма при перегревании. Полученные данные имеют важное значение для понимания патогенеза ряда состояний, сопровождающихся гипертермией, и механизмов устойчивости организма к действию высокой внешней температуры.

Из выше изложенного можно сделать следующие выводы:

1. Состояние функциональной активности печени имеет важное значение в механизмах регуляции уровня эндотоксинемии, йодсодержащих гормонов щитовидной железы и активности α_1-антитрипсина в крови у крыс при перегревании. Угнетение функциональной активности печени CCl_4 приводит к снижению активности α_1-антитрипсина и содержания йодтиронинов, возрастанию уровня «средних молекул» и токсичности в крови, что сопровождается снижением тепловой устойчивости, способствует перегреванию и развитию гипертермии.

2. В развитии сдвигов в эффекторных процессах и гормональных механизмах регуляции теплообмена при перегревании, характеризующихся угнетением теплопродукции, усилением процессов теплоотдачи, понижением детоксикационной функции печени и активности системы гипофиз-щитовидная железа важная роль принадлежит снижению активности α_1-антитрипсина в плазме крови.

3. Активность α_1-антитрипсина крови является важным фактором в механизмах поддержания температурного гомеостаза, тиреоидного статуса и формирования терморегуляторных реакций организма на действие высокой внешней температуры у крыс.

Литература

1. Способ определения токсичности биологических жидкостей: а. с. 1146570 СССР, МКИ G 01 № 1/28 / О. А. Радькова, Г. А. Бояринов, И. Н. Балишина, К. В. Крылов. – № 3458007/28-13; заявлено 18.06.82; опубл. 23.03.85 // Открытия. Изобретения. – 1987. – № 41. – С. 415.

2. 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. – 1987. – № 41. – С. 415.

3. Висмонт, Ф. И. Эндотоксинемия в физиологии и патологии терморегуляции / Ф. И. Висмонт // Проблемы термофизиологии в биол. и мед / под. ред. В. Н. Гурина [и др.]. – Минск: ПЧУП «Бизнесофсет», 2004. – С. 61 – 63.

4. Висмонт, Ф. И. О роли детоксикационной функции печени и α_1-антитрипсина крови в патогенезе эндотоксиновой лихорадки / Ф. И. Висмонт, О. Г. Шуст // Бюллетень эксперим. биологии и медицины. – 2000. – Т. 129, № 7. – С. 39 – 41.

5. Ингибиторы протеиназ и цитокины крови в механизмах гипертермии при стрессе / А. В. Гурин. – Минск: УП «Технопринт», 2003. – 124 с.

6. Карягина, И. Ю. Использование метода комплексного определения активности трипсиноподобных протеиназ, α_1-антитрипсина и α_2-макроглобулина в гастроэнтерологической клинике / И. Ю. Карягина, Р. А. Зарембский, М. Б. Балябина // Лаб. дело. – 1990. – № 2. – С. 72-73.

7. Колб, В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – 2-е изд., перераб. и доп. – Минск: Беларусь, 1982. – 366 с.

8. Степанова, Н. А. О роли монооксида азота в регуляции функций щитовидной железы, детоксикационной функции печени и температуры тела при эндотоксиновой лихорадке / Н. А. Степанова, Ф. И. Висмонт // Весці НАН РБ. – 2003. – № 1. – С. 36 – 41.

9. Таракулов, Я. Х. Активность конверсии тироксина в трийодтиронин в печени и почках крыс / Я. Х. Таракулов, Т. П. Ташкоджаева, Г. М. Артыкбаева // Пробл. эндокринологии. – 1991. – Т. 37, № 4. – С. 44-46.

10. Clark, W. G. Brain and pituitary peptides in thermoregulation / W. G. Clark, J. M. Lipton // Pharmacol. Therm. – 1983. – Vol. 22, N 1. – P. 249-297.

11. Kelly, G. S. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review / G. S. Kelly // Altern. Med. Rev. – 2000. – N 4. – P. 306-333.

12. Moshage, H. Cytokines and the hepatic acute phase response / H. Moshage // J. Pathol. – 1997. – Vol. 181, N 3. – P. 257-266.

13. Sandakov, D. B. Acute phase proteins – possible regulators of febrile response / D. B. Sandakov // Themoregulation in health and disease / ed. V. N. Gourine. – Minsk, 1997. – P. 79-83.