

МЕДИЦИНА

УДК 546.17:576.8.097.29:612.56-0.92.4

*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***Белорусский государственный медицинский университет, Минск**Поступило 04.06.2014*

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 участвующих 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.

Цель исследования – 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 160–220 г. Животные до постановки эксперимента в течение двух недель адаптировались к условиям вивария. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20–24 °С, что находится в пределах термонеutralной зоны крыс. Соблюдались световой и шумовой режимы. 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 %-ном 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 сразу после декапитации. Кровь после декапитации собирали в охлажденные центрифужные пробирки с добавлением гепарина и центрифугировали 10 мин (5000g при 4 °С). 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 холоде в триссахарозной среде. Активность СДГ и ЦО оценивали колориметрически на ФЭК-56 по методике, раз-

работанной 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 кислотного-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, внутривентриально) судили по времени нахождения животных в боковом положении [15].

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

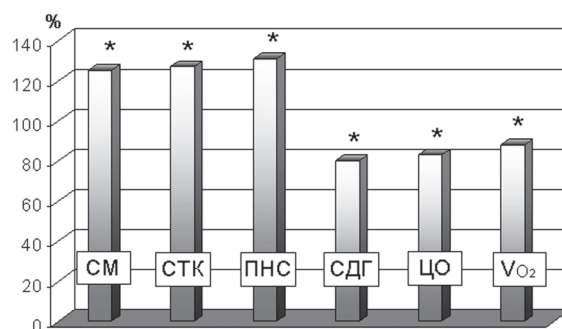
Все наблюдения производились в термонеutralных условиях (20–22 °C). Ректальную температуру измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1.

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 %-ный 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 внутривентриально) в этих условиях сокращалась на 27,2 % ($p < 0,05$, $n = 8$) по отношению к контролю (эутиреоидные животные, получавшие в течение 20 дней 1 %-ный 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 $0,56 \pm 0,011$ г/л и $1,1 \pm 0,13$ ед.

В специальной серии исследований выявлено, что введение экзогенного Т₃ в условиях угнетения в организме синтеза NO (L-NAME, 25 мг/кг, внутривентриально за 30 мин до введения трийодтиронина гидрохлорида) не приводит к активации процессов детоксикации, повышению температуры тела, количества потребляемого животными кислорода и активности дыхательных



Изменение содержания «средних молекул» (СМ), степени токсичности (СТК) плазмы крови, продолжительности наркотического сна (ПНС), количества потребляемого кислорода (V_{O_2}), а также активности СДГ и ЦО печени у крыс (в % к контролю, принятому за 100 %) через 20 дней после ежедневного интрагастрального введения животным трийодтиронина гидрохлорида в дозе 30 мкг/кг, предварительно за 30 мин до введения гормона, получавших L-NAME (25 мг/кг); * – изменения достоверны по отношению к контролю (принятому за 100 %) – интрагастральное введение животным трийодтиронина гидрохлорида в дозе 30 мкг/кг ($p < 0,05$)

ферментов печени (рисунок). В контрольной группе животных (получавших вместо L-NAME физраствор) 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 T₃ (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/ч ($n = 8$) 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 T₃ (30 мкг/кг) в течение 20 дней, которым предварительно за 30 мин до введения гормона делали внутривентриальную инъекцию физраствора активность СДГ и ЦО митохондрий печени была равной $28,1 \pm 0,37$ мкмоль/мг/ч ($n = 7$) 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 T₃ получавшим внутривентриально физраствор, приводило к повышению у животных ректальной температуры на $0,8$ °C ($p < 0,05$, $n = 8$), а в условиях действия ингибитора NO-синтазы (L-NAME, 25 мг/кг) действие T₃ у животных ($n = 8$) не вызывало достоверных изменений температуры тела.

ПНС (гексенал 100 мг/кг внутривентриально) у крыс опытной группы, получавших в течение 20 дней T₃ 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 T₃ в дозе 30 мкг/кг в течение 20 дней и физиологического раствора внутривентриально за 30 мин до введения гормона) составляла $20,4 \pm 2,51$ мин ($n = 7$).

Наряду с увеличением ПНС, у гипертиреозных 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 $24,3$ % ($p < 0,05$, $n = 6$).

Результаты исследований свидетельствуют о том, что в условиях действия в организме ингибитора NO-синтазы L-NAME, трийодтиронин не оказывает своего характерного активирующего влияния на процессы детоксикации и термогенеза.

Выводы. Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что интрагастральное введение животным экзогенного T₃ 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 снижения 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 заключить, что NO участвует 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., Таикоджаева Т. П., Артыкбаева Г. М. // Пробл. эндокринологии. 1991. Т. 37, № 4. С. 44–46.
5. Степанова Н. А., Висмонт Ф. И. // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. 2003. № 1. С. 36–41.
6. Acheson K. J., Burger A. G. // Clin. Endocrinol. and Metab. 1980. Vol. 51, N 1. P. 84–89.
7. Quesada A., Sainz J., Wangensteen R. et al. // Eur. J. Endocrinology. 2002. Vol. 147. P. 117–122.
8. Fernandez V., Cornejo P., Tapia G., Videla L. A. // Nitric Oxide. 1997. N 6. P. 463–468.
9. Gerstberger R. // News Physiol. Sci. 1999. Vol. 14, N 2. P. 30–36.
10. Путилина Ф. Е., Ещенко Н. Д. // Вестн. 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. 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; заявл. 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 ОI № 1/28 / О. А. Радькова [и др.]. – № 3458007/28-13; заявл. 18.06.84; опубл. 23.03.85 // Открытия. Изобретения. 1985. № 11. С. 2.

15. *Парк Д. В.* Биохимия чужеродных соединений. М.: Медицина, 1973.

V. V. LOBANOVA, F. I. VISMONT

vismont@bsmu.by

**PARTICIPATION OF NITRIC MONOXIDE IN REALIZATION MECHANISMS OF TRIIODOTHYRONINE
INFLUENCE ON THE DETOXICATION PROCESSES AND BODY TEMPERATURE IN RATS**

Summary

In experiments on rats, it was found that hyperthyrosis is accompanied by activation of the detoxication processes and a rise in body temperature. Inhibition of the NO-synthase activity by methyl ester N^G-nitro-L-arginine diminishes the typical changes in detoxication processes and body temperature induced by the action of exogenous triiodothyronine.