

ОБ УЧАСТИИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ И КЛЕТОК КУПФЕРА В РЕГУЛЯЦИИ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ И ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭТАНОЛОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста алкогольной патологии. А как известно, заболеваемость и смертность при регулярном употреблении алкогольных напитков связана с токсическим воздействием этанола на важнейшие органы человека и, в первую очередь, печень.

Целью исследования было выяснение значимости аргиназы печени и клеток Купфера в регуляции детоксикационной функции печени и температуры тела при хронической этаноловой интоксикации.

В опытах на крысах с использованием современных физиологических, биохимических методов исследования и фармакологического подхода было установлено, что хроническая этаноловая интоксикация приводит к снижению температуры тела, активности аргиназы печени и повышению уровня «средних молекул» в плазме, степени токсичности крови, активности аланинаминотрансферразы и аспартатаминотрансферразы, так и продолжительности наркотического сна. Депрессия клеток Купфера гадолиния хлоридом ослабляет токсический эффект этанола на печень, а также развитие характерных изменений активности аргиназы печени, процессов детоксикации и температуры тела у крыс с хронической этаноловой интоксикацией.

Ключевые слова: *хроническая алкогольная интоксикация, температура тела, аргиназа печени, клетки Купфера.*

F. I. Vismont, V. V. Lobanova

TO THE PARTICIPATION OF LIVER ARGINASE AND KUPFFER CELLS IN LIVER DETOXICATION FUNCTION AND BODY TEMPERATURE IN RATS WITH CHRONIC ETHANOL INTOXICATION

Alcohol pathology and liver pathology induced by ethanol in particular are one of the most important problems of modern medicine. It's known that the high morbidity and mortality rate

caused by regular use of alcoholic beverages is associated with toxic effects of ethanol on the most important human organs, primarily liver.

The aim of investigation was determination the liver arginase activity and Kupffer cells importance in liver detoxication function and body temperature regulation in rats with chronic ethanol intoxication.

In experiments on rats it was established, that chronic ethanol intoxication is accompanied by decrease in body temperature, liver arginase activity and increase of the level of «middle molecules» in plasma, and the extent of blood toxicity, the activity of plasma alanineaminotransferase and aspartate- aminotransferase, as well as the duration of narcotic sleep. Inhibition of the Kupffer cells activity by gadolinium chloride reduces toxic effect of ethanol on the liver, as well as the development of typical changes in the liver arginase activity, processes of detoxification and body temperature in rats with chronic ethanol intoxication.

Key words: *chronic ethanol intoxication, body temperature, liver arginase, Kupffer cells.*

Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста алкогольной патологии, патологии, приводящей к сокращению продолжительности жизни и отрицательно сказывающейся на состоянии здоровья.

Как известно, заболеваемость и смертность при регулярном потреблении алкогольных напитков связана с токсическим воздействием этанола на важнейшие органы человека и в первую очередь, печень [1], а гепатоциты и клетки Купфера (КК) играют важную роль в процессах детоксикации [2].

К настоящему времени накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих о значении КК и аргиназы печени в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии. Выявлено, что активность аргиназы печени снижается при остром токсическом ее поражении [9], а также при острой алкогольной интоксикации [3]. Учитывая, что активность аргиназы печени лимитирует доступность L-аргинина для индуцибельной NO-синтетазы [8], были основания полагать, что ее активность будет сказываться на синтезе монооксида азота (NO), который играет важную роль в механизмах детоксикации и терморегуляции [4, 6]. Однако исследования с целью выяснения роли аргиназы печени и клеток Купфера (КК) в механизмах детоксикации и терморегуляции при хронической алкоголизации не проводились.

Целью работы было выяснение роли аргиназы печени и клеток Купфера в регуляции детоксикационной функции печени и температуры тела при хронической этаноловой интоксикации.

Материалы и методы. Опыты выполнены на 108 взрослых ненаркотизированных белых крысах-самцах массой 180–220 г. Опыты проводили в строго определенное время (8–12 часов утра).

Модель хронической алкогольной интоксикации воспроизводили на крысах путем ежедневного интрагастрального введения животным 30 %-ного раствора этанола (из расчета 3,5 г 92 %-ного этанола на кг массы тела животного) в течение 60 дней. Селективную депрессию КК вызывали у животных внутрибрюшинным введением водного раствора гадолиния хлорида ($GdCl_3$) в дозе 10 мг/кг [10]. Активность аргиназы в печени определяли спектрофотометрически [7].

О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), степени токсичности крови (СТК) и содержанию в плазме крови «средних молекул» (СМ). ПНС (гексенал 100 мг/кг, внутрибрюшинно) оценивали по времени нахождения животных в положении на боку (Парк Д. В., 1973). Определение содержания в крови СМ проводили методом кислотно-этанольного осаждения, разработанным В. М. Моиним с соавт. (1989), СТК способом, предложенным О. А. Радьковой с соавт. (1985). О тяжести повреждения печени судили по активности в плазме крови аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ). Определение активности АлАТ и АсАТ в плазме крови проводили колориметрически динитрофенилгидразиновым методом.

Все полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами параметрической статистики. Достоверность различий между двумя группами показателей оценивали по t-критерию Стьюдента для независимых выборок. Все данные представлены в виде среднего арифметического и ошибки среднего арифметического ($\bar{X} \pm S_x$). Результаты считали статистически значимыми при значениях $p < 0,05$. Статистическую обработку данных и построение диаграмм выполняли на персо-

□ Оригинальные научные публикации

нальном компьютере с помощью прикладной программы «Excel».

Результаты и обсуждение. В опытах на крысах установлено, что ежедневное интрагастральное введение животным водного раствора этанола в течение 60 дней приводит к выраженным изменениям температуры тела, детоксикации, активности аргиназы печени и трансаминаз плазмы крови. Ректальная температура снижалась (через 60 дней от начала эксперимента) на $1,1 \pm 0,14$ °C ($p < 0,05$, $n = 20$).

Опыты показали, что длительное интрагастральное введение этанола приводит к угнетению детоксикационной функции печени, что проявлялось повышением СТК на 57,8 % ($p < 0,05$, $n = 10$), уровня СМ в плазме крови на 38,5 % ($p < 0,05$, $n = 10$) и увеличением ПНС на 24,5 % ($p < 0,05$, $n = 7$). Содержание СМ в плазме крови, СТК и ПНС в контроле (ежедневное интрагастральное введение физ. раствора в течение двух месяцев, $n = 10$) составили соответственно $0,69 \pm 0,012$ г/л, $1,3 \pm 0,11$ ед. и $27,8 \pm 3,22$ мин. Активность аргиназы печени в этих условиях снижалась на 54,7 % ($p < 0,05$, $n = 8$) и составляла $2,5 \pm 0,27$ мкмоль мочевины/г сырой ткани·час. Уровень АлАТ и АсАТ, важнейших показателей тяжести повреждения печени, в плазме крови алкоголизованных животных ($n = 8$) повышался по сравнению с контрольными на 572,1 % ($p < 0,05$) и 190,5 % ($p < 0,05$) соответственно.

В опытах на алкоголизованных крысах было установлено, что угнетение КК $GdCl_3$ ослабляет развитие характерных изменений активности аргиназы, детоксикационной функции печени и температуры тела на действие этанола. Так, температура тела у крыс, которым предварительно, за 12 часов до интрагастрального введения этанола, внутрибрюшинно вводили 1,0 мл физ. раствора (1 раз в неделю в течение 60 дней) по сравнению с контрольными животными (введение физ. раствора интрагастрально и внутрибрюшинно) понижалась на 1,0 °C ($p < 0,05$, $n = 10$), а в опыте, у животных, которым до алкоголизации предварительно внутрибрюшинно вводили $GdCl_3$ (10 мг/кг), снижалась на 0,5 °C ($p < 0,05$, $n = 20$). Выявлено, что у алкоголизованных животных в условиях депрессии КК значения основных показателей печеночной детоксикации (уровень – СМ в плазме крови, степень её токсичности), были меньше по сравнению с контрольными (физ. раствор внутрибрюшинно 1 раз в неделю в течение 60 дней и этанол интрагастрально ежедневно в течение

2 месяцев) на 25,2 % ($p < 0,05$, $n = 9$) и 28,5 % ($p < 0,05$, $n = 9$) соответственно. ПНС у крыс в этих условиях уменьшалась по сравнению контролем на 27,1 % ($p < 0,05$, $n = 9$). Содержание СМ в плазме крови, СТК и ПНС у крыс ($n = 7$) в контроле (этанол интрагастрально ежедневно и физ. раствор внутрибрюшинно 1 раз в неделю в течение 60 дней) составили $1,13 \pm 0,029$ г/л, $2,8 \pm 0,32$ ед. и $35,4 \pm 3,68$ мин. соответственно.

Опыты показали, что хроническая алкогольная интоксикация у крыс в условиях депрессии КК, сопровождается менее значимым повышением уровня АлАТ и АсАТ в плазме крови. Активность АлАТ и АсАТ в плазме крови у опытных животных по сравнению с контрольными была ниже на 65,5 % ($p < 0,05$, $n = 9$) и 42,3 % ($p < 0,05$, $n = 9$) соответственно и составляли $1,21 \pm 0,05$ мккат/л и $1,07 \pm 0,10$ мккат/л.

Установлено, что ежедневное внутрибрюшинное введение в течение 2-х недель крысам ингибитора аргиназы N^o-гидрокси-нор-L-аргинина (nor-NOHA) фирмы BACHEM (Германия) в дозе 10 мг/кг [5] статистически значимо не сказывалось на температуре тела и приводило к снижению активности аргиназы печени на 70,8 % ($p < 0,05$, $n = 7$). Выявлено, что в условиях депрессии аргиназы печени nor-NOHA действие этанола сопровождается менее значимым угнетением детоксикационной функции печени и снижением температуры тела. Температура тела у крыс, подвергшихся хронической этаноловой интоксикации снижалась на $1,2 \pm 0,16$ ($p < 0,01$, $n = 20$), а в условиях действия nor-NOHA на $0,5 \pm 0,07$ °C ($p < 0,05$, $n = 8$). Содержание ДК и МДА в крови у крыс с хронической алкогольной интоксикацией ($n = 8$) получавших nor-NOHA, по сравнению с уровнем в контрольной группе животных (алкоголизация и внутрибрюшинное введение физ. раствора) были ниже на 35,1 % ($p < 0,05$) и 29,8 % ($p < 0,05$) соответственно.

Таким образом, хроническая этаноловая интоксикация у крыс сопровождается снижением температуры тела, активности аргиназы печени, увеличением ПНС и повышением уровня СМ, СТК, а также активности АлАТ и АсАТ в плазме крови. В изменениях детоксикационной функции печени и температуры тела, индуцированных хронической интоксикацией этанолом, участвуют аргиназа печени и клетки Купфера. Действие в организме как ингибитора КК $GdCl_3$, так и ингибитора аргиназы nor-NOHA ослабляет развитие характерных изменений температуры тела, активности аргиназы печени и ее детокси-

кационной функции при хронической алкогольной интоксикации. В условиях как депрессии клеток Купфера гадолиния хлоридом, так и аргиназы печени *nor*-NOHA ослабляется токсическое действие этанола на печень и хроническая алкогольная интоксикация в этих условиях сопровождается менее выраженными изменениями активности АлАТ, АсАТ в крови и температуры тела у крыс.

Литература

1. Буко, В. У. Метаболические последствия алкогольной интоксикации / В. У. Буко, О. Я. Лукивская, А. М. Хоха. – Минск: Белорусская наука, 2005. – 207 с.
2. Маянский, Д. Н. Клетки Купфера и патология печени: Обзор // Патофизиология. – 1985. – № 4. – С. 80–86.
3. Трапезникова, С. С. Активность аргиназы различных тканей крысы при алкогольной интоксикации / С. С. Трапезникова, В. М. Гуртовенко, Д. Г. Навасардянец // Вопр. мед. химии. – 1983. – Т. 29, № 4. – С. 95–98.
4. Тэйлор, Б. С. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции / Б. С. Тэйлор,

Оригинальные научные публикации □

1. Х. Аларсон, Т. Р. Биллиар // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. – С. 905–923.
2. 5. *Boucher, J. L.* Selective inhibitors and substrates for arginases and nitric oxide synthases / J. L. Boucher // Fund. Clin. Pharmacol. – 2004. – Vol. 18, № 1. – P. 5–15.
3. 6. *Gerstberger, R.* Nitric Oxide and Body Temperature Control / R. Gerstberger // News Physiol. Sci. – 1999. – Vol. 14, № 2. – P. 30–36.
4. 7. *Geyer, J. W.* Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates / J. W. Geyer, D. Dabich // Anal. Biochem. – 1971. – Vol. 39, № 2. – P. 412–417.
5. 8. *Hallemeesch, M. M.* Reduced arginine availability and nitric oxide production / M. M. Hallemeesch, W. H. Lamers, N. E. Deutz // Clin. Nutr. – 2002. – Vol. 21. – P. 273–279.
6. 9. *Mendez, J. D.* Spermine increases arginase activity in the liver after carbon tetrachloride-induced hepatic injury in Long-Evans rats / J. D. Mendez, H. De Haro, V. A. Conejo // Biomed. Pharmacother. – 2006. – Vol. 6, № 2. – P. 82–85.
7. 10. *Volmar, B.* Modulation of Kupfer cells activity by gadolinium chloride in endotoxemic rats / B. Volmar, D. Rettinger, G. A. Wanner // Shock. – 1996. – Vol. 6, № 6. – P. 434–441.

Поступила 14.09.2016 г.