

## **Влияние йодсодержащих гормонов щитовидной железы на уровень холестерина липопротеинов крови крыс в условиях экспериментального CLP-перитонита**

*В опытах на крысах изучены особенности изменения содержания холестерина (ХС) в различных классах липопротеинов (ЛП) крови, в печени и надпочечниках в условиях экспериментального CLP-перитонита, а также влияние йодсодержащих гормонов щитовидной железы на показатели ЛП обмена в этих условиях.*

*Установлено, что введение гормонов щитовидной железы тироксина и трийодтиронина крысам с CLP-перитонитом вызывает увеличение летальности животных и не предотвращает характерных для системного воспаления изменений ЛП обмена: снижения содержания ХС ЛПВП, повышения уровня ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови и увеличения коэффициента атерогенности.*

**Ключевые слова:** CLP-перитонит, системное воспаление, тироксин, трийодтиронин, холестерин, липопротеины, дислипидопротеинемия.

Поиск путей коррекции основных жизненных функций и обмена веществ при септических состояниях является одной из актуальных задач современной медицины. Известно, что сепсис приводит к развитию синдрома полиорганной недостаточности, который проявляется, в частности, повреждением печени. [2, 4, 7]. В прогрессировании данного синдрома важную роль играет нарушение метаболизма, в том числе липидов крови и тканей [4]. По данным литературы, сепсис и другие экстремальные состояния сопровождаются угнетением функциональной активности тиреоидной системы (euthyroid sick syndrome) [8, 10]. Однако роль функциональной недостаточности щитовидной железы в патогенезе нарушений липидного и липопротеинового обмена при септических состояниях остается недостаточно изученной.

Целью нашего исследования явилось изучение изменений содержания холестерина (ХС) липопротеинов (ЛП) крови, общего ХС в печени и надпочечниках крыс при экспериментальном CLP-перитоните, а также влияния гормонов щитовидной железы тироксина и трийодтиронина на показатели ЛП обмена в этих условиях.

### Материал и методы

Эксперименты выполнены на 80 ненаркотизированных белых беспородных крысах обоего пола массой 180-220 г. Для стандартизации условий эксперимента опыты проводились после 12-часового голодания животных при свободном доступе к воде, что обеспечивало нивелирование индивидуальных особенностей обмена веществ, связанных с процессами всасывания липидов в кишечнике.

Для создания экспериментального перитонита нами использована модель лигирования и последующего однократного пунктирования слепой кишки – cecal ligation and perforation (CLP) [9]. Для этого крысам под гексеналовым наркозом (100 мг/кг, в/бр) производили разрез передней брюшной стенки, через который извлекали слепую кишку. Затем ниже илео-цекального клапана на кишку накладывали лигатуру и однократно пунктировали ее иглой. По данным литературы, через 18-24 часа после CLP-операции у животных развивается тяжелый полимикробный сепсис, который сопровождается выраженной полиорганной недостаточностью [6, 9, 10]. В качестве

контроля использовали ложнооперированных (ЛО) крыс, которым под наркозом проводили разрез передней брюшной стенки без извлечения и пунктирования слепой кишки. Всем животным через 30 мин после оперативного вмешательства подкожно вводили 2,5 мл изотонического раствора хлорида натрия.

Йодсодержащие гормоны щитовидной железы тироксин и трийодтиронин вводили ЛО крысам и крысам с CLP-перитонитом внутрибрюшинно в дозах 300 мкг/кг и 30 мкг/кг через 1,5 и 3 часа после CLP-операции соответственно.

Ректальную температуру измеряли с помощью электротермометра фирмы «MicroLife» (Швейцария). Кровь, ткань печени и надпочечники забирали сразу после декапитации, которую проводили через 20 часов после лигирования и пунктирования слепой кишки или ложной операции. Органы взвешивали, навеску печени (около 300 мг) и оба надпочечника гомогенизировали в этиловом спирте. Подсчет количества лейкоцитов в стабилизированной крови крыс проводили общепринятым методом в камере Горяева.

Тяжесть поражения печени оценивали по изменению соотношения активности АлАТ/АсАТ в сыворотке крови (унифицированный динитрофенилгидразиновый метод Райтмана-Френкеля [1]) и показателя тимоловой пробы (стандартные наборы НТПК «Анализ X»).

Из сыворотки крови выделяли суммарную фракцию ЛП очень низкой и низкой плотности (ЛПОНП+ЛПНП) и ЛП высокой плотности (ЛПВП) по методу M. Burstein, J. Samaille [5]. После экстракции липидов из фракций ЛП и тканевых гомогенатов по методу М.А. Креховой, М.К. Чехрановой [3] в липидных экстрактах определяли содержание общего ХС с использованием реакции Либермана-Бурхарда.

Все полученные данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Опыты показали, что через 20 часов после CLP-операции у всех крыс развиваются некроз слепой кишки, перитонит с выпотом в брюшную полость, парез кишечника; выраженные признаки генерализованной воспалительной реакции: адинамия, вялость, в большинстве случаев-геморрагический конъюнктивит и диарея. Установлено, что в условиях CLP-перитонита ректальная температура крыс снижается на 0,9°C: с  $37,8 \pm 0,09$ °C до  $36,9 \pm 0,41$ °C ( $p < 0,05$ ;  $n=10$ ), количество лейкоцитов в крови возрастает на 43,6%: с  $7,74 \cdot 10^9$ /л до  $11,04 \cdot 10^9$ /л ( $p < 0,05$ ;  $n=8$ ). Эти изменения являются проявлением системного воспалительного ответа организма на инфекцию [2, 4].

В то же время в условиях CLP-перитонита у животных отмечается формирование противовоспалительного ответа, который проявляется, в частности, активацией коры надпочечников и гиперпродукцией глюкокортикоидных гормонов. Выявлено, что при CLP-перитоните масса надпочечников крыс увеличивается на 35,5%: с  $52,8 \pm 6,3$  до  $70,2 \pm 3,6$  мг ( $p < 0,05$ ;  $n=6$ ), при этом содержание в них ХС значительно снижается с  $4,82 \pm 0,36$  до  $1,54 \pm 0,08$  мг/100 мг ткани ( $p < 0,001$ ;  $n=14$ ), т.е. на 68,1%.

Показано, что в условиях CLP-перитонита у крыс развивается реактивный гепатит, сопровождающийся цитолитическим и мезенхимально-воспалительным синдромами. Через 20 часов после CLP-операции соотношение активности АлАТ/АсАТ в сыворотке крови повышается на 35,0%: с  $0,60 \pm 0,07$  до  $0,81 \pm 0,05$  ( $p < 0,02$ ;  $n=12$ ); показатель тимоловой пробы возрастает на 164,3%: с  $0,56 \pm 0,32$  до

1,48±0,15 ед. ( $p < 0,02$ ;  $n=13$ ). Содержание общего ХС в печени крыс увеличивается на 11,4%: с  $0,290 \pm 0,007$  до  $0,323 \pm 0,014$  мг/100 мг ткани ( $p < 0,05$ ;  $n=14$ ).

В опытах установлено, что повреждение печени в условиях экспериментального СLP-перитонита сопровождается значительными сдвигами в содержании ХС различных фракций ЛП сыворотки крови крыс (рис. 1). Так, уровень ХС ЛПВП крови снижается на 43,6%: с  $1,40 \pm 0,19$  до  $0,79 \pm 0,07$  ммоль/л ( $p < 0,01$ ;  $n=14$ ); содержание ХС суммарной фракции ЛПОНП+ЛПНП возрастает на 91,1%: с  $0,56 \pm 0,06$  до  $1,07 \pm 0,08$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ;  $n=14$ ). Коэффициент атерогенности (отношение ХС ЛПОНП+ЛПНП/ХС ЛПВП) увеличивается на 221,7%: с  $0,46 \pm 0,10$  до  $1,48 \pm 0,16$  ед. ( $p < 0,001$ ;  $n=14$ ), что свидетельствует о развитии вторичной атерогенной дислипотеинемии (ДЛП).

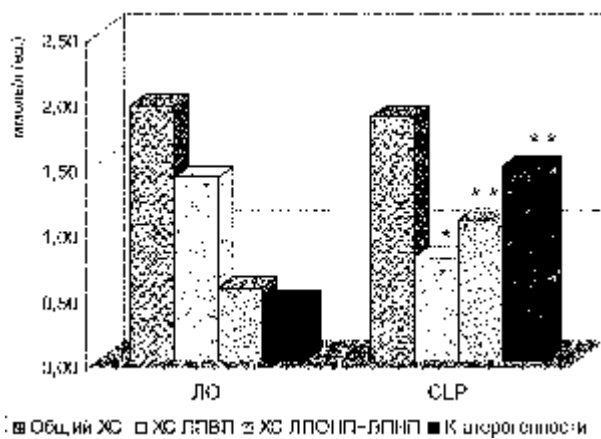


Рис. 1. Содержание общего ХС, ХС ЛП различных классов сыворотки крови и коэффициент атерогенности при СLP-перитоните. \* -  $p < 0,01$ ; \*\* -  $p < 0,001$ .

Снижение уровня ХС ЛПВП крови и увеличение содержания ХС в печени при СLP-перитоните, по-видимому, связано с угнетением синтеза насцентных ЛПВП в поврежденной печени, в результате чего, возможно, нарушается включение ХС в формирующиеся ЛПВП-частицы, и одновременно происходит его накопление в гепатоцитах. Это подтверждается обнаружением отрицательной корреляционной связи средней силы между содержанием ХС ЛПВП крови и показателями, отражающими повреждение печени в условиях СLP-перитонита: соотношением активности АЛТ/АсАТ в сыворотке крови ( $r = -0,69 \pm 0,17$ ;  $p < 0,001$ ) и тимоловым показателем ( $r = -0,62 \pm 0,17$ ;  $p < 0,002$ ).

Выявлено, что введение тироксина ЛЮ крысам в дозе 300 мкг/кг (в/бр) через 1,5 часа после операции приводит к снижению содержания ХС ЛП крови (рис. 2). Так, уровень общего ХС в сыворотке крови снижается на 43,2% ( $p < 0,002$ ;  $n=7$ ), содержание ХС ЛПВП уменьшается на 45,1% ( $p < 0,01$ ;  $n=7$ ), ХС ЛПОНП+ЛПНП-на 37,6% ( $p < 0,05$ ;  $n=7$ ), коэффициент атерогенности не изменяется. В этих условиях содержание общего ХС в печени ЛЮ крыс понижается на 16,6%: с  $0,356 \pm 0,026$  до  $0,297 \pm 0,015$  мг/100 мг ткани ( $p < 0,05$ ;  $n=7$ ).

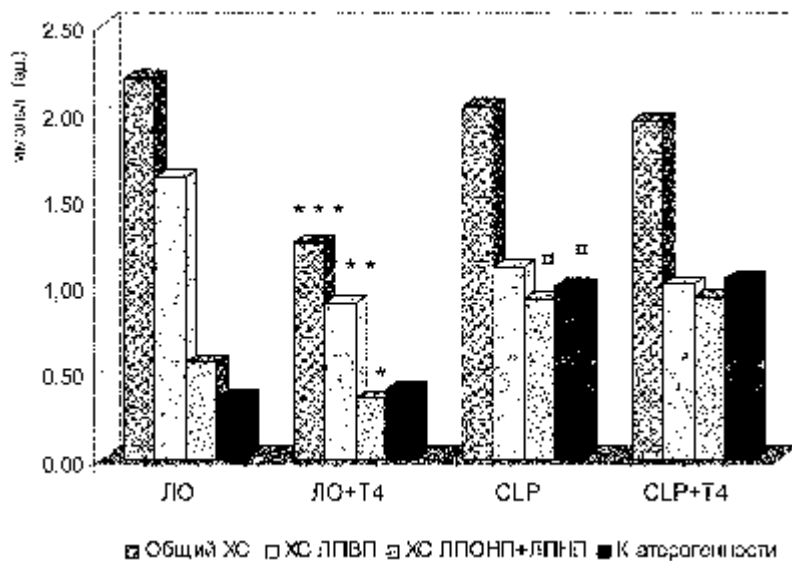


Рис. 2. Содержание общего ХС, ХС ЛП различных классов сыворотки крови и коэффициент атерогенности после введения тироксина (Т4) ЛО крысам и крысам с CLP-перитонитом. \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,002$  (достоверность различий между ЛО и ЛО+Т4 животными).  $\alpha$  -  $p < 0,05$  (достоверность различий между ЛО и CLP животными).

Установлено, что введение тироксина крысам с CLP-перитонитом приводит к значительному увеличению летальности. Летальность крыс с CLP-перитонитом после введения тироксина возросла на 37,5%. Показано, что действие тироксина в условиях CLP-перитонита не предотвращает характерных для системного воспаления изменений ЛП обмена: снижения содержания ХС ЛПВП, повышения уровня ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови и увеличения коэффициента атерогенности (рис. 2).

Можно было предположить, что одной из возможных причин отсутствия влияния тироксина на показатели ЛП обмена при CLP-перитоните является дисфункция печени, приводящая к нарушению процесса дейодирования тироксина и снижению концентрации физиологически активного гормона (трийодтиронина). Для проверки этого предположения были выполнены эксперименты по изучению влияния трийодтиронина на показатели ЛП обмена при CLP-перитоните.

Показано, что введение трийодтиронина ЛО крысам в дозе 30 мкг/кг (в/бр) через 3 часа после операции не влияет на содержание ХС ЛПВП, но вызывает понижение уровня ХС ЛПОНП+ЛПНП в сыворотке крови на 37,0% ( $p < 0,02$ ;  $n=9$ ) и коэффициента атерогенности-на 38,1% ( $p < 0,05$ ;  $n=9$ ; рис. 3). Действие трийодтиронина, как и тироксина, у крыс с CLP-перитонитом приводило к росту летальности. Летальность при CLP-перитоните после введения трийодтиронина возросла на 12,7%. Установлено, что введение трийодтиронина также не предотвращает изменений уровня ХС ЛП крови и развития вторичной атерогенной ДЛП у животных при септических состояниях (рис. 3).

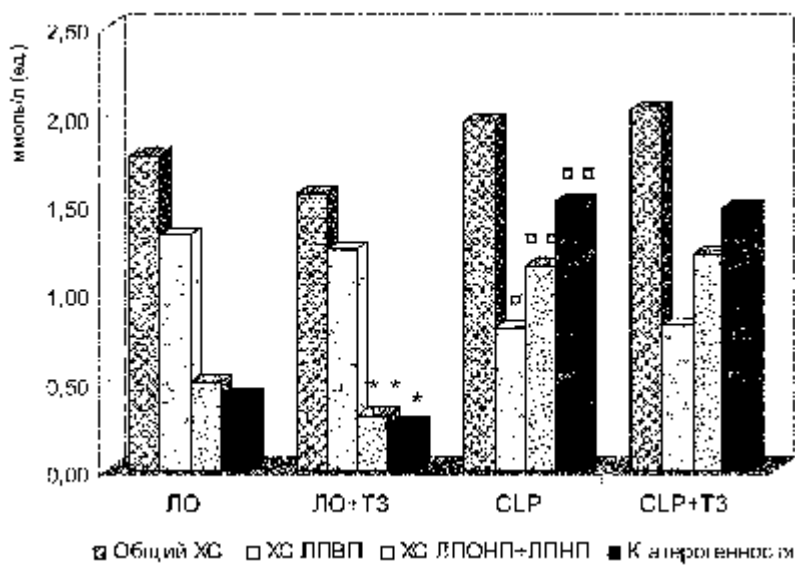


Рис. 3. Содержание общего ХС, ХС ЛП различных классов сыворотки крови и коэффициент атерогенности после введения трийодтиронина (Т3) ЛО крысам и крысам с CLP-перитонитом. \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,02$  (достоверность различий между ЛО и ЛО+Т3 животными).  $\alpha$  -  $p < 0,01$ ;  $\alpha\alpha$  -  $p < 0,001$  (достоверность различий между ЛО и CLP животными).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что при CLP-перитоните на фоне угнетения функциональной активности тиреоидной системы имеют место выраженные изменения содержания ХС ЛП сыворотки крови: снижается содержание ХС ЛПВП, повышаются уровень ХС суммарной фракции ЛПОНП+ЛПНП и коэффициент атерогенности. Введение йодсодержащих гормонов щитовидной железы тироксина и трийодтиронина крысам с CLP-перитонитом не сказывается на выраженности нарушений липопротеинового обмена, но вызывает увеличение летальности животных, что свидетельствует об усугублении тяжести системного воспаления в условиях гипертиреоза. По-видимому, развитие вторичной атерогенной ДЛП в условиях CLP-перитонита обусловлено не столько снижением функциональной активности тиреоидной системы, сколько нарушением других механизмов регуляции липидного и липопротеинового обмена.

### Литература

1. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике.-Мн.: Белорусская наука, 2000.-776 с.
2. Кевра М.К. Сепсис: новый взгляд на старую проблему // Белорусский медицинский журнал.-2003.-№4.-С. 25 – 32.
3. Крехова М.А., Чехранова М.К. Фракционное определение эфиров холестерина в крови и тканях с помощью хроматографии в тонком слое // Вопросы медицинской химии.-1971.-Т.17, №1.-С. 93 – 98.
4. Лейдерман И.Н. Синдром полиорганной недостаточности (ПОН). Метаболические основы // Вестник интенсивной терапии. – 1999.-№2. – С. 8-13.
5. Burstein M., Samaille J. Sur la clarification du serum lipemique par l'heparine in vitro // C. R. Acad. Sci. (Paris).-1955.-Vol. 241, № 9.-P. 664 – 665.
6. Deitch E.A. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned // Shock.-1998.-Vol. 9, № 1.-P. 1-11.
7. Deitch E.A. Multiple organ failure: pathophysiology and potential future therapy // Ann. surg. – 1992. – V. 216. – P. 117-134.

8. Kelly G.S. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review // *Altern. Med. Rev.*-2000.-№ 4.-P. 306-333.
9. Wichterman K.A., Baue A.E., Chaudry I.H. Sepsis and septic shock – a review of laboratory models and proposal // *J. Surg. Res.*-1980.-Vol. 29, № 2.-P.189 – 201.
10. Yang Z.L., Yang L.Y., Huang G.W., Liu H.L. Tri-iodothyronine supplement protects gut barrier in septic rats // *World J. Gastroenterol.* – 2003.-Vol. 9, № 2.-P. 347-350