

О роли $\alpha 1$ -антитрипсина в регуляции уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови, процессов детоксикации и теплообмена при перегревании
Белорусский государственный медицинский университет

В опытах на крысах показано, что активность $\alpha 1$ -антитрипсина крови является важным фактором в механизмах поддержания температурного гомеостаза, тиреоидного статуса и формирования терморегуляторных реакций организма на действие высокой внешней температуры у крыс. Установлено, 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 $\alpha 1$ -антитрипсина в плазме крови. Ключевые слова: терморегуляция, перегревание, $\alpha 1$ -антитрипсин, детоксикация, система гипофиз-щитовидная железа.

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.

Материал и методы

Опыты выполнены на 164 ненаркотизированных белых крысах обоего пола массой 160 – 200 г. Перегревание животных осуществляли в суховоздушной термокамере (40 – 42°C). 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) СС14 (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 трипсинподобной 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. Моиним и соавт. [2]. СТК оценивали способом, предложенным О.А. Радьковой и соавт. [1]. О ПНС у крыс (гексенал 100 мг/кг, внутривенно) 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 оС (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 а1-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 а1-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 (Т3) 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 Т3 на 35.0 (p<0.05) и 38.5% (p<0.05) соответственно. Концентрация Т4 понижалась на 20.0% (p<0.05) через 30 мин перегревания, а затем к 60 мин возвращалась к исходному значению. Содержание ТТГ, Т3 и Т4 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 СС14 у крыс снижается активность а1-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 СС14 ректальная температура у крыс (n=9) понижалась на 0.9±0.12, 1.2±0.13 и 1.8±0.14 оС (p<0.05). Развитие гипотермии у животных, через 24 часа после затравки животных СС14, сопровождалось снижением в плазме крови активности а1-АТ на 30.8% (p<0.05, n=7). Активность а2-макроглобулина в крови в этих условиях достоверно не изменялась. Интрагастральное введение животным раствора СС14 приводило к повышению в плазме крови уровня СМ и СТК. Концентрация СМ, через 12 и 24 часа от момента затравки животных СС14, 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 СС14 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 СС14 у крыс (n=7) сопровождалось, через 24 часа после введения животным гепатотропного яда, снижением в плазме крови уровня Т3 на 43.4% (p<0.05), Т4 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 кровотоки а1-АТ вызывает у животных повышение температуры тела и активности системы гипофиз-щитовидная железа. Так, а1-АТ, при внутривенном введении в дозе 20 мг/кг, повышал температуру тела у крыс на 0.9 оС (p<0.001, n=8) и 0.7 оС (p<0.001, n=8)

через 120 и 180 мин после инъекции соответственно. Действие $\alpha 1$ -АТ в организме у крыс ($n=7$) через 120 мин после введения в кровотоки приводило к повышению уровня ТТГ на 28.5 % ($p<0.05$) по сравнению с контролем соответственно. В этих условиях у крыс концентрация Т3 в крови возрастала на 21.8 % ($p<0.05$), а содержание Т4 снижалось на 30.1 % ($p<0.05$).

Установлено, что введенный перед перегреванием в кровотоки животным ($n=6$) $\alpha 1$ -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 перегреванию животных сопровождалось более выраженным угнетением детоксикационной функции печени, более значительным снижением активности $\alpha 1$ -антитрипсина, уровня три- и тетраiodтиронина в плазме крови, снижением тепловой устойчивости и большей скорости повышения температуры тела. Воздействие высокой внешней температуры, хотя и не сказывалось на состоянии перегревания гипертиреоидных крыс ($n=7$), однако сопровождалось менее выраженными изменениями детоксикационной функции печени, активности $\alpha 1$ -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 °C под влиянием высокой внешней температуры (40-42 °C) 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 Т3 в плазме крови.

Заключение

Очевидно, процессы детоксикации, активность $\alpha 1$ -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.

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. А.с. 1146570 СССР, МКИ G 01 № 1/28. Способ определения токсичности биологических жидкостей / О.А. Радькова, Г.А. Бояринов, И.Н. Балишина, К.В. Крылов.-№ 3458007/28-13; заявлено 18.06.82; Опубл. 23.03.85. Бюл. №11 // Открытия. Изобретения. – 1987.-№ 41. – С. 415.

2. А.с. 1520445 СССР, VRB F 01 № 33/50. Способ определения веществ группы средних молекул в биологических жидкостях / В.М. Моин, В.В. Николайчик, В.В. Кирковский и др.-№ 4323421/28-14; заявлено 02.11.87; Опубл. 07.11.89. Бюл. № 41 // Открытия. Изобретения. – 1987.-№ 41. – С. 415.

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

4. Висмонт, Ф.И., Шуст, О.Г. О роли детоксикационной функции печени и α 1-антитрипсина крови в патогенезе эндотоксиновой лихорадки // Бюллетень эксперим. биологии и медицины.-2000. – Т. 129, № 7. – С. 39 – 41.

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

6. Карягина, И.Ю., Зарембский, Р.А., Балябина, М.Б. Использование метода комплексного определения активности трипсиноподобных протеиназ, α 1-антитрипсина и α 2-макроглобулина в гастроэнтерологической клинике // Лаб. дело. – 1990.-№ 2. – С. 72-73.

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

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

- 9.Таракулов, Я.Х., Ташкоджаева, Т.П., Артыкбаева, Г.М. Активность конверсии тироксина в трийодтиронин в печени и почках крыс // Пробл. эндокринологии. – 1991. – Т. 37, № 4. – С. 44-46.
- 10.Clark W.G., Lipton J.M. Brain and pituitary peptides in thermoregulation // Pharmacol. Therm. – 1983. – Vol. 22, № 1. – P. 249-297.
- 11.Kelly, G.S. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review // Altern. Med. Rev. – 2000. – № 4. – P. 306-333.
- 12.Moshage, H. Cytokines and the hepatic acute phase response // J. Pathol. – 1997. – Vol. 181, № 3. – P. 257-266.
- 13.Sandakov D.B. Acute phase proteins – possible regulators of febrile response // In: Thermoregulation in health and disease / ed. by V.N. Gourine. – Minsk, 1997. – P. 79-83.