

Э.Н. Кучук, Л.Г. Шуст
**РОЛЬ α_1 -АНТИТРИПСИНА В ПАТОГЕНЕЗЕ ГИПЕРТЕРМИИ
У КРЫС ПРИ ВНЕШНЕМ ПЕРЕГРЕВАНИИ**

*Кафедра патологической физиологии
Белорусский государственный медицинский университет., г. Минск*

E.N. Kuchuk, L.G. Shust
**THE ROLE OF ANTITRIPPSIN IN THE PATHOGENESIS OF HYPERTHERMIA
IN RATS DUE TO EXTERNAL OVERHEATING**

*Department of Pathological Physiology
Belarusian State Medical University, Minsk*

Резюме. Тиреоидный статус организма, состояние печени, ее детоксикационной и белоксинтезирующей функции, имеет важное значение для формирования терморегуляторных реакций у крыс на действие высокой внешней температуры.

Ключевые слова: ингибиторы протеиназ, тиреоидные гормоны, гипертермия.

Resume. Thyroid status of the body the liver, its detoxification function and protein synthesis is essential for the formation of thermoregulatory responses in rats by exposure to high ambient temperature.

Keywords: proteinase inhibitors, thyroid hormones, hyperthermia.

Актуальность. 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 [8], имеющих особое значение в терморегуляции. Выявлена тесная взаимосвязь между функциональной активностью терморегуляторных структур мозга и уровнем в крови «белков острой фазы» [3, 4, 9], во многом синтезируемых гепатоцитами. Получены доказательства роли детоксикационной функции печени и ингибиторов протеиназ в механизмах формирования терморегуляторных реакций организма на действие бактериальных эндотоксинов [3,5]. 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.

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

Задачи: исследовать изменения содержания белковых фракций, активности α_1 -антитрипсина и уровней йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови у крыс в условиях гипо- и гипертиреоза, внешнего перегревания, токсического поражения печени; выявить роль детоксикационной функции печени в обмене гормонов щитовидной железы, поддержании состояния эутиреоза и в повышении

резистентности к неблагоприятным внешним воздействиям, в частности, к перегреванию.

Материалы 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) CCl₄ (из расчета 4.0 мл/кг веса). Ректальную температуру у крыс измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1. Определение активности α_1 -антитрипсина (α_1 -АТ) и α_2 -макроглобулина (α_2 -МГ), трипсинподобной протеолитической активности в плазме крови проводили по методу И.Ю. Карягиной и соавторами [6]. Для оценки процессов обмена белков плазмы крови использовали биохимические методы определения концентрации в крови 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 соавторами [2]. СТК оценивали способом, предложенным О.А. Радьковой и соавторами [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 их 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 °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 тем-

пературы, 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/сл и 21.7 ± 1.5 мкмоль/сл. 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 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 °С ($p < 0.05$), что 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. 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 кровотоки 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 °С ($p < 0.001$, $n=8$) и 0.7 °С ($p < 0.001$, $n=8$) через 120 и 180 мин после инъекции соответственно. Через 120 мин после введения в кровотоки α_1 -АТ приводило у крыс ($n=7$) к повышению уровня ТТГ на 28.5 % ($p < 0.05$), T_3 на 21.8 % ($p < 0.05$), а содержание T_4 снижалось на 30.1 % ($p < 0.05$) по сравнению с контролем. Установлено, что

введенный перед перегреванием в кровотоки 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 тетраiodтиронина в плазме крови, снижением тепловой устойчивости и большей скорости повышения температуры тела. Воздействие высокой внешней температуры, хотя и не сказывалось на скорости перегревания гипертиреоидных крыс ($n=7$), однако сопровождалось менее выраженными изменениями детоксикационной функции печени, активности α_1 -антитрипсина в плазме крови и повышением терморезистентности.

Далее было выявлено, что поражение печени CCl_4 приводит к снижению резистентности животных к перегреванию, значительному сокращению времени достижения ректальной температуры 42 °С и наступления гибели животных. Время жизни животных в опыте ($n=9$) и контроле ($n=7$) составляло соответственно 65 ± 8.1 и 97 ± 8.4 мин. Перегревание (30 мин) в условиях предварительной (за 24 часа) заправки 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.

Выводы. 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.

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., Шуст О.Г. О роли детоксикационной функции печени и альфа 1-антитрипсина в патогенезе эндотоксиновой лихорадки //Бюлл. эксперим биологии и медицины.- 2000. Т.129. - №7.- С. 39 - 41.

4. 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.
5. Гурин А.В. Ингибиторы протеиназ и цитокины крови в механизмах гипертермии при стрессе.- 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.-366с.
8. Kelly G.S. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review // Altern. Med. Rev. – 2000. – № 4. – Р. 306-333.
9. Sandakov D.B. Acute phase proteins – possible regulators of febrile response // Themoregulation in health and disease / ed. by V.N. Gourine. - Minsk: 1997. - С. 79-83.