

ВЛИЯНИЕ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА НА НАПРЯЖЕННОСТЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ПЕЧЕНИ И КРОВИ КРЫС ПРИ СТРЕССЕ

Гусакова Е.А., Городецкая И.В.

Учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,
Витебск, Республика Беларусь

Реферат. Установлен новый аспект участия йодсодержащих тиреоидных гормонов в антистресс-системе организма, связанный с их лимитирующим воздействием на активацию одного из основных механизмов патогенеза стрессорного повреждения — протеолитических процессов в печени и крови крыс в условиях стресса, напряженность которых оценивали по индексу протеолиза, представляющему собой отношение трипсинподобной активности к суммарной ингибиторной емкости (сумме активности α_1 -антитрипсина и α_2 -макроглобулина).

Ключевые слова: йодсодержащие тиреоидные гормоны, протеолиз, стресс.

Введение. В настоящее время стресс привлекает внимание не только физиологов, но и клиницистов, поскольку является причиной или способствующим фактором возникновения подавляющего числа заболеваний за счет срыва механизмов адаптации на физиологическом, биохимическом и психическом уровнях [1]. Поэтому изучение закономерностей его возникновения, развития, а также факторов, предупреждающих или ограничивающих реализацию стресс-реакции, имеют особую медицинскую и социальную значимость. Известно, что одним из основных механизмов стрессорных повреждений является стимуляция протеолиза. В норме протеолитические ферменты участвуют в регуляции биологических процессов на разных уровнях: молекулярном — контролируют концентрацию белковых и пептидных биорегуляторов; клеточном — обеспечивают реализацию и регуляцию функций клеток (биогенез структур, фагоцитоз, деление, движение и др.); тканевом — осуществляют ряд физиологических процессов (свертывание крови, фибринолиз и др.); межорганном — участвуют в гуморальной и нервной регуляции, что координирует функционирование всех систем и интеграцию организма как целого [2]. Показателем состояния системы протеолиза является соотношение активности протеолитических ферментов и их ингибиторов [3]. В норме в этой системе поддерживается динамическое равновесие. Однако в условиях стресса протеазно-ингибиторный баланс сдвигается в сторону увеличения активности протеолитических ферментов [4]. Исследования последних лет показали, что изменение этого баланса является причиной развития многих видов патологических состояний [5–7]. С другой стороны, установлено, что одним из значимых факторов антистресс-системы являются йодсодержащие тиреоидные гормоны (ЙТГ) [8–10]. В Республике Беларусь нарушение функции щитовидной железы встречается приблизительно у 70% детей, 40% трудоспособного населения и 30% людей пожилого возраста. Тиреоидная патология занимает лидирующее положение в структуре первичной эндокринологической заболеваемости, причем с каждым годом прогнозируется рост ее распространенности [11]. Однако исследований относительно влияния тиреоидного статуса на интенсивность протеолиза при стрессе до сих пор не проводилось.

Цель работы — изучение влияния йодсодержащих гормонов щитовидной железы на напряженность протеолитических процессов в печени и крови крыс в условиях стресса.

Материалы и методы. Опыты поставлены на 182 половозрелых беспородных белых крысах-самцах массой 220–250 г в осенне-зимний период. Для достижения поставленной цели сравнивали выраженность изменений в системе протеиназы/ингибиторы при стрессе у крыс с экспериментально вызванным подавлением тиреопродуцирующей функции щитовидной железы и у животных, которым вводили L-тироксин в малых, близких к физиологическим, дозах. Крысы были разделены на 13 групп (по 10 особей в каждой): 1 — интактные; 2 — контроль (внутрижелудочное введение 1% крахмального клейстера); 3–5 — животные, получавшие 1% крахмальный клейстер, подвергнутые стрессу «свободного плавания в клетке» (по 5 особей в стандартной пластиковой клетке (50×30×20 см), заполненной водой (22°C) на высоту 15 см и закрытой сверху сеткой [12]) в течение 1 ч и взятые в эксперимент через 1 ч (стадия тревоги), 48 ч после стресса (стадия устойчивости) и после стресса по 1 ч в течение 10 сут (стадия истощения); 6 — крысы, получавшие мерказолил (ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Украина) (25 мг/кг внутрижелудочно в 1% крахмальном клейстере в течение 20 сут); 7–9 — получавшие мерказолил животные, подвергнутые стрессу и взятые в эксперимент в такие же сроки; 10 — крысы, получавшие «малые» дозы L-тироксина (Berlin-Chemie AG, «Менарини Групп», Германия) (1,5–3,0 мкг/кг внутрижелудочно в 1% крахмальном клейстере в течение 28 сут); 11–13 — получавшие L-тироксин животные, подвергнутые стрессу и взятые в эксперимент в указанные сроки. Крыс забивали декапитацией под уретановым наркозом (1 г/кг массы тела). Концентрацию йодсодержащих тиреоидных гормонов в крови — общих трийодтиронина (T_3) и тироксина (T_4), их свободных фракций ($T_{3св}$ и $T_{4св}$) — определяли радиоиммунологически с помощью наборов реактивов РИА- T_3 -СТ, РИА- T_4 -СТ (Институт биоорганической химии НАН Беларуси), РИА FT3, РИА FT4 (IMMUNOTECH, A Beckman Coulter Company, Чехия). Состояние системы протеолиза оценивали по трипсиноподобной активности (ТпА) и активности основных ингибиторов протеиназ (α_1 -антитрипсина (α_1 -АТ) и α_2 -макроглобулина (α_2 -МГ)) в печени и крови [13]. Рассчитывали индекс протеолиза (ИП), отражающий напряженность или «управляемость» протеолитических процессов, как отношение ТпА к суммарной ингибиторной емкости (сумма активности α_1 -АТ и α_2 -МГ) [14]. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 6.0. Количественные параметры представляли в виде Me (LQ; UQ), где Me — медиана, (LQ; UQ) — интерквартильный интервал: верхняя граница нижнего квартиля (LQ) и нижняя граница верхнего квар-

тия (UQ), поскольку после первоначального определения характера распределения (Shapiro–Wilk, s test) было установлено, что оно отличалось от нормального. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. У интактных животных концентрация T_3 в крови составила 1,651 (1,574; 1,689) нмоль/л, T_4 67,097 (62,367; 73,592) нмоль/л, T_3 св 3,717 (3,582; 4,145) пмоль/л, T_4 св 13,869 (13,099; 14,815) пмоль/л. Индекс протеолиза в печени был равен 9,89 (9,44–10,37) усл. ед, в крови он был значительно меньшим — 5,63 (3,95–6,52) усл. ед.

Через 1 ч после стресса (стадия тревоги) сывороточная концентрация йодсодержащих тиреоидных гормонов увеличивалась (T_3 — на 26% ($p < 0,01$), T_4 — на 28% ($p < 0,01$), T_3 св — на 64% ($p < 0,01$), T_4 св — на 54% ($p < 0,01$)). Индекс протеолиза в печени был таким же, как в контроле, а в крови возрастал — в 1,33 раза.

Через 48 ч после стресса (стадия устойчивости) уровень йодтиронинов в крови возвращался к исходным значениям. Индекс протеолиза и в крови, и в печени был таким же, как в контроле.

Через 10 дней стресса по 1 ч (стадия истощения) сывороточное содержание йодсодержащих тиреоидных гормонов снижалось: T_3 — на 20% ($p < 0,01$), T_4 — на 24% ($p < 0,01$), T_3 св — на 27% ($p < 0,01$), T_4 св — на 35% ($p < 0,01$)). Индекс протеолиза в печени в отличие от стадии тревоги повышался в 2,25 раза, а в крови, как и в указанную стадию, увеличивался, но более значительно — в 2,19 раза.

У животных, получавших мерказолил, на фоне падения концентрации йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови: T_3 — на 22% ($p < 0,01$), T_4 — на 18% ($p < 0,01$), T_3 св — на 31% ($p < 0,01$), T_4 св — на 27% ($p < 0,01$), индекс протеолиза как в крови, так и в печени не изменялся.

Через 1 ч после стресса в отличие от стрессированных эутиреоидных крыс сывороточное содержание йодтиронинов не увеличивалось, а падало, вследствие чего становилось меньшим по сравнению с таковым после стресса на фоне эутиреоза: T_3 — на 60% ($p < 0,01$), T_4 — на 57% ($p < 0,01$), T_3 св — на 109% ($p < 0,01$), T_4 св — на 102% ($p < 0,01$)). По сравнению с группой «Мерказолил» индекс протеолиза в печени увеличивался, чего не наблюдалось в этот период стресс-реакции у животных, не получавших мерказолил, в 2,02 раза, а в крови — также возрастал, но более существенно по сравнению с ними — в 2,44 раза. По отношению к его значению в контроле индекс протеолиза превышал его в 2,06 раза в печени и в 2,16 раза в крови. По сравнению с его величиной в стадию тревоги у эутиреоидных крыс индекс протеолиза был больше: в печени — в 2,11 раза, в крови — в 1,63 раза.

Через 48 ч после стресса уровень йодсодержащих тиреоидных гормонов в крови не возвращался к исходным значениям, поэтому данная стадия стресса развивалась на фоне более низкой по сравнению с крысами, не получавшими мерказолил, концентрации йодтиронинов: T_3 — на 34% ($p < 0,01$), T_4 — на 33% ($p < 0,01$), T_3 св — на 35% ($p < 0,01$), T_4 св — на 43% ($p < 0,01$)). По сравнению с группой «Мерказолил» индекс протеолиза увеличивался в 1,80 раза в печени и в 2,19 раза в крови, чего не наблюдалось после стресса у эутиреоидных крыс. Индекс протеолиза превышал контроль как в печени (в 1,84 раза), так и в крови (в 1,95 раза). По отношению к его величине в стадию устойчивости у эутиреоидных животных индекс протеолиза в печени был выше в 1,85 раза, в крови — в 2,01 раза.

Стадия истощения стресс-реакции у животных, получавших тиреостатик, сопровождалась наиболее глубоким угнетением тиреоидной функции: по сравнению со стрессом у эутиреоидных крыс сывороточная концентрация T_3 была ниже на 20% ($p < 0,01$), T_4 — на 27% ($p < 0,01$), T_3 св — на 23% ($p < 0,01$), T_4 св — на 43% ($p < 0,01$)). По отношению к группе «Мерказолил» индекс протеолиза возрастал в печени в 4,16 раза и особенно значительно в крови — в 5,31 раза. По сравнению с ее значением в контроле индекс протеолиза был в печени больше, чем в контроле в 4,24 раза, в крови — в 4,71 раза.

Введение малых, близких к физиологическим, доз L-тироксина не влияло на уровень йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови и индекс протеолиза в печени и крови.

Через 1 ч после стресса у крыс, получавших L-тироксин, сывороточное содержание йодтиронинов возрастало в меньшей степени, чем в стадию тревоги у не получавших его: T_3 — на 9% ($p < 0,01$), T_4 — на 12% ($p < 0,01$), T_3 св — на 29% ($p < 0,01$), T_4 св — на 25% ($p < 0,01$) меньше. Индекс протеолиза как в печени, так и в крови не отличался от его значения в группе «Тироксин» и «Контроль». По сравнению со стрессированными животными, не получавшими L-тироксин, индекс протеолиза в печени был таким же, а в крови меньшим — в 1,23 раза.

Через 48 ч после стресса уровень йодсодержащих тиреоидных гормонов в крови и индекс протеолиза не отличался от его величины в группах «Тироксин», «Контроль», «Стресс» ($p > 0,05$).

Стадия истощения у животных, получавших L-тироксин, сопровождалась менее существенным, чем после стресса у крыс, не получавших его, снижением сывороточного содержания йодтиронинов: T_3 — на 8% ($p < 0,01$), T_4 — на 5% ($p < 0,01$), T_3 св — на 12% ($p < 0,01$), T_4 св — на 9% ($p < 0,01$) меньше. По отношению к группе «Тироксин» индекс протеолиза в печени возрастал лишь в 1,58 раза, в крови — в 1,74 раза. По сравнению с его величиной в контроле в печени он превышал контроль в 1,53 раза, в крови — в 1,60 раза. По отношению к его значению после стресса у крыс, не получавших L-тироксин, индекс протеолиза был ниже и в печени, и в крови — в 1,47 и 1,37 раза.

Заключение. Стадия тревоги стресс-реакции характеризуется активацией тиреоидной функции и повышением напряженности протеолитических процессов в крови. Стадия устойчивости — восстановлением тиреоидного гомеостаза и интенсивности протеолиза. Стадия истощения сопровождается угнетением тиреоидной функции и значительной активацией протеолитических процессов и в печени и в крови.

Введение мерказолила, само по себе вызывающее уменьшение сывороточного уровня йодсодержащих тиреоидных гормонов, на стадии тревоги определяет падение концентрации йодтиронинов в крови и интенсификацию протеолиза в печени и крови; на стадии устойчивости препятствует нормализации и тиреоидного гомеостаза и интенсивности протеолических процессов в печени и крови; на стадии истощения провоцирует наиболее глубокое угнетение тиреоидной функции и активацию протеолиза в печени и крови.

Введение L-тироксина, само по себе не влияющее на сывороточную концентрацию йодсодержащих гормонов щитовидной железы, на стадии тревоги и истощения ограничивает изменение уровня йодтиронинов и интенсификацию протеолитических процессов в печени и крови, а на стадии устойчивости обеспечивает нормализацию и тиреоидной функции и активности протеолиза.

Литература

1. Исаева, Е.Р. Психологические механизмы адаптации к стрессу у больных психосоматическими и невротическими связанными со стрессом расстройствами / Е.Р. Исаева, М.И. Фещенко // Вестн. Юж.-Урал. гос. ун-та. Серия: Психология. — 2010. — Т. 203, № 27. — С. 91–96.
2. Локшина, Л.А. Протеолитические ферменты в регуляции биологических процессов. Химия протеолитических ферментов / Л.А. Локшина. — М.: Наука, 2002. — С. 34–52.
3. Веремеенко, К.Н. Протеолиз в норме и при патологии / К.Н. Веремеенко, О.П. Голобородько, А.И. Кизим. — Киев: Здоров'я, 1998. — С. 54–119.
4. Ефременко, Ю.Р. Состояние системы протеолиза в условиях окислительных воздействий на организм / Ю.Р. Ефременко, К.Н. Конторщикова // Нижегород. мед. журн. — 2003. — № 1. — С. 22–28.
5. Аспаргильные протеиназы: их роль при опухолевом росте и влияние противоопухолевой терапии / О.В. Фаламева [и др.] // Бюл. СОРАМН. — 2001. — № 1. — С. 37–40.
6. A crucial role for MMP-2 in osteocytic canalicular formation and bone metabolism K / K. Inoue [et al.] // J. Biol. Chem. — 2006. — Vol. 281, № 44. — P. 33814–824.
7. Юзько, Ю.В. Прогностическая роль матриксных металлопротеаз, тканевого ингибитора ТИМП-1 и хитотриозидазы в развитии фиброза и цирроза печени / Ю.В. Юзько, Н.Б. Волошина, Т.А. Короленко // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2006. — Т. 143, № 3. — С. 280–283.
8. Городецкая, И.В. Влияние йодсодержащих тиреоидных гормонов на вызванные стрессом изменения двигательной активности и устойчивости животных к физической нагрузке / И.В. Городецкая Е.А. Гусакова // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. — 2013. — № 4. — С. 32–37.
9. Городецкая, И.В. Влияние йодсодержащих тиреоидных гормонов на гистоструктуру печени крыс при стрессе / И.В. Городецкая, Е.А. Гусакова // Цитология. — 2014. — Т. 56, № 3. — С. 225–233.
10. Городецкая, И.В. Влияние йодсодержащих тиреоидных гормонов на интенсивность перекисного окисления липидов в печени и крови крыс при стрессе / И.В. Городецкая, Е.А. Гусакова // Вестн. ВГМУ. — 2014. — Т. 13, № 3. — С. 35–42.
11. Болезни эндокринной системы в Беларуси — статистические и демографические сопоставления / С.С. Корытько [и др.] // Мед. новости. — 2013. — № 3. — С. 42–48.
12. Бондаренко, С.Н. Влияние различных методик стрессирования и адаптации на поведенческие и соматические показатели у крыс / С.Н. Бондаренко, Н.А. Бондаренко, Е.Б. Манухина // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1999. — Т. 128, № 8. — С. 157–160.
13. Карягина, И.Ю. Использование метода комплексного определения активности трипсиноподобных протеиназ, α_1 -антитрипсина и α_2 -макроглобулина в гастроэнтерологической клинике / И.Ю. Карягина, Р.А. Зарембский, М.Д. Балябина // Лаб. дело. — 1990. — № 2. — С. 10–13.
14. Дедуль, М.И. Система протеолиза в сыровотке крови и перитонеальной жидкости при хирургическом лечении больных эндометриозом / М.И. Дедуль, Л.Е. Радецкая, Л.Н. Кирпиченко // Новости хирургии. — 2006. — Т. 14, № 3. — С. 74–80.

THE THYROID STATUS INFLUENCE ON THE TENSITY OF PROTEOLYTIC PROCESSES IN THE LIVER AND BLOOD OF RATS UNDER STRESS

Gusakova E.A., Gorodetskaya I.V.

Educational Establishment "Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University", Vitebsk, Republic of Belarus

A new aspect of participation of the iodine-containing thyroid hormones in the anti-stress system of the organism is associated with their limiting effects on the activation of one of the basic mechanisms of pathogenesis of stress damage – proteolytic processes in the liver and blood of rats under stress, the intensity of which was assessed by the Index of proteolysis, which is a ratio of trypsin-like activity to the total inhibitory capacity (sum of activity of α_1 -antitrypsin and α_2 -macroglobulin).

Keywords: iodine-containing thyroid hormones, proteolysis, stress.

Поступила 23.05.2016