

## ОБ УЧАСТИИ $\alpha_1$ -АНТИТРИПСИНА КРОВИ В МЕХАНИЗМАХ ПОДДЕРЖАНИЯ ТЕМПЕРАТУРНОГО ГОМЕОСТАЗА И ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА ОРГАНИЗМА НА ДЕЙСТВИЕ ВЫСОКОЙ ВНЕШНЕЙ ТЕМПЕРАТУРЫ

Висмонт Ф.И., Жадан С.А., Шуст Л.Г., Писарик Д.М., Ткаченко Н.В.,  
Яковлев Ф.Д., Абакумова Т.В.

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

**Ключевые слова:**  $\alpha_1$ -антитрипсин, температурный гомеостаз, тиреоидный статус, перегревание.

**Резюме:** снижение активности  $\alpha_1$ -антитрипсина крови является важным фактором в механизмах поддержания температурного гомеостаза, тиреоидного статуса и формирования терморегуляторных реакций организма на действие высокой внешней температуры у крыс.

**Resume:** a decrease in the activity of blood  $\alpha_1$ -antitrypsin is an important factor in the mechanisms of maintaining temperature homeostasis, thyroid status and the formation of body thermoregulatory reactions to the high external temperature action in rats.

**Актуальность.** 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], имеющих особое значение в терморегуляции [8]. Рядом исследователей выявлена тесная взаимосвязь между функциональной активностью терморегуляторных структур мозга и уровнем в крови «белков острой фазы» [3], во многом синтезируемых гепатоцитами [10]. Получены доказательства роли детоксикационной функции печени и ингибиторов протеиназ в механизмах формирования терморегуляторных реакций организма на действие бактериальных эндотоксинов [1, 2, 3]. 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:** 1. Исследовать процессы теплообмена, детоксикации и активность системы гипофиз-щитовидная железа у крыс при перегревании; 2. Установить характер изменений трипсиноподобной протеолитической активности, активности  $\alpha_1$ -антитрипсина и  $\alpha_2$ -макроглобулина в плазме крови крыс при перегревании; 3. Изучить влияние внутривенного введения  $\alpha_1$ -антитрипсина на уровень три- и

тетрайодтиронины в крови и температуру тела у крыс; 4. Изучить влияние  $\alpha_1$ -антитрипсина, предварительно введенного в кровоток, на температуру тела и тиреоидный статус у крыс при перегревании; 5. Выяснить особенности изменения активности  $\alpha_1$ -антитрипсина в плазме крови и температуры тела при перегревании у гипо- и гипертиреоидных крыс.

**Материал и методы.** Опыты выполнены на 164 ненаркотизированных белых крысах обоего пола массой 160–200 г. Рацион крыс состоял из комбикорма КК-92/ПХЧ-5, количество которого определялось Нормами кормления лабораторных животных. Питательный режим соответствовал принципу *ad libitum*.

В связи с тем, что в литературе имеются данные о том, что у животных в течение суток происходят значительные колебания уровня ряда гормонов и биогенных аминов в крови, которые сопровождаются изменениями в энергетическом и пластическом обмене, опыты проводили в строго определенное время (8 – 12 часов утра).

Перегревание животных осуществляли в суховоздушной термокамере (40–12°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)  $\text{CCl}_4$  (из расчета 4.0 мл/кг веса). Ректальную температуру у животных измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1. Определение активности  $\alpha_1$ -антитрипсина ( $\alpha_1$ -АТ) и  $\alpha_2$ -макроглобулина ( $\alpha_2$ -МГ), а также трипсинподобной протеолитической активности в плазме крови, проводили по методу И.Ю. Корягиной и соавт. [5]. 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 [4]. 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. Мойным и соавт. [6]. СТК оценивали способом, предложенным О.А. Радьковой и соавт. [7]. 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.

Ректальную температуру измеряли электротермометром ТПЭМ-1. Взятие для исследований крови и ткани печени у животных проводилось за возможно минимальное время после декапитации.

Все эксперименты выполнены в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными, а также требованиями Директивы Европейского этического комитета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 г. и «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и иных научных целях» от 18.03.1986 г. и ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь №56 от 28.03.2008 г.

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  $\alpha_1$ -антитрипсина, но не  $\alpha_2$ -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  $\alpha_1$ -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  $\alpha_1$ -АТ в плазме крови у крыс ( $n=8$ ) в контроле составляли соответственно  $24.0\pm 0.35$  г/л,  $416.7\pm 66.2$  нмоль/с л и  $21.7\pm 1.5$  мкмоль/с л. Перегревание животных в течение 30 мин не сопровождалось достоверными изменениями активности  $\alpha_1$ -АТ и ТПА, а также уровня альбумина в плазме крови. В условиях перегревания (60 мин) в плазме крови у крыс ( $n=7$ ) возросло 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  $30\pm 2.5$  мин.

Установлено, что в условиях гипертермии у животных снижается содержание трийодтиронина ( $T_3$ ) 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  $T_3$  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  $1.6\pm 0.18$  мМЕ/л,  $1.4\pm 0.15$  нМоль/л и  $53.2\pm 3.41$  нМоль/л соответственно.

Выявлено, что в условиях поражения печени  $CCl_4$  у крыс снижается активность  $\alpha_1$ -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  $0.9 \pm 0.12$ ,  $1.2 \pm 0.13$  и  $1.8 \pm 0.14$  °C ( $p < 0.05$ ). Развитие гипотермии у животных, через 24 часа после затравки животных  $CCl_4$ , сопровождалось снижением в плазме крови активности  $\alpha_1$ -АТ на 30.8% ( $p < 0.05$ ,  $n=7$ ). Активность  $\alpha_2$ -макроглобулина в крови в этих условиях достоверно не изменялась. Интрагастральное введение животным раствора  $CCl_4$  приводило к повышению в плазме крови уровня СМ и СТК. 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  $\alpha_1$ -АТ вызывает у животных повышение температуры тела и активности системы гипофиз-щитовидная железа. Так,  $\alpha_1$ -АТ, при внутривенном введении в дозе 20 мг/кг, повышал температуру тела у крыс на 0.9 °C ( $p < 0.001$ ,  $n=8$ ) и 0.7 °C ( $p < 0.001$ ,  $n=8$ ) 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  $T_3$  в крови возрастала на 21.8% ( $p < 0.05$ ), а содержание  $T_4$  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 перегревание 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  $\text{CCl}_4$  приводит к снижению тепловой устойчивости животных к перегреванию. Опыты показали, что время достижения ректальной температуры у крыс  $42^\circ\text{C}$  под влиянием высокой внешней температуры ( $40\text{--}42^\circ\text{C}$ ) и время наступления гибели животных, затравленных  $\text{CCl}_4$ , значительно меньше, чем в контрольной группе (интрагастральное введение подсолнечного масла). Время жизни животных в опыте ( $n=9$ ) и контроле ( $n=7$ ) составляло соответственно  $65\pm 8.1$  и  $97\pm 8.4$  мин. Установлено, что перегревание (30 мин) в условиях предварительной (за 24 часа) затравки животных  $\text{CCl}_4$  не только усугубляет эндотоксинемию и приводит к более выраженной гипертермии, но и сопровождается менее значительным снижением концентрации  $T_3$  в плазме крови.

**Выводы:** 1. 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; 2. 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.

#### Литература

1. Висмонт, Ф. И. О роли детоксикационной функции печени и  $\alpha_1$ -антитрипсина в механизмах развития пирогеналовой лихорадки / Ф. И. Висмонт, О. Г. Шуст // Доклады НАН Беларуси. – 2000. – Т. 44, № 3. – С. 73–74.
2. Висмонт, Ф. И. Эндотоксинемия, дизрегуляция и формирование предболезни / Ф. И. Висмонт // Весці НАН Беларусі. Серыя мед. навук. – 2018. – Т. 15, №1. – С. 7–16.
3. Гурин, В. Н. Терморегуляция и биологически активные вещества крови / В. Н. Гурин, А. В. Гурин: АН Беларуси, Ин-т физиологии. – Минск: Бизнесофсет, 2004. – 104 с.
4. Колб, В. Г. Справочник по клинической химии. – 2-е изд., перераб. и доп. / В. Г. Колб, В. С. Камышников / Минск: Беларусь, 1982. – 366 с.
5. Корягина, И.Ю. Использование метода комплексного определения активности трипсиноподобных протеиназ,  $\alpha_1$ -антитрипсина и  $\alpha_2$ -макроглобулина в гастроэнтерологической клинике / И. Ю. Корягина, Р. А. Зарембский, М. Д. Балябина / Лаб. дело. – 1990. – №2. – С. 72–73.
6. Способ определения веществ группы средних молекул в биологических жидкостях: а.с. 1520445 СССР, VRB F 01 № 33/50. / В.М. Моин [и др.] – №4323421/28-14; заявлено 02.11.87; опубл. 07.11.89 // Открытия. Изобретения. – 1989. – № 41. – С. 415.
7. Способ определения токсичности биологических жидкостей: а.с. 1146570 СССР, МКИ б ОI № 1/28. / О.А. Радькова [и др.] – № 3458007/28-13; заявлено 18.06.84; опубл. 23.03.85 // Открытия. Изобретения. – 1985. – №41. – С. 415.
8. Clark, W. G. Brain and pituitary peptides in thermoregulation / W. G. Clark, J. M. Lipton // Pharmacol. Ther. – 1983. – Vol. 22, № 1. – P. 249-297.
9. Kelly, G. S. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review / G. S. Kelly // Altern. Med. Rev. – 2000. – № 4. – P. 306–333.

10. Moshage, H. Cytokines and the hepatic acute phase response / H. Moshage // J. Pathol. – 1997. – Vol. 181, №3. – P. 257–266.