

## **О роли клеток Купфера и гепатоцитов в механизмах реализации влияния трийодтиронина на процессы детоксикации и регуляции температуры тела**

*Белорусский государственный медицинский университет*

В опытах на крысах установлено, что температура тела, процессы детоксикации и тиреоидный статус организма зависят от функционального состояния гепатоцитов и клеток Купфера. В условиях поражения печени СС14 угнетаются процессы детоксикации, снижается уровень ТТГ, три- и тетраiodтиронина в плазме крови и температура тела. Депрессия клеток Купфера GdCl<sub>3</sub> сопровождается активацией процессов детоксикации, системы гипофиз-щитовидная железа и повышением температуры тела. Изменения теплообмена у крыс в условиях как токсического поражения печени СС14, так и депрессии клеток Купфера GdCl<sub>3</sub>, в значительной степени обусловлены сдвигами содержания трийодтиронина в крови. Депрессия клеток Купфера один из факторов формирования гипертиреоидного состояния организма и активации детоксикационной функции печени.

**Ключевые слова:** клетки Купфера, гепатоциты, трийодтиронин, детоксикация, терморегуляция.

F.I. Vismont, S.A. Artushkevich

Role of Kupfer cells and hepatocytes in mechanisms of realization triiodothyronin's influence on detoxication processes and regulation of body temperature

In experiments on rats it was determined, that body temperature, detoxication processes and thyroid hormones level depends on hepatocytes and Kupfer cells functional state. Hepatic damage by CCl<sub>4</sub> causes depression of detoxication processes, decrease of TSH, triiodothyronine, thyroxine level in blood plasma and decrease of body temperature. Depression of Kupfer cells by GdCl<sub>3</sub> result in activation of detoxication processes, activation of hypophysis-thyroid gland system and increase of body temperature. Alterations of thermoregulation in rats during toxic hepatic damage by CCl<sub>4</sub> and depression of Kupfer cells by GdCl<sub>3</sub> to a considerable extent are caused by changes in triiodothyronine blood level. Depression of Kupfer cells is the one of factors forming hyperthyroid state and activation of liver detoxication processes.

Key words: Kupfer cells, hepatocytes, triiodothyronine, detoxication, thermoregulation.

Общеизвестно, что ведущим звеном в патогенезе нарушений жизнедеятельности является интоксикация, выраженность которой во многом определяется активностью детоксикационной функции печени. Показано, что от функционального состояния печени зависит активность процессов дейодирования йодсодержащих гормонов щитовидной железы [9] участвующих в регуляции температуры тела [8]. Однако участие печени в механизмах влияния йодсодержащих гормонов щитовидной железы на процессы детоксикации не было предметом специального исследования. Целью настоящей работы явилось выяснение значимости гепатоцитов и клеток Купфера (КК) в реализации влияния трийодтиронина на процессы детоксикации и регуляции температуры тела.

Материалы и методы

Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах самцах массой 160-220 г. Острое токсическое поражение печени вызывали интрагастральным введением животным раствора четырёххлористого углерода ( $CCl_4$ ), приготовленного на растительном масле в соотношении 1:1, из расчёта 5,0 мл/кг веса. Селективную депрессию КК вызвали у крыс введением в кровоток раствора гадолиния хлорида ( $GdCl_3$ , "Sigma") в дозе 10 мг/кг. Считается, что  $GdCl_3$  избирательно блокирует КК [6,7]. Экспериментальный гипотиреоз у животных воспроизводили с помощью тиреостатика мерказолила (НПО «Укрмедпрепараты»). Мерказолил в дозе 25 мг/кг на 1% крахмальном растворе вводили ежедневно интрагастрально в течении 20 дней. Для создания модели гипертиреоза использовался препарат трийодтиронина гидрохлорид («Berlin Chemie», Германия), который на 1% крахмальном растворе вводили животным ежедневно интрагастрально в течении 20 дней в дозе 30 мг/кг. Температуру тела (температуру в прямой кишке на глубине 3,0 см.) измеряли термометром ТПЭМ-1. Потребление животными кислорода определяли способом, описанным О.Н. Елизаровой [3]. Взятие для исследований крови и ткани печени производилось сразу же после декапитации. Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и цитохром-с-оксидазы (ЦО) митохондрий печени оценивали по методу предложенному Ф.Е. Путилиной, Н.Д. Ещенко [5] и В.И. Малюк [4] соответственно.

О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), содержанию в плазме крови «средних молекул» (СМ) и степени ее токсичности (СТК). О ПНС (гексенал, 100 мг/кг, внутривенно) судили по времени нахождения животных в положении на боку. Определение в крови СМ производили методом кислотного этанольного осаждения [2], а СТК способом, разработанным О.А. Радьковой и соавт. [1]. О тяжести поражения печени судили по активности в плазме крови аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ). Уровень в плазме крови тиреотропного гормона (ТТГ), трийодтиронина (Т3) и тетраiodтиронина (Т4) определяли радиоимунным методом с помощью тест-наборов производства Института биорганической химии НАН Беларуси.

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

#### Результаты и обсуждение

В опытах на крысах установлено, что через 20 дней после введения Т3 у животных активируются процессы детоксикации и повышается температура тела (на  $0,70^{\circ}C$ ,  $p < 0,05$ ,  $n=8$ ). ПНС у крыс в этих условиях уменьшалась на 27,2% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) и составила  $20,9 \pm 2,3$  мин. Содержание в плазме крови СМ снижалось на 23,5% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ), а СТК уменьшалась на 19,2% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ). Активность СДГ и ЦО возрастала на 30,4% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ), и 22,5% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) соответственно. Активность СДГ и ЦО митохондрий печени у крыс контрольной группы ( $n=7$ ), которым в течении указанного срока вводили интрагастрально 1% раствор крахмала, составляла  $21,3 \pm 0,28$  мкмоль/мг/мин и  $407 \pm 17,5$  нмоль/мг/мин. Количество потребляемого животными кислорода увеличивалось на 27,9% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ), а именно с  $36,5 \pm 2,81$  до  $46,7 \pm 4,13$  мл/кг/мин. При этом концентрация в плазме крови Т3 возрастала с  $1,2 \pm 0,1$  до  $1,9 \pm 0,2$  нмоль/л (на 58,3%  $p < 0,05$ ,  $n=8$ ), а Т4 снижалась с  $44,7 \pm 3,1$  до  $17,2 \pm 2,0$  нмоль/л (на 61,5%,  $p < 0,05$ ,  $n=8$ ).

В условиях гипотиреоза имело место угнетение процессов детоксикации, энергетического обмена и снижение температуры тела. Так до начала введения

мерказолила ректальная температура у крыс опытной группы составляла  $37,3 \pm 0,100^{\circ}\text{C}$  ( $n=10$ ), а через 20 дней его применения снижалась на  $0,90^{\circ}\text{C}$  ( $p<0,05$ ). Концентрация Т3 и Т4 в плазме крови у гипотиреоидных крыс, по сравнению с контрольной группой, снижалась в 2,5 раза ( $p<0,05$ ) и 3,2 раза ( $p<0,05$ ), и составила соответственно  $0,54 \pm 0,07$  нМоль/л ( $n=7$ ) и  $16,4 \pm 1,05$  нМоль/л ( $n=7$ ). ПНС у крыс в этих условиях увеличивалась на 28,2% ( $p<0,05$ ,  $n=7$ ) и составляла  $31,6 \pm 2,85$  мин., содержание в плазме крови СМ возрастало на 17,4% ( $p<0,05$ ), а СТК - на 14,1% ( $p<0,05$ ,  $n=6$ ). Количество потребляемого кислорода снижалось на 25,2% ( $p<0,05$ ,  $n=7$ ). Активность СДГ и ЦО митохондрий печени у животных снижалась на 26,8% ( $p<0,05$ ,  $n=7$ ) и 19,5 ( $p<0,05$ ,  $n=7$ ).

Выявлено, что в условиях поражения печени СС14 у крыс угнетаются процессы детоксикации, снижается температура тела, концентрация Т3, Т4 и ТТГ в плазме крови. Так через 12 и 24 ч. после введения СС14 ректальная температура у крыс снижалась, соответственно, на  $1,2 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$  ( $p<0,05$ ,  $n=12$ ) и на  $1,7 \pm 0,13^{\circ}\text{C}$  ( $p<0,05$ ,  $n=10$ ). Действие СС14 приводило к повышению в плазме крови уровня СМ и СТК. Концентрация СМ через 12 и 24 ч. от момента затравки животных СС14 повышалась на 28,2% ( $p<0,05$ ,  $n=7$ ) и 39,1% ( $p<0,05$ ,  $n=7$ ). В этих условиях СТК была выше у опытных крыс по сравнению с таковым в контроле на 48,1% ( $p<0,05$ ,  $n=6$ ) и 70,1% ( $p<0,05$ ,  $n=7$ ) соответственно. ПНС у крыс через 12 и 24 ч. после введения СС14 возрастала, по сравнению с животными, которым вводили интрагастрально подсолнечное масло, на 22,3% ( $p<0,05$ ,  $n=8$ ) и 25,8% ( $p<0,05$ ,  $n=9$ ) соответственно. Длительность наркотического сна у животных ( $n=7$ ) в контрольной группе составила  $22,8 \pm 2,16$  и  $27,0 \pm 1,73$  мин соответственно. Поражение печени СС14 у крыс ( $n=8$ ) сопровождалось угнетением системы гипофиз - щитовидная железа. Так, через 24 ч. после введения животным гепатотропного яда наблюдалось снижение в плазме крови уровней Т3 - на 43,0 % ( $p<0,05$ ), Т4 на 62,7 % ( $p<0,05$ ) и ТТГ - на 28,6% ( $p<0,05$ ) по сравнению с контролем.

В условиях депрессии КК GdCl<sub>3</sub> у крыс, наряду с активацией процессов энергетического обмена и развитием кратковременной гипертермии, уровень СМ в плазме крови и её токсичность в сравнении с контролем, достоверно не изменялись. Однако ПНС через 12 часов после инъекции GdCl<sub>3</sub> сокращалась на 19,0% ( $p<0,05$ ).

Активность АлАТ и АсАТ крови – важнейших показателей тяжести поражения печени, через 12 и 24 часа после введения СС14, возрастала у животных (по сравнению с соответствующим контролем) на 518,5% ( $p<0,05$ ) и 839,4% ( $p<0,05$ ,  $n=6$ ), 136,7% ( $p<0,05$ ,  $n=7$ ) и 204,5% ( $p<0,05$ ,  $n=6$ ), соответственно. Действие GdCl<sub>3</sub> в организме через 12 ч. после инъекции препарата приводило к повышению активности АлАТ и АсАТ в плазме у крыс на 164,9% ( $p<0,05$ ,  $n=6$ ) и 104,0% ( $p<0,05$ ,  $n=6$ ) соответственно. Однако уже через 48 ч. с момента введения ингибитора КК активность ферментов в плазме крови была в пределах значений у животных контрольной группы.

Действие СС14 через 12 и 24 ч. после введения препарата сопровождалось у животных, которым предварительно, за 12 часов до инъекции гепатотропного яда, ввели в кровоток ингибитор КК GdCl<sub>3</sub>, менее значимым понижением температуры тела и не столь значительным повышением СТК и уровня СМ в ней. Выявлено, что действие СС14 в организме у крыс в условиях депрессии КК GdCl<sub>3</sub> сопровождается менее выраженными изменениями уровня АлАТ и АсАТ в плазме. Можно

предположить, что активность КК — важный фактор регуляции гепатотоксичности в модели повреждения печени СС14.

Обнаружено, что действие СС14, в условиях предварительного (за 12 ч.) введения животным GdCl<sub>3</sub>, не только не вызывает понижение, а приводит к значительному повышению уровня ТТГ и Т4, а также усугубляет снижение концентрации Т3 в плазме крови.

Следовательно, полученные данные позволяют заключить, что функциональное состояние КК имеет важное значение в механизмах регуляции метаболизма и функции гепатоцитов и, в частности, процессов дейодирования йодсодержащих гормонов щитовидной железы. Очевидно, что не только от функционального состояния системы гипofиз-щитовидная железа, но и от состояния КК, зависит тиреоидный статус организма.

Опыты показали, что предварительное (за 12 ч. до введения Т3) трёхкратное (через 6 суток) введение в кровоток GdCl<sub>3</sub> (10 мг/кг) предупреждает повышение температуры тела, потребление животными кислорода и активности СДГ и ЦО митохондрий печени, индуцируемое ежедневным в течение 20 дней введением Т3 (30 мкг/кг).

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют заключить, что тиреоидный статус и температурный гомеостазис организма зависят от функционального состояния печени, гепатоцитов и КК, их детоксикационной функции и что депрессия КК является важным фактором формирования гипертиреоидного состояния организма.

#### Выводы

1. Температура тела, процессы детоксикации и тиреоидный статус организма зависят от функционального состояния гепатоцитов и клеток Купфера. В условиях поражения печени СС14 угнетаются процессы детоксикации, снижается уровень ТТГ, Т3 и Т4 в плазме крови и температура тела. Депрессия клеток Купфера GdCl<sub>3</sub>, сопровождается активацией процессов детоксикации, системы гипofиз-щитовидная железа и повышением температуры тела.

2. Изменения теплообмена и температуры тела у крыс в условиях как токсического поражения печени СС14, так и депрессии клеток Купфера GdCl<sub>3</sub>, в значительной степени обусловлены сдвигами содержания трийодтиронина в плазме крови.

3. Депрессия клеток Купфера один из факторов формирования гипертиреоидного состояния организма и активации детоксикационной функции печени.

4. Угнетение Купферовских клеток GdCl<sub>3</sub> ослабляет угнетающее влияние СС14 на процессы энергообеспечения организма, детоксикации и химической терморегуляции.

1. А.с. 1146570 СССР, МКИ б О1 № 1/28. Способ определения токсичности биологических жидкостей / О.А.Радькова, Г.А.Бояринов, И.Н.Балишина, К.В. Крылов. - №3458007/28-13; заявлено 18.06.84; Оpubл. 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; Оpubл. 07.11.89. Бюл. №41 // Открытия. Изобретения. — 1987. - № 41. — С. 415.

3. Елизарова О.Н. Определение пороговых доз промышленных ядов при пероральном введении. - М.: Медгиз. – 1962. -174 с.

4. Малюк В.И. Определение цитохром-с-оксидазы в митохондриях животных тканей // Вопр. мед. химии. – 1965. – Т.2, вып.4. – С.243-246.
5. Путилина Ф.Е., Ещенко Н.Д. Активность некоторых дегидрогеназ цикла Кребса в мозгу, печени и почках // Вестн. Ленинград. ун-та. Сер. Биология. – 1969. – вып.4, №21. – С. 74-78.
6. Цырендоржиев Д.Д., Зубахин А.А., Маянский Д.Н. Гранулематозное воспаление печени при блокаде клеток Купфера хлоридом гадолиния // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 1995. - №10. – С. 366-369.
7. Blockade of Kupffer cells prevents the febrile and preoptic prostaglandin E2 responses to intravenous lipopolysaccharide in guinea pigs / Sehic E., Hunter W.S., Ungar A.L., Blatteis C.M. // Annals N.Y. Acad. Sci., 1997. – Vol. 813. – P. 448-452.
8. Clark W.G., Lipton J.M. Brain and pituitary peptides in thermoregulation // Pharmacol. Ther. – 1983. – Vol. 22. – P. 249-297.
9. Greg Kelly N.D. Peripheral Metabolism of Thyroid Hormones: A Review // Altern. Med. Rev. – 2000. – Aug. 5 (4). – P. 306-333.