

## ОБ УЧАСТИИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ И МОНООКСИДА АЗОТА В ПРОЦЕССАХ ДЕТОКСИКАЦИИ И ФОРМИРОВАНИИ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА У КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭТАНОЛОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Лобанова В.В., Висмонт Ф.И.

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

**Ключевые слова:** аргиназа, монооксид азота, детоксикация, тиреоидный статус, этаноловая интоксикация.

**Резюме:** действие в организме ингибитора NO-синтазы L-NAME ослабляет, а депрессия аргиназы N<sup>ω</sup>-гидрокси-нор-L-аргинином способствует развитию характерных изменений детоксикационной функции печени, уровня трийодтиронина в крови и температуры тела при хронической алкогольной интоксикации. Активность аргиназы печени и уровень монооксида азота имеют значение в патогенезе хронической алкогольной интоксикации.

**Resume:** the action in the body of the NO-synthase inhibitor L-NAME weakens, and the depression of arginase by N<sup>ω</sup>-hydroxy-nor-L-arginine contributes to the development of characteristic changes of liver detoxification function, the level of triiodothyronine in the blood and body temperature in chronic alcohol intoxication. Liver arginase activity and nitrogen monoxide level are important in the pathogenesis of chronic alcohol intoxication.

**Актуальность.** Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста алкогольной патологии, патологии приводящей к сокращению продолжительности жизни и отрицательно сказывающейся на состоянии здоровья.

Как известно, заболеваемость и смертность при регулярном потреблении алкогольных напитков связана с токсическим воздействием этанола на важнейшие органы человека и в первую очередь, печень, а гепатоциты и клетки Купфера играют важную роль в процессах детоксикации [2].

К настоящему времени накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих о значении аргиназы печени и монооксида азота (NO) в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии [1, 3]. Известно, что печень играет значимую роль в процессах детоксикации и метаболизме гормонов щитовидной железы, обеспечивая регуляцию их обмена и поддержание оптимальной концентрации в крови [5]. Однако исследования с целью выяснения значимости аргиназы печени и NO в процессах детоксикации и формировании тиреоидного статуса у крыс при хронической алкоголизации не проводились.

**Цель:** выяснить значимость аргиназы печени и NO в процессах детоксикации и формировании тиреоидного статуса у крыс при хронической этаноловой интоксикации.

**Задачи:** 1. Исследовать влияние хронической алкогольной интоксикации на показатели детоксикационной функции печени, уровень йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови и температуру тела у крыс; 2. Изучить характер изменения активности аргиназы печени и уровня нитрат/нитритов в плазме крови у крыс при хронической этаноловой интоксикации; 3. Выяснить особенности

изменения уровня йодсодержащих гормонов, нитрат/нитритов в плазме крови и процессов детоксикации у крыс с хронической алкогольной интоксикацией как в условиях угнетения аргиназы печени, так и NO-синтазы.

**Материал и методы.** Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах-самцах массой 180 – 220 г.

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).

Модель хронической этаноловой интоксикации воспроизводили на крысах путем ежедневного интрагастрального введения животным 30%-ного раствора этанола (из расчета 3,5 г 92%-ного этанола на кг массы тела животного) в течение 60 дней. Активность аргиназы в печени определяли спектрофотометрически [4]. Продукцию NO оценивали по суммарному уровню в плазме крови нитрат/нитритов ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ) [6]. О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), степени токсичности крови (СТК) и содержанию в плазме крови «средних молекул» (СМ). ПНС (гексенал 100 мг/кг, внутривентриально) оценивали по времени нахождения животных в положении на боку (Парк Д.В., 1973). Определение содержания в крови СМ проводили методом кислотно-этанольного осаждения, разработанным В.М. Моиним с соавт. (1987), СТК способом, предложенным О.А. Радьковой с соавт. (1985). О тяжести повреждения печени судили по активности в плазме крови аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ). Определение активности АлАТ и АсАТ в плазме крови проводили колориметрически динитрофенилгидразиновым методом.

Экспериментальный гипотиреоз воспроизводили с помощью тиреостатика мерказолила (НПО «Укрмедпрепараты», Украина), который в дозе 25,0 мг/кг на 1% крахмальном растворе вводили крысам интрагастрально ежедневно в течение 20 дней. Для создания модели гипертиреоза использовали синтетический препарат трийодтиронина гидрохлорид (Liothyronin, «Berlin Chemie», Германия), который на 1% крахмальном растворе вводили животным интрагастрально ежедневно в течение 20 дней в дозе 30,0 мкг/кг.

С целью выяснения значимости аргиназы печени и монооксида азота (NO) в процессах детоксикации, формировании тиреоидного статуса и регуляции температуры тела использовали ингибитор аргиназы N<sup>ω</sup>-гидрокси-нор-L-аргинин (nor-NOHA) фирмы BACHEM (Германия) и неселективный ингибитор NO-синтазы – метиловый эфир N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина (L-NAME) фирмы ACROS ORGANICS (США). Nor-NOHA в дозе 10,0 мг/кг вводили крысам внутривентриально ежедневно в течение недели. L-NAME (25,0 мг/кг) вводили однократно: кроликам – внутривенно, крысам – внутривентриально. Ректальную температуру измеряли электротермометром ТПЭМ-1.

Взятие для исследований крови и ткани печени у животных проводилось за возможно минимальное время после декапитации. Декапитацию производили через один час после последнего введения этанола (опыт) или физ. раствора (контроль).

Все эксперименты выполнены в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными.

Полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной биологической статистики с помощью критерия Стьюдента. Все данные представлялись в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического ( $X \pm S_x$ ). Достоверность результатов учитывали при «р» менее 0,05.

**Результаты и их обсуждение.** В опытах на крысах установлено, что ежедневное интрагастральное введение животным 30% водного раствора этанола (из расчета 3,5 г 92%-ного этанола на кг массы тела животного) в течение 60 дней приводит к выраженным изменениям температуры тела, детоксикации, активности аргиназы печени, уровня три- ( $T_3$ ) и тетраидтирониона ( $T_4$ ),  $NO_3^-/NO_2^-$  и активности трансаминаз в плазме крови.

Опыты показали, что длительное интрагастральное введение этанола приводит к угнетению детоксикационной функции печени, что проявлялось повышением СТК на 57,8% ( $p < 0,05$ ,  $n=10$ ), уровня СМ в плазме крови на 38,5% ( $p < 0,05$ ,  $n=10$ ) и увеличением ПНС на 24,5% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ). Содержание СМ в плазме крови, СТК и ПНС в контроле (ежедневное интрагастральное введение физ. раствора в течение двух месяцев,  $n=10$ ) составили соответственно  $0,69 \pm 0,012$  г/л,  $1,3 \pm 0,11$  ед. и  $27,8 \pm 3,22$  мин. Активность аргиназы печени в этих условиях снижалась на 54,7% ( $p < 0,05$ ,  $n=8$ ) и составляла  $2,5 \pm 0,27$  мкмоль мочевины/г сырой ткани·час. Активность АЛАТ и АсАТ, важнейших показателей тяжести поражения печени, в крови у алкоголизованных животных, по сравнению с соответствующим контролем, повышалась на 488,5% ( $p < 0,05$ ,  $n=8$ ) и 196,3% ( $p < 0,05$ ,  $n=8$ ) и составляла  $2,71 \pm 0,13$  и  $1,77 \pm 0,16$  мккат/л соответственно. Интрагастральное введение этанола через 60 дней алкоголизации, приводило у крыс ( $n=8$ ) к повышению в плазме крови уровня  $NO_3^-/NO_2^-$  (конечных продуктов деградации NO) на 79,1% ( $p < 0,01$ ) и который составлял  $11,02 \pm 1,34$  мкмоль/л. Ректальная температура снижалась (через 60 дней от начала эксперимента) на  $1,1 \pm 0,14^\circ C$  ( $p < 0,05$ ,  $n=20$ ).

Установлено, что хроническая алкоголизация у крыс сопровождается изменениями уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в плазме крови. Так в результате длительного (60 дней) ежедневного интрагастрального введения 30% раствора этанола у животных отмечалось снижение в плазме крови уровня  $T_3$  на 62,6% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ), в то время как концентрация  $T_4$  достоверно не изменялась по сравнению с контролем (ежедневное интрагастральное введение физ. раствора в течение 60 дней). Содержание  $T_3$  и  $T_4$  в плазме крови животных контрольной группы ( $n=7$ ) составило  $3,7 \pm 0,7$  нМоль/л и  $73,1 \pm 11,44$  нМоль/л соответственно.

Установлено, что ежедневное внутрибрюшинное введение в течение 2-х недель крысам ингибитора аргиназы  $N^\omega$ -гидрокси-нор-L-аргинина (nor-NOHA) фирмы VASHEM (Германия) в дозе 10 мг/кг статистически значимо не сказывалось на температуре тела и приводило к снижению активности аргиназы печени на 70,8% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ). Выявлено, что в условиях депрессии аргиназы печени nor-NOHA действие этанола сопровождается более значимым угнетением детоксикационной функции печени, повышением уровня  $NO_3^-/NO_2^-$  в плазме, понижением температуры тела. Температура тела у крыс, подвергшихся хронической этаноловой

интоксикации снижалась на  $1,2 \pm 0,16$  ( $p < 0,01$ ,  $n = 12$ ), а в условиях действия *po*-NOHA на  $1,6 \pm 0,13^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ,  $n = 8$ ). Содержание  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в плазме крови у крыс с хронической алкогольной интоксикацией ( $n = 8$ ) получавших *po*-NOHA, по сравнению с уровнем в контрольной группе животных (алкоголизация и внутрибрюшинное введение физ. раствора,  $n = 8$ ) было выше на 47,1% ( $p < 0,05$ ).

Установлено, что действие этанола у крыс, в условиях предварительной (за 30 мин до итрагастрального введения животным этанола в течение 60 дней) инъекции в организм животным L-NAME, по сравнению с контрольной группой животных, ведет к менее выраженному угнетению процессов детоксикации. ПНС, уровень СМ в плазме крови и СТК у опытных крыс, подвергшихся хронической алкоголизации, по сравнению с животными контрольной группы (внутрибрюшинное введение физ. раствора и хроническая алкоголизация,  $n = 8$ ) были ниже на 27,1% ( $n = 9$ ,  $p < 0,05$ ), 48,3% ( $n = 8$ ,  $p < 0,05$ ) и 24,2% ( $n = 8$ ,  $p < 0,05$ ) соответственно. Активность АЛАТ и АсАТ плазмы крови у крыс, подвергшихся хронической алкоголизации в условиях действия в организме животных блокатора NO-синтазы по сравнению с животными контрольной группы были ниже соответственно на 37,5% ( $p < 0,05$ ,  $n = 7$ ) и 48,8% ( $p < 0,05$ ,  $n = 7$ ), а содержание  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  – на 39,1% ( $p < 0,05$ ,  $n = 7$ ).

Выявлено, что у гипотиреоидных крыс имеет место снижение активности аргиназы печени, температуры тела и процессов детоксикации. Так, до начала введения мерказолила ректальная температура у крыс опытной группы составляла  $37,3 \pm 0,10^\circ\text{C}$  ( $n = 12$ ), а через 60 дней его применения снижалась на  $0,9^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ). ПНС у гипотиреоидных крыс ( $n = 8$ ) увеличивалась на 29,4% ( $p < 0,05$ ), а содержание СМ возрастало на 18,8% ( $p < 0,05$ ). СТК в этих условиях увеличивалась на 17,1% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. У гипотиреоидных крыс снижалась активность аргиназы печени на 25,6% ( $p < 0,05$ ,  $n = 7$ ).

У гипертиреоидных крыс ( $n = 7$ ) имело место повышение активности аргиназы, детоксикационной функции печени и температуры тела. Так, ПНС сокращалась на 26,5% ( $p < 0,05$ ) по отношению к контролю и составляла  $21,4 \pm 2,65$  мин, содержание в плазме крови СМ снижалось на 21,6% ( $p < 0,05$ ), а СТК уменьшалась на 19,8% ( $p < 0,05$ ). У крыс с экспериментальным гипертиреозом температура тела повышалась на  $0,7^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ), а активность аргиназы печени на 41,0% ( $p < 0,05$ ).

**Выводы:** хроническая этаноловая интоксикация у крыс сопровождается снижением температуры тела, уровня трийодтиронина в плазме крови, активности аргиназы печени, увеличением ПНС и повышением уровня  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ , СМ, СТК, а также активности АЛАТ и АсАТ в плазме крови. Действие в организме ингибитора NO-синтазы L-NAME ослабляет, а депрессия аргиназы *po*-NOHA способствует развитию характерных изменений детоксикационной функции печени, уровня трийодтиронина в крови и температуры тела при хронической алкогольной интоксикации. Следовательно, на основании результатов исследований можно заключить, что активность аргиназы печени определяет выраженность процессов детоксикации и формирование тиреоидного статуса при хронической алкогольной интоксикации. Кроме того, данные исследований дают основания полагать, что продукция NO в условиях алкоголизации имеет значение в патогенезе хронической алкогольной интоксикации.

### Литература

1. Висмонт, А.Ф. Роль аргиназы печени в процессах детоксикации и ее участие в механизмах регуляции температуры тела при бактериальной эндотоксинемии / А.Ф. Висмонт, Л.М. Лобанок // Доклады НАН Беларуси. – 2011. – Т. 55, №2. – С. 83-87.
2. Маянский, Д.Н. Клетки Купфера и патология печени: Обзор // Патофизиология, 1985. – № 4. – С.80-86.
3. Тэйлор, Б.С. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции/ Б.С. Тэйлор, Л.Х. Аларсон, Т.Р. Биллиар // Биохимия. – 1998. – Т. 63, №7. – С. 905-923.
4. Geyer, J.W. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates / J. W. Geyer, D. Dabich // Anal. Biochem. – 1971. – Vol. 39, № 2. – P. 412-417.
5. Greg Kelly, N. D. Peripheral Metabolism of Thyroid Hormones: A Review/ N. D. Greg Kelly // Altern. Med. Rev. – 2000. Aug. 5 (4). – P. 306- 333.
6. Moshage, H. Nitrite and nitrate determinations in plasma: A critical evaluation / H. Moshage, B.Kok, J.R. Huizenga, P.L Jansen // Clin. Chem. – 1995. – Vol. 41, №6. – P. 892-896.