

Т.В. Абакумова, Ф.Д. Яковлев, Ф.И. Висмонт
**ОБ УЧАСТИИ ВАЛИНА КРОВИ В МЕХАНИЗМАХ РЕАЛИЗАЦИИ
ВЛИЯНИЯ ТРИЙОДТИРОНИНА НА ПРОЦЕССЫ ДЕТОКСИКАЦИИ
И ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ**

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

T.V. Abakumova, F.D. Yakovlev, F.I. Vismont
**ABOUT THE PARTICIPATION OF BLOOD VALINE IN THE MECHANISMS
OF IMPLEMENTATION OF TRIODOTHYRONINE INFLUENCE
ON THE PROCESSES OF DETOXIFICATION AND THERMOREGULATION**

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

Резюме. В опытах на крысах установлено, что угнетение активности аргиназы печени L-валином препятствует повышению детоксикационной функции печени и температуры тела на действие экзогенного трийодтиронина. По-видимому, уровень валина в плазме крови определяет характер изменений детоксикационной функции печени и температуры тела в условиях действия в организме трийодтиронина.

Ключевые слова: детоксикация, терморегуляция, трийодтиронин, валин.

Resume. In experiments on rats, it was found that inhibition of liver arginase activity by L-valine prevents an increase in the liver detoxification function and body temperature on the effect of exogenous triiodothyronine. Apparently, the level of valine in the blood plasma determines the nature of changes in the liver detoxification function and body temperature under conditions of triiodothyronine action in the body.

Keywords: detoxification, thermoregulation, triiodothyronine, valine.

Актуальность. В последнее время в нашей стране и за рубежом наблюдается повышение интереса к физиологии и биохимии, фармакологии и вопросам клинического применения аминокислот и их производных. Однако, по проблеме влияния аминокислот на температуру тела, на терморегуляцию, имеются лишь единичные разрозненные данные, в частности, о влиянии аминокислоты L-аргинина, субстрата как для аргиназы, так и NO-синтазы, на температуру тела и процессы теплообмена при эндотоксиновой лихорадке [2, 8]. Учитывая известные сведения о значимости аргиназы печени в процессах образования монооксида азота (NO), высокоэффективного регулятора метаболизма и температуры тела [1, 6, 8], в механизмах реализации влияния йодсодержащих тиреоидных гормонов на процессы детоксикации и терморегуляции [1, 5], логично было бы предположить, что валин плазмы крови, являясь эндогенным ингибитором аргиназы [7], может участвовать в реализации биологических эффектов йодсодержащих гормонов на процессы теплообмена и детоксикации. Однако такие исследования до сих пор не проводились.

Цель: выяснить значимость валина плазмы крови в механизмах реализации влияния трийодтиронина на процессы терморегуляции и детоксикации у крыс.

Задачи:

1. Изучить характер изменений процессов детоксикации, температуры тела, активности аргиназы печени и уровня валина в крови у гипо- и гипертиреоидных крыс.

2. Выяснить особенности изменений детоксикационной функции печени и температуры тела у крыс на действие экзогенного трийодтиронина в условиях угнетения активности аргиназы печени L-валином.

Материалы и методы. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах самцах массой 160–220 г. Экспериментальный гипотиреоз воспроизводили с помощью тиреостатика мерказолила (НПО «Укрмедпрепараты», Украина). Мерказолил в дозе 25 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 мкг/кг.

О процессах химической терморегуляции судили по таким показателям, как количество потребляемого животными кислорода, активность дыхательных ферментов митохондрий печени – сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и цитохром-с-оксидазы (ЦО). Потребление животными кислорода определяли камерным способом, описанным О.Н. Елизаровой (1962). Взятие для исследований крови и ткани печени у животных проводили сразу после декапитации. Активность СДГ и ЦО митохондрий печени оценивали по методу, предложенному Ф.Е. Путилиной, Н.Д. Ещенко (1969) и В.И. Малюк (1962) соответственно. Уровень свободных жирных кислот (СЖК) в плазме крови определяли колориметрическим методом (K. Falholf et al., 1973). О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), содержанию фракции «средних молекул» (СМ) в плазме крови и степени ее токсичности (СТК). ПНС (гексенал 100 мг/кг внутривнутрибрюшинно) оценивали по времени нахождения животных в положении на боку. Определение содержания в крови СМ проводили методом кислотнo-этанольного осаждения, разработанным В.М. Моиным с соавт. [3], СТК способом, предложенным О.А. Радьковой с соавт. [4].

При изучении влияния L-валина на показатели терморегуляции и уровень йодсодержащих гормонов в крови, а также с целью выяснения значимости аргиназы печени в изменениях температуры тела вызванных трийодтиронином, использовали ингибитор аргиназы L-валин (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия), который в дозе 100 мг/кг вводили крысам внутривнутрибрюшинно. Концентрацию мочевины в крови определяли фотометрически, а активность аргиназы в печени – спектрофотометрически [9]. Содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс определяли методом обращено-фазной жидкостной хроматографии на аналитической колонке Zorbax Eclipse XDB-C8.

Ректальную температуру у крыс измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1.

Полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной биологической статистики с помощью критерия Стьюдента. Все данные представлены в виде среднего арифметического и его ошибки ($\bar{X} \pm S_x$). Достоверность результатов учитывалась при «р» менее $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В опытах на крысах установлено, что через 20 дней после ежедневного интрагастрального введения экзогенного Т₃ в дозе 30 мкг/кг у гипертиреоидных животных активируются процессы теплопродукции и энергетического обмена. Температура тела у крыс в этих условиях повышалась на 0,7°C (p<0,05, n=12), концентрация СЖК в плазме крови возрастала на 65,7% (p<0,05, n=8) по отношению к контролю (интрагастральное введение 1% крахмального раствора в течение 60 дней) и составляла 681±35,6 мкэкв/л. У гипертиреоидных животных отмечалось возрастание активности дыхательных ферментов митохондрий печени – СДГ и ЦО на 36,1% (p<0,05, n=8) и 25,6% (p<0,05, n=8), соответственно. Активность СДГ и ЦО митохондрий печени у крыс контрольной группы (n=6), которым в течение указанного срока вводили интрагастрально 1% раствор крахмала, составляла 24,1±0,30 мкМоль/мг/час и 465±10,8 нМоль/мг/мин. Количество потребляемого гипертиреоидными животными кислорода увеличивалось на 24,2% (p<0,05, n=8), а именно, с 40,1±2,51 до 49,8±3,87 мл/кг/мин (таблица 1).

Табл. 1. Изменения активности аргиназы печени, уровня мочевины в плазме крови и температуры тела у крыс в условиях гипо- и гипертиреоза ($\bar{X} \pm S_x$)

Группа животных	Аргиназа мкМоль мочевины/г ткани·час	Мочевина мМоль/л	Валин мкМоль/л	Температура тела °С
Контроль (К ₁) (1% крахмальный р/р и/г ежедневно, 60 дней, n=6)	3,9±0,31	4,5±0,51	177,8±5,31	37,2±0,12
Опыт (О ₁) (Т ₃ 30 мкг/кг и/г ежедневно, 60 дней, n=7)	5,5±0,43*	4,7±0,58	121,4±6,12	37,9±0,12*
Опыт (О ₂) (мерказолил 25 мг/кг и/г ежедневно, 60 дней, n=7)	2,9±0,25*	3,9±0,42	217,8±6,05	36,6±0,14*

Примечание: * – изменения достоверны по отношению к (К₁) (p<0,05); n – число животных

Установлено, что повышение температуры тела у гипертиреоидных животных сопровождается повышением, по сравнению с животными контрольной группы, активности аргиназы печени на 41,0% (p<0,05, n=7). В условиях гипертиреоза уровень L-валина в плазме крови снижался на 31,7% (p<0,05, n=7), а мочевины – достоверно не изменялся. Активность аргиназы печени, уровень мочевины и валина в плазме крови у крыс (n=7), которым ежедневно интрагастрально вводили в течение 60 дней 1% раствор крахмального раствора, составляли соответственно 3,9±0,31 мкМоль мочевины/г. сырой ткани·час, 4,5±0,51 мМоль/л и 177,8±5,31 мкМоль/л, соответственно.

Выявлено, что наряду с активацией процессов энергетического обмена, у крыс в условиях гипертиреоза имеет место повышение детоксикационной функции печени. Так, ПНС (гексенал 100 мг/кг внутривенно) в этих условиях сокращалась на 26,5% (p<0,05, n=7) по отношению к контролю (эутиреоидные животные, получавшие в течение 60 дней 1% крахмальный раствор интрагастрально ежедневно) и составляла

21,4±2,65 мин, содержание в плазме крови СМ снижалось на 21,6% ($p<0,05$, $n=7$), а СТК уменьшалась на 19,8% ($p<0,05$, $n=7$) и составляли, соответственно, $0,59\pm 0,014$ г/л и $1,2\pm 0,12$ ед.

Угнетение аргиназы печени L-валином устраняла развитие характерных изменений детоксикационной функции печени и температуры тела на действие экзогенного трийодтиронина. Так, ректальная температура у гипертиреоидных крыс ($n=8$), получавших через день в течение 20 дней, за 30 мин до введения T_3 , внутривнутрибрюшинно L-валин (100 мг/кг) была на $0,7^\circ\text{C}$ ($p<0,05$, $n=8$) ниже значений температуры тела у животных контрольной группы (у гипертиреоидных крыс, которым вместо L-валина вводили физраствор) и составляла $37,2\pm 0,13^\circ\text{C}$.

Для создания экспериментальной модели гипотиреоза применялся тиреостатик мерказолил, который на 1% крахмальном растворе вводили ежедневно зондом в полость желудка крысам в течение 20 дней в дозе 25 мг/кг. Концентрация T_3 и T_4 в плазме крови у гипотиреоидных крыс, по сравнению с контрольной группой (интрагастральное введение 1% крахмального раствора в течение 20 дней), снижалась на 80% ($p<0,05$, $n=8$) и 84,4% ($p<0,05$, $n=8$) и составляла, соответственно, $0,32\pm 0,07$ нМоль/л ($n=8$) и $10,2\pm 2,05$ нМоль/л ($n=8$).

Опыты показали, что у гипотиреоидных крыс имеет место снижение температуры тела, активности процессов энергетического обмена и 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 $0,9^\circ\text{C}$ ($p<0,05$). У животных контрольной группы, получавших интрагастрально 1% раствор крахмала, ректальная температура была равной $37,2\pm 0,12^\circ\text{C}$ ($n=10$). Наряду со снижением температуры тела, в условиях угнетения функциональной активности щитовидной железы мерказолилом, у крыс наблюдалось снижение уровня СЖК в плазме крови, потребления кислорода и активности СДГ и ЦО митохондрий печени. Так, через 60 дней ежедневного введения тиреостатика, уровень СЖК понижался на 14,6% ($p<0,05$, $n=7$) и составлял $351\pm 22,8$ мкэкв/л, количество потребляемого кислорода снижалось с $40,1\pm 2,51$ мл/кг/мин до $29,3\pm 2,11$ мл/кг/мин (на 26,9%, $p<0,05$, $n=7$). Активность СДГ и ЦО митохондрий печени у экспериментальных животных снижалась на 27,8% ($p<0,05$, $n=7$) и 20,9% ($p<0,05$, $n=7$) и составляла соответственно $17,4\pm 0,25$ мкМоль/мг/час и $368\pm 11,3$ нМоль/мг/мин. Понижение температуры тела у животных с экспериментальным гипотиреозом возникало в основном вследствие ослабления теплопродукции (о чем свидетельствовало снижение активности СДГ и ЦО митохондрий печени, уровня СЖК в крови, количества потребляемого животными кислорода).

В условиях гипотиреоза имело место снижение активности детоксикационной функции печени. Так, ПНС у крыс увеличивалась на 29,4% ($p<0,05$, $n=8$) и составляла $36,5\pm 3,85$ мин. Содержание в плазме крови гипотиреоидных крыс СМ возрастало на 18,8% ($p<0,05$, $n=8$) и было равным $0,86\pm 0,009$ г/л, а СТК в этих условиях достигала значений $1,7\pm 0,16$, т.е. увеличивалась на 17,1% ($p<0,05$, $n=8$) по сравнению с контрольной группой (интрагастральное введение 1% крахмального раствора в течение 60 дней).

У гипотиреоидных крыс активность аргиназы печени снижалась на 25,6% ($p < 0,05$, $n=7$), а уровень валина в плазме крови повышался на 22,5% ($p < 0,05$, $n=7$). Уровень мочевины в крови в этих условиях достоверно не изменялся. У крыс ($n=7$) контрольной группы (через 20 дней ежедневного интрагастрального введения 1% раствора крахмала) активность аргиназы печени составляла $3,9 \pm 0,31$ мкМоль мочевины/г. сырой ткани·час, а уровень мочевины и L-валина в плазме крови – $4,5 \pm 0,51$ мМоль/л и $177,8 \pm 5,31$ мкМоль/л.

Следовательно, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что у гипертиреоидных крыс повышается, а у крыс с экспериментальным гипотиреозом – снижается активность аргиназы печени, процессов детоксикации и теплообразования, а угнетение активности аргиназы печени L-валином препятствует повышению детоксикационной функции печени и температуры тела на действие экзогенного трийодтиронина.

Выводы: таким образом, обобщая результаты выполненных исследований есть основание заключить, что уровень валина в плазме крови определяет активность аргиназы печени и характер изменений детоксикационной функции печени и температуры тела в условиях действия в организме трийодтиронина.

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. Висмонт, Ф. И. Формирование «установочного» уровня регуляции температуры тела при эндотоксиновой лихорадке / Ф. И. Висмонт, А. Ф. Висмонт // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 28-37.
3. 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.
4. Способ определения токсичности биологических жидкостей: а.с. 1146570 СССР, МКИ 6 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.
5. Степанова, Н.А. Об участии монооксида азота в механизмах реализации влияния трийодтиронина на процессы терморегуляции у крыс / Н.А.Степанова, А.Ф. Висмонт // Актуальные теоретические и прикладные аспекты патофизиологии : сб. ст. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием / отв. ред. Н.Е. Максимович. Гродно : УО «ГрГМУ», 2010. – С. 408–411.
6. 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.
7. Carvajal, N. Kinetics of inhibition of rat liver and kidney arginase by proline and branched chain amino acids / N. Carvajal, S.D. Cederbaum / Biochim. Biophys. Acta. – 1986. – Vol. 870, № 2. – P.181–184.
8. Gerstberger, R. Nitric Oxide and Body Temperature Control / R. Gerstberger // News Physiol. Sci. – 1999. – Vol. 14, № 2. – P. 30–36.
9. 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.