

О роли монооксида азота в регуляции уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови и температуры тела при эндотоксической лихорадке



Степанова Наталья Александровна, ассистент кафедры патологической физиологии БГМУ



Висмонт Франтишек Иванович, заведующий кафедрой патологической физиологии БГМУ, член-корр. НАН Беларуси, профессор, д. м. н.

В экспериментах на крысах и кроликах установлено, что действие в организме ЛПС приводит к активации системы гипофиз – щитовидная железа, процессов перекисного окисления липидов, детоксикации, а также к подъему температуры тела. Предварительное введение ингибиторов NO-синтазы (L-NNA, L-NAME) ослабляет лихорадочную реакцию на эндотоксин, препятствует активации детоксикационной функции печени и системы гипофиз – щитовидная железа. Выявлено, что гипертиреоз сопровождается активацией процессов детоксикации и повышением температуры тела. Угнетение активности NO-синтазы ослабляет развитие характерных изменений детоксикационной функции печени и процессов теплообмена на действие экзогенного трийодтиронина. Ключевые слова: монооксид азота, йодсодержащие гормоны щитовидной железы, детоксикационная функция печени, эндотоксическая лихорадка.

N. A. Stepanova, F. I. Vismont
Role of nitric oxide in the regulation of the level of iodine-containing thyroid hormones in the blood and body temperature during endotoxin fever
In experiments on rats and rabbits it was established, that action of LPS in the organism led to the activation of the hypophysis – thyroid gland system, lipid peroxidation, detoxication processes and also to the elevation of body temperature. Preliminary injection of NO-synthase inhibitors (L-NNA, L-NAME) diminished febrile response to endotoxin, prevented activation of detoxication function of the liver and hypophysis – thyroid gland system. Hyperthyrosis is accompanied by activation of the detoxication processes and a rise in body temperature. Inhibition of the NO-synthase activity attenuates the development of characteristic changes in the detoxication function of the liver and heat exchange processes under the action of exogenous triiodothyronine.
Key words: nitric oxide, iodine-containing thyroid hormones, detoxication function of the liver, endotoxin fever.

Рядом исследователей показано, что монооксид азота (NO) играет важную роль в механизмах регуляции температуры тела [7, 10]. Известно, что в поддержании и регуляции температурного гомеостаза в норме и при заболеваниях, сопровождающихся эндотоксемией и лихорадкой важное значение имеет система гипофиз – щитовидная железа [8].

В тоже время, значение NO в формировании терморегуляторных реакций организма на действие бактериальных эндотоксинов до сих пор мало изучено и вс

многим не ясно. Полностью отсутствуют данные о значимости NO в формировании тиреоидного статуса при лихорадочных состояниях, вызываемых бактериальными эндотоксинами.

Целью настоящего исследования было выяснение роли NO в регуляции уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови и температуры тела при эндотоксиновой лихорадке.

Материал и методы. Опыты выполнены на ненаркотизированных белых крысах самцах массой 160 – 220 г и кроликах массой 2,5 – 3,5 кг. Для создания экспериментальной модели лихорадки использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) пирогенал (производство бакпрепаратов НИИ им. Н.Ф. Гамалеи, Россия), который вводили однократно кроликам в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг, крысам внутрибрюшинно в дозе 5,0 мкг/кг. Для выяснения роли NO в процессах детоксикации, формировании тиреоидного статуса и регуляции температуры тела использовали ингибиторы NO-синтазы L-NNA (NG-нитро-L-аргинин) и L-NAME (метилловый эфир NG-нитро-L-аргинина), которые вводили внутрибрюшинно однократно в дозе 20 мг/кг и 25 мг/кг соответственно. Экспериментальный гипертиреоз у крыс воспроизводили с помощью синтетического гормона трийодтиронина гидрохлорида (Lyothyronine “Berlin-Chemie” Германия), который на 1% крахмальном растворе вводили зондом в полость желудка в дозе 30 мкг/кг в течение 20 дней. Для создания экспериментальной модели гипотиреоза был использован тиреостатик мерказолил, который на 1% крахмальном растворе вводили интрагастрально в течение 20 дней в дозе 25 мг/кг. Ректальную температуру измеряли у крыс и кроликов с помощью электротермометра ТПЭМ-1. С детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), содержанию фракции “средних молекул” (СМ) в плазме крови и степени её токсичности (СТК). О ПНС (гексенал 100 мг/кг внутрибрюшинно) судили по времени нахождения животных в положении на боку. Определение содержания в крови СМ проводили методом, разработанным В. М. Моиним и др. [3], СТК способом, предложенным О. А. Радьковой и др. [4]. Активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови и печени оценивали по содержанию в них таких продуктов как малоновый диальдегид (МДА), диеновые конъюгаты (ДК), основания Шиффа (ОШ), а состояние системы антиоксидантной защиты по концентрации α -токоферола (α -ТФ) и активности каталазы (КТ). Концентрацию МДА определяли спектрофотометрическим методом М. Mihга, М. Uchiyama [9]. Определение концентрации ДК проводилось спектрофотометрически по методу, предложенному В. А. Костюком и др. [2]. Для определения уровня ОШ использовался спектрофотометрический метод В. L. Fletcher et al. [6]. Содержание α -ТФ в крови и ткани печени определяли флуоресцентным методом [5]. Активность КТ определяли колориметрическим методом [1]. Содержание в плазме крови ТТГ и йодсодержащих гормонов щитовидной железы определяли радиоиммунным методом с помощью тест-наборов производства ИБОХ НАН Беларуси. Все полученные данные обработаны с помощью общепринятых методов вариационной биологической статистики.

Результаты и обсуждение. Показано, что действие в организме ЛПС приводит к повышению температуры тела животных, активности системы гипофиз ? щитовидная железа, активации процессов ПОЛ и детоксикационной функции печени. Ректальная температура у кроликов (n=8) повышалась на 0,6 $^{\circ}$ C, 1,1 $^{\circ}$ C и 1,6 $^{\circ}$ C (p<0,001) через 30, 60 и 120 мин после введения препарата соответственно, по сравнению с животными контрольной группы (внутривенная инъекция апирогенного физ. раствора). Введение

ЛПС крысам приводило к повышению ректальной температуры на 1,3°C и 1,2°C ($p < 0,001$, $n=12$), соответственно, через 120 и 180 мин после инъекции препарата. ПНС у крыс ($n=7$) через 120 и 180 мин после введения ЛПС уменьшалась на 23,0% ($p < 0,05$) и 25,2% ($p < 0,05$). Действие в организме животных эндотоксина через 120 мин после инъекции приводило к повышению в плазме крови уровня СМ на 17% ($p < 0,05$, $n=6$) и достоверно не сказывалось на СТК.

Установлено, что действие ЛПС в организме сопровождается активацией процессов ПОЛ. Так, количество ДК в печени увеличивалось на 25,6% ($p < 0,05$, $n=7$) и 38,2% ($p < 0,05$, $n=7$) через 120 и 180 мин после инъекции эндотоксина, а в плазме крови на 14,5% ($p < 0,05$, $n=7$) на 180 мин пирогеналовой лихорадки. Концентрация МДА в печени в этих условиях возрастала, соответственно, на 18,8% ($p < 0,05$, $n=7$) и 32,2% ($p < 0,05$, $n=7$), в плазме крови на 70,8% ($p < 0,05$, $n=7$) и 91,5% ($p < 0,05$, $n=6$). Уровень ОШ повышался в плазме на 95,1% ($p < 0,05$, $n=6$) и 128,1% ($p < 0,05$, $n=6$). У животных контрольной группы ($n=7$), через 180 мин после инъекции физ. раствора, концентрация ДК, МДА, и ОШ в плазме крови и печени была равной соответственно 0,65±0,036 Д233/мл и 15,3±1,21 Д233/г ткани, 0,78±0,050 мкмоль/мл и 16,5±0,59 нМоль/г ткани, 4,2±0,71 ЕД/мл и 127,1±12,35 ЕД/г ткани.

Обнаружено, что введение ЛПС через 180 мин после инъекции, приводит к снижению концентрации β -ТФ на 39,2% ($p < 0,05$, $n=7$) и 25,1% ($p < 0,05$, $n=7$) в плазме крови и печени соответственно. Активность КТ через 120 и 180 мин после введения пирогенала снижалась в плазме крови – на 20,1% ($p < 0,05$, $n=6$) и 24,8% ($p < 0,05$, $n=7$), в печени – на 15,8% ($p < 0,05$, $n=7$) и 19,7% ($p < 0,05$, $n=7$). Содержание β -ТФ и активность КТ в плазме крови и печени у крыс ($n=7$) в контроле составляла 2,25±0,31 мкмоль/мл и 193,4±9,72 нМоль/г ткани, 13,5±3,47 ЕД/мл и 316,0±28,5 ЕД/г ткани соответственно.

Выявлено, что в условиях пирогеналовой лихорадки, через 120 и 180 мин после инъекции ЛПС, в плазме крови крыс повышалась концентрация ТТГ на 33,3% ($p < 0,05$, $n=10$) и 38,5% ($p < 0,05$, $n=10$), снижался уровень Т3 на 30,2% ($p < 0,05$, $n=10$) и повышалось содержание Т4 на 24,3% ($p < 0,05$, $n=10$) на 180 мин действия бактериального эндотоксина. Действие ЛПС у кроликов ($n=7$), через 30 и 60 мин после введения в кровотоки, вызывало повышение в плазме крови уровня ТТГ на 22,1% ($p < 0,05$) и 26,7% ($p < 0,05$), снижение концентрации Т4 на 51,1% ($p < 0,05$) и 24,3% ($p < 0,05$) соответственно. Концентрация Т3 снижалась на 35,6% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, если действие препарата длилось 60 мин. Содержание ТТГ, Т3 и Т4 в плазме крови у животных контрольной группы ($n=8$), через 30 и 60 мин после введения апиrogenного физ. раствора, составляло: 31,2±2,15 мМЕ/л, 8,9±0,63 нМоль/л, 72,1±12,30 нМоль/л и 30,5±2,84 мМЕ/л, 8,5±0,60 нМоль/л, 73,6±10,21 нМоль/л.

В опытах на крысах установлено, что действие в организме ингибитора NO-синтазы L-NNA в дозе 20 мг/кг – дозе, не влияющей на температуру тела сопровождается снижением детоксикационной функции печени и активности системы гипофиз – щитовидная железа. Так, через 120 и 180 мин после внутрибрюшинного введения L-NNA, в плазме крови крыс наблюдалось снижение концентрации ТТГ на 33,8% ($p < 0,05$, $n=8$) и 38,5% ($p < 0,05$, $n=10$), Т3 на 15,4% ($p < 0,05$, $n=8$) и 23,1% ($p < 0,05$, $n=10$) по отношению к контролю (введение физ. раствора). Содержание Т4 в этих условиях достоверно не изменялось. ПНС у крыс через 120 и 180 мин после введения L-NNA возрастала по сравнению с животными, получавшими физ. раствор, на 28,2% ($p < 0,05$, $n=8$) и 33,6% ($p < 0,05$, $n=10$). Действие в организме L-NNA сопровождалось через 180 мин после инъекции препарата, увеличением концентрации СМ в плазме крови

(на 15,9%, $p < 0,05$, $n = 8$) и её токсичности (на 16,7%, $p < 0,05$, $n = 8$).

В опытах на кроликах ($n = 8$) показано что, лихорадочная реакция, вызываемая введением ЛПС, ослабляется предварительным введением в организм животных как L-NNA (20 мг/кг), так и L-NAME (25 мг/кг). Так, через 120 мин после инъекции ЛПС, в условиях предварительного (за 30 мин до инъекции эндотоксина) введения в кровоток L-NNA ректальная температура повышалась с $38,8 \pm 0,12^\circ\text{C}$ до $39,9 \pm 0,13^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$), в то время как у животных контрольной группы ($n = 7$) с $38,7 \pm 0,10^\circ\text{C}$ до $40,3 \pm 0,20^\circ\text{C}$. Установлено, что предварительное введение в организм животных блокаторов синтеза NO препятствует активации детоксикационной функции печени и системы гипофиз – щитовидная железа на действие бактериального эндотоксина. Введение пирогенала через 120 мин после инъекции, в условиях блокады NO-синтазы, приводило к более выраженному снижению уровня Т3 (на 19%, $p < 0,05$) и к снижению, а не повышению, как при действии ЛПС, уровней ТТГ и Т4 в плазме крови на 26,4% ($p < 0,05$) и 34,6% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с контролем (действие ЛПС).

Опыты показали, 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 повышалась на $0,7^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$, $n = 8$). В этих условиях наблюдалась также активация процессов детоксикации и ПОЛ. Содержание в плазме крови СМ снижалось на 23,5% ($p < 0,05$, $n = 7$), а степень её токсичности уменьшалась на 19,2% ($p < 0,05$, $n = 7$). ПНС в этих условиях снижалась на 27,2% ($p < 0,05$, $n = 7$) и составляла $20,9 \pm 2,3$ мин. Количество ДК в печени увеличивалось на 41,7% ($p < 0,05$, $n = 6$), а в плазме крови на 30,5% ($p < 0,05$, $n = 7$). Концентрация МДА в печени в этих условиях возрастала на 25,2% ($p < 0,05$, $n = 6$), в плазме крови на 29,8% ($p < 0,05$, $n = 6$). Уровень ОШ повышался в печени и плазме крови соответственно на 61,3% ($p < 0,05$, $n = 6$) и 33,4% ($p < 0,05$, $n = 7$). Развитие лихорадки у гипертиреоидных крыс характеризовалось более высокими значениями температуры тела, но скорость подъёма температуры не изменялась.

Опыты показали, что у гипотиреоидных крыс наблюдается снижение температуры тела, концентрации йодсодержащих гормонов щитовидной железы в плазме крови и активности детоксикационной функции печени. Достоверных различий в содержании основных продуктов ПОЛ, а также ?-ТФ и активности КТ в печени между животными с гипотиреозом и нормальным тиреоидным статусом выявлено не было. Установлено, что эндотоксиновая лихорадка у гипотиреоидных животных характеризуется вялым течением. Ректальная температура у крыс ($n = 8$), получавших тиреостатик, через 120 и 180 мин после внутрибрюшинной инъекции ЛПС (5,0 мкг/кг) повышалась на $0,7^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$) и $0,5^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$), а у животных контрольной группы, получавших интрагастрально 1% крахмальный раствор, возрастала на $1,2^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$, $n = 10$), и $1,0^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$, $n = 10$), соответственно.

Показано, что угнетение активности NO-синтазы L-NNA ослабляет развитие изменений детоксикационной функции печени и в процессах энергообеспечения организма на действие экзогенного трийодтиронина. Установлено, что введение трийодтиронина крысам в условиях блокады в организме NO-синтазы (L-NNA, 20 мг/кг, внутрибрюшинно за 30 мин до введения Т3) не приводит к повышению температуры тела и детоксикационной функции печени.

Выводы. Таким образом, полученные данные дают основание заключить, что в изменениях уровня йодтиронинов в плазме крови и формировании терморегуляторных реакций организма при эндотоксиновой лихорадке участвует NO. Развитие

эндотоксиновой лихорадки в условиях действия в организме веществ, ингибирующих NO-синтазу, сопровождается менее выраженными изменениями детоксикационной функции печени, активности системы гипофиз – щитовидная железа, процессов ПОЛ в крови и печени и не столь значимым подъемом температуры тела. Вероятно NO, его продукция в организме, как прямо, так и опосредованно, через активацию процессов детоксикации, ПОЛ, дейодирования йодсодержащих гормонов щитовидной железы в печени, а соответственно, регуляцию тиреоидного статуса, определяет направленность и выраженность изменений процессов теплообмена и температуры тела на действие бактериального эндотоксина.

Литература

1. Боборико Т.Л., Маслова Г.Т., Леонтьев В.Н. Определение каталазной активности в биологическом материале. - М., 1988.- Деп. в ВИНТИ. - № 1512 – В88.
2. Костюк В.А., Потапович А.И., Лунец Е.Ф. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов // Вопросы мед. химии. – 1984.- № 4. – С. 125-127.
3. Способ определения веществ группы средних молекул в биологических жидкостях. А. с. 1520445 СССР, А1№33/50./ Моин В.М., Николайчик В.В., Кирковский В.В. и др.- № 4323421/28-14; заявлено 02.11.87; опубликовано 07.11.89. Бюл. № 41.
4. Способ определения токсичности биологических жидкостей. А. с. 1146570 СССР, G 01 № 1/28, А61 В 10/00 / Горьк. мед. ин-т. Радькова О.А., Бояринов Г.А., Балишина И. Н., Крылов К. В. (СССР). №1/28; №345 8007/28-13; заявл.; 23.06.82; опублик. 23.03.85. Бюл. №11-2с.
5. Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное флюорометрическое определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови // Лаб. дело. – 1984. - № 6. - С. 362-365.
6. Fletcher B.L., Dilbord C.J., Tappel A.L. Fluorescent products of lipid peroxidation of mitochondria and microsoms // Anal. Biochem. - 1973. - Vol. 52, N 1. - P. 1-9.
7. Gerstberger R. Nitric oxide and body temperature control // News Physiol. Sci. - 1999. - Vol. 14, № 2. - P. 30-36.
8. Kuchuk E.N., Vismont F.I. Role of iodine-containing thyroid hormones in the regulation of body temperature in conditions of heating and endotoxin fever // Medico - biological problems of thermophysiology. Ed. by V.N. Gourine. Minsk, 2002. - P. 81-83.
9. Mihōra M., Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // Anal. Biochem. - 1978. - Vol. 86, N 1. - P. 271-278.
10. Scammell T.E., Elmquist J.K., Saper C.B. // Inhibition of nitric oxide synthase produced hypothermia and depresses lipopolysaccharide fever // Am. J. Physiol. - 1996.- Vol. 271, P. 333-338