© ЕВДОКИМОВА О.В., ГОРОДЕЦКАЯ И.В., 2013

ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПОТИРЕОЗА И МАЛЫХ ДОЗ L-ТИРОКСИНА НА АКТИВНОСТЬ АМИНОТРАНСФЕРАЗ И ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗЫ В КРОВИ ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОРОВ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

ЕВДОКИМОВА О.В., ГОРОДЕЦКАЯ И.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Резюме.
В опытах на 120 половозрелых белых беспородных крысах-самцах массой 200 – 250 г установлено, что физический стресс (экспозиция при t 4°C в течение 30 минут) вызывает повышение сывороточной активности аланинаминотрансферазы (АЛТ). Химическое воздействие (однократное внутрижелудочное введение 25% раствора этанола в дозе 3,5 г/кг) приводит к повышению активности АЛТ (на 28%) и, особенно, гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) (на 176%). Эмоциональный стресс (свободное плавание в клетке (СПК) в течение 30 минут) сопровождается возрастанием активности АЛТ (на 44%), и аспартатаминотрансферазы (на 128%), и ГГТ (на 98%). Введение мерказолила (внутрижелудочно в дозе 25 мг/кг в течение 20 дней) per se вызывает увеличение активности изученных ферментов и определяет ее наиболее значительное повышение при всех воздействиях. Введение L-тироксина в малых дозах (внутрижелудочно 1,5 – 3,0 мкг/кг в течение 28 дней) само по себе не влияет на активность ферментов в крови и, вместе с тем, предупреждает увеличение активности АЛТ при холодовом и химическом воздействии и активности ГГТ при СПК, в условиях которого оно существенно ограничивает повышение активности аминотрансфераз, как и активности ГГТ при химическом стрессе. Результаты свидетельствуют о стабилизации клеточных мембран под влиянием йодсодержащих тиреоидных гормонов при стрессе различного происхождения.

Ключевые слова: йодсодержащие гормоны щитовидной железы, аминотрансферазы, гамма-глутамилтрансфераза.

Abstract.
In the experiments on 120 adult white mongrel male rats with body weight 200–250 g it has been shown that physical stress (exposure at t 4°C for 30 minutes) causes the increase in serum activity of alanine aminotransferase (ALT) (by 11%). Chemical exposure (single intragastric dose of 25% ethanol solution at the dose of 3,5 g/kg) increases the activity of ALT (by 28%) and, especially, that of gamma-glutamyltransferase (GGT) (by 176%). Emotional stress (free swimming in the cage (FSC) for 30 minutes) is accompanied by the increase in the activity of ALT (by 44%), and aspartate aminotransferase (by 128%), and GGT (by 98%). Introduction of mercazolil (intragastrally 25 mg/kg for 20 days) per se causes the increase in the activity of the studied enzymes and determines its most significant increase under all actions. Administration of L-thyroxine in small doses (intragastrally 1,5–3,0 μg/kg for 28 days) by itself does not affect the activity of enzymes in the blood and at the same time prevents the increase in ALT activity during cold and chemical exposure and in GGT activity under FSC stress, under which it significantly limits the increasing of aminotransferases activity as well as GGT activity under chemical stress. The results testify to the stabilization of cell membranes by iodine-containing thyroid hormones under stress of different origin.

Key words: iodine-containing thyroid hormones, aminotransferases, gamma-glutamyltransferase.

Известно, что одним из механизмов антистрессорного действия йодсодержащих тиреоидных гормонов (ЙТГ) является их стимулирующее влияние на активность антиоксидантных ферментов, как это было показано в миокарде крыс при иммобилизационном [1], тепловом и холодовом стрессе [2], а также в эритроцитах при иммобилизационном стрессе [3]. Однако важное значение в системе защиты организма от свободнорадикального по-

вреждения принадлежит и неферментативным антиоксидантам, в частности – восстановленному глутатиону. Он необходим для:

1) восстановления реакционной способности SH-групп кофермента А, участвующего в обмене аминокислот, жиров и углеводов;

2) функционирования антиоксидантной глутатион-зависимой системы защиты от свободнорадикального окисления липидов [4].

Основным ферментом, регулирующим уровень восстановленного глутатиона в клетке, является гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ), которая участвует в обмене аминокислот, поэтому снижение или отсутствие ее активности определяет изменение синтеза белка, как это было обнаружено в злокачественных клетках [5]. ГГТ катализирует перенос γ-глутамилового остатка с γ-глутамилового пептида на аминокислоту или пептид (экстернальная транспептидация) или на иную субстратную молекулу (интернальная транспептидация). Содержится в основном в мембранах клеток с высокой секреторной, экскреторной или реабсорбционной способностью. Обладает уникальной реакционной активностью [6].

Помимо влияния на содержание восстановленного глутатиона ГГТ и сама может принимать непосредственное участие в защите от перекисного окисления липидов [7].

Важную роль в антиоксидантной системе организма играет и структурный антиоксидант – определенным образом упорядоченная «архитектура» мембраны [8]. Ее повреждение в условиях стресса приводит к высвобождению внутриклеточных ферментов и, как следствие, к повышению их активности в крови. Установлено, что при некоторых патологических состояниях, сопровождающихся деструктивными процессами, резко возрастает активность аминотрансфераз в плазме крови. Аминотрансферазы (трансаминазы) – ферменты класса трансфераз, катализирующие обратимые реакции трансаминирования, т.е. перенос аминогруппы от одной молекулы субстрата к другой без промежуточного образования аммиака. Аспартатаминотрансфераза (АСТ), другое название глутамат-оксалоацетаттрансаминаза, переносит аминогруппы с аспарагиновой кислоты на α-кетоглутарат с образованием глутамата и щавелевоуксусной кислоты. Аланинаминотрансфераза (АЛТ), другое название глутаматпируваттрансаминаза, переносит аминогруппы с аланина на α-кетоглутарат с образованием глутамата и пировиноградной кислоты.

Несмотря на отсутствие выраженной органной специфичности, определение активности АСТ и АЛТ имеет большую диагностическую ценность. При этом повышение активности АСТ указывает на преимущественное поражение сердца, а АЛТ – печени [9]. Вместе с тем, зависимость изменения их активности при стрессе, как и активности ГГТ, от тиреоидного статуса организма до сих пор не изучалась.

Цель настоящей работы – исследовать влияние изменения тиреоидного статуса на активность АСТ, АЛТ и ГГТ в крови при воздействии стрессоров различного происхождения.

Методы

Опыты поставлены в осенне-зимний период на 120 половозрелых белых беспородных крысах-самцах с массой тела 200 – 250 г.

Холодовой стресс моделировали помещением животных в холодовую камеру (t 4°C) на 30 минут, химический – введением алкоголя (однократно внутрижелудочно 25% раствор этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела); эмоциональный – путем «свободного плавания животных в клетке» (СПК) (по 5 особей в течение 30 минут в пластиковой клетке размером 50×30×20 см, заполненной водой (t 22°C) на 15 см и закрытой сверху сеткой [10].

Для изменения тиреоидного статуса вводили тиреостатик мерказолил (внутрижелудочно в 1% крахмальном клейстере в дозе 25 мг/кг в течение 20 дней), либо малые дозы L-тироксина (внутрижелудочно 1,5 – 3,0 мкг/кг в течение 28 дней).

Крыс умерщвляли декапитацией под уретановым наркозом (0,1 г/100 г массы тела).

Определение сывороточной активности аминотрансфераз и ГГТ проводили кинетическим методом при помощи автоматических анализаторов с использованием наборов реактивов («Rendox» и «Cormay»).

Статистическая обработка полученных данных была проведена с помощью программы «Статистика 6.0». После первоначального определения характера распределения признака (Shapiro-Wilk,s test) было установлено, что оно отличалось от нормального. Поэтому

для сравнения несвязанных совокупностей использовали непараметрический критерий U Манна-Уитни. Данные представляли в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, (LQ; UQ) – интерквартильный интервал: верхняя граница нижнего квартиля (LQ) и нижняя граница верхнего квартиля (UQ). Критическим уровнем значимости был принят $p<0,05$.

Результаты

У контрольных животных активность АСТ в крови составила 150,69 (77,67; 243,99) U/L, АЛТ – 45,12 (28,95; 52,40) U/L, ГГТ – 2,31 (1,53; 3,28) U/L.

Физический стресс вызывал повышение сывороточной активности только АЛТ – на 11% ($p<0,01$). Химический стресс приводил к характерному для воздействия всех химических факторов существенному увеличению активности ГГТ – на 176% ($p<0,01$), а также к возрастанию активности АЛТ – на 28% ($p<0,001$). Эмоциональный стресс вызывал повышение активности всех изученных ферментов: АЛТ – на 44% ($p<0,001$), ГГТ – на 98% ($p<0,01$) и, в наибольшей степени, АСТ – на 128% ($p<0,001$) (рис. 1). Следовательно, изменение сывороточной активности аминотрансфераз и ГГТ зависит от природы стресса.

Увеличение сывороточной активности АСТ и АЛТ отмечалось и другими авторами при различных видах стресса:

I. Эмоциональный стресс:

– хронический изоляционный стресс (помещение крыс в специальные клетки размером 45×15×15 см на 7 и 14 дней таким образом, чтобы они не могли видеть друг друга) – возрастание АЛТ в крови было более выражено после 14 дней, а АСТ – после 7 дней [11];

– иммобилизационный стресс (обездвиживание мышей в специальных квадратных контейнерах с длиной стороны 15 см по 4 часа в течение 5 дней) – повышение уровня АСТ и понижение содержания АЛТ в крови [12].

II. Стресс, вызванный воздействием физических факторов:

– стресс «принудительного плавания» (в стеклянной емкости длиной 100 см, шириной 40 см и глубинной 60 см с уровнем воды 30 см и t 32°C в течение 2,5 часов на высоте 600 и 2200 м над уровнем моря) – увеличение сывороточных уровней АЛТ и АСТ, более выраженное у крыс, находящихся в условиях высокогорья [13];

– острый нейрогенный стресс (подвешивание мышей за шейную складку на 22 часа) – возрастание активности аминотрансфераз в сыворотке крови (средний уровень активности

А Б В

Рисунок 1 – Влияние гипотиреоза и малых доз L-тироксина на активность аминотрансфераз и гамма-глутамилтрансферазы в крови (U/L) при действии стрессоров различного происхождения.
Примечание: А – активность аспартатаминотрансферазы; Б – активность аланинаминотрансферазы; В – активность гамма-глутамилтрансферазы. $p<0,05$ по отношению: * - к контролю; # - к стрессу; + - к контролю и стрессу; ° - к группе животных, получавших мерказолил; ^ - к группе животных, получавших L-тироксин. Группы животных (в каждой по 10 особей): К – «Контроль»; ХОЛ – «Холод»; АЛК – «Алкоголь»; СПК – «Свободное плавание в клетке»; М – «Мерказолил»; М и ХОЛ – «Мерказолил и холод»; М и АЛК – «Мерказолил и алкоголь»; М и СПК – «Мерказолил и свободное плавание в клетке»; Т – «Тироксин»; Т и ХОЛ – «Тироксин и холод»; Т и АЛК – «Тироксин и алкоголь»; Т и СПК – «Т и свободное плавание в клетке».

АСТ повышался в 1,2 раза больше по сравнению с активностью АЛТ) [14];

– тепловой стресс (воздействие t 35 – 40 и 40 – 45°С на кур-бройлеров в течение 8 часов ежедневно на протяжении 28 – 44 дней) – повышение сывороточного содержания АСТ и АЛТ, более выраженное при действии температуры 40 – 45°С [15];

– напряженная мышечная работа (в ходе тренировки у лошадей) – увеличение до верхней границы значения АСТ, тогда как показатель АЛТ оставался в пределах нормы [16].

III. Стресс, вызванный действием химических факторов:

– технологический стресс (скармливание цыплятам лития цитрата в дозе в перерасчете на катион лития 12% по массе) – тенденция к повышению активности АЛТ и АСТ в крови: АЛТ на 3 сутки – на 100%, на 6 сутки – на 35%; АСТ на 3 сутки – на 27%, на 6 сутки – на 41% [17];

– стрессовое воздействие, вызванное хронической алкогольной интоксикацией (ежедневное интрагастральное введение крысам этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела в течение 60 дней) – увеличение уровней АЛТ и АСТ в крови на 572 % и 191 % соответственно [18].

IV. Комбинированное действие стрессоров различной природы:

– остроый иммобилизационный (изолированном либо в сочетании с холодовым воздействием) – возрастание активности АСТ и АЛТ в крови крыс [19];

– водно-иммерсионный (помещение крыс в воду с t 23°С на 6 часов после иммобилизации) – повышение активности АСТ и АЛТ [20];

– водно-иммерсионно-иммобилизационный (погружение крыс в воду с t 23°С на 1,5 – 6 часов в специальных клетках) – увеличение активности АСТ и АЛТ [21];

– иммобилизационно-холодовой (нахождение крыс в клетках в холодной комнате с t воздуха 2±1°С в течение 2 часов) – возрастание уровня АСТ в крови [22].

Доказано, что ГГТ является клеточно-биохимическим маркером устойчивости к стрессу различного происхождения [23]. Активность этого фермента изменяется при действии стрессоров различной природы:

I. Эмоциональный стресс:

– иммобилизационный стресс (острый и хронический) – значительное повышение активности ГГТ в экстрамикросомальной фракции почечной ткани крыс [24];

– иммобилизационный стресс (помещение мышей в специальные квадратные контейнеры с длиной стороны 15 см на 4 часа в течение 5 дней) – увеличение сывороточного уровня ГГТ [25];

– иммобилизационный стресс (в течение 5 дней) – подавление активности ГГТ в различных тканях лимфоидной системы крыс (лимфоцитах, тимусе, макрофагах и, особенно, в селезенке) [26];

– эмоционально-болевой стресс – снижение активности ГГТ в печени крыс [27];

– эмоциональный стресс (в течение 20 минут) – уменьшение активности ГГТ в тканях печени и почек крыс [28].

II. Вызванный воздействием физических факторов:

– травматический стресс (первичная черепно-мозговая травма) – возрастание активности ГГТ в крови и ликворе у людей с сотрясением и ушибом легкой степени головного мозга в первые сутки и снижение – на восьмые сутки после травмы [29];

– гипоксическое воздействие (2 – 15 минут) – снижение активности ГГТ в сердце, печени и почках крыс [26];

– острая холодовая экспозиция – существенное различие активности ГГТ в экстрамикросомальной и в микросомальной фракциях ткани печени, что свидетельствует об увеличении проницаемости микросомальных мембран. Физическая нагрузка и длительное холодовое воздействие, напротив, их стабилизировали [29];

– острый физический стресс – уменьшение активности ГГТ в экстрамикросомальной фракции и увеличение – в микросомальной фракции ткани почек крыс [23];

– хроническое холодовое воздействие – значительное повышение активности ГГТ в экстрамикросомальной фракции почечной ткани крыс [23];

– стресс, вызванный воздействием шума (90 дБ на протяжении 3 часов в течение 30 дней) – увеличение сывороточной активности ГГТ, а также АЛТ у крыс [30].

III. Вызванный действием химических факторов:

– экспериментальная интоксикация полихлорированными бифенилами (внутри-

желудочное введение раствора «Совол», включающего 26% тетра-, 64,6% пента-, 9% гексахлорбифенилов и следовые количества гептахлорбифенилов, в дозе 10,7 мг/кг и 21,4 мг/кг массы тела в течение 14 дней) – возрастание активности ГГТ в гомогенате эпидимидиса крыс на 50,6% и 131,2% [31];

– воздействие этиленгликоля (1% раствор в виде питья на протяжении 3 недель) – резкое повышение экскреции ГГТ с мочой у крыс, свидетельствующее о нарушении функции почек [32];

– воздействие нитрата метилртути (внутрижелудочное введение) – незначительный рост активности ГГТ в крови на 5 сутки после затравки в группе крыс, получивших субклиническую дозу, и более существенное – в группе животных, получивших более высокую дозу вещества [33];

– введение алкоголя (внутрибрюшинно 20% раствор этанола в дозе 2 г/кг, т.е. около 1/4 DL50) на фоне сахарного диабета (интраперитонеальное введение 160 мг/кг аллоксана тетрагидрата) – увеличение активности ГГТ с третьих суток, которое с высокой силой отрицательно коррелировало с концентрацией восстановленного глутатиона. Однако при изолированной алкоголизации в этот же срок между активностью ГГТ и уровнем восстановленного глутатиона связь была положительной. Следовательно, на фоне сахарного диабета активация ГГТ играет катаболическую роль в его отношении [34];

– введение алкоголя (per os 20% раствор этанола в дозе 5 г/кг массы тела на протяжении 4 недель) – возрастание активности ГГТ в сыворотке крови крыс (на 82%), тогда как в печени – уменьшение (на 59%) [35].

Следовательно, воздействие стрессоров вызывает изменение активности АЛТ, АСТ и ГГТ в крови, что указывает на неспецифический характер этой реакции. Стресс разного происхождения оказывает различное влияние на активность указанных ферментов, зависящее от природы стрессора, силы и продолжительности его воздействия.

На активность данных ферментов влияет и изменение тиреоидного статуса организма.

Было показано увеличение активности аминотрансфераз при экспериментальном гипотиреозе, вызванном:

– внутрижелудочным введением крысам мерказолила в дозе 20 мг/100 г массы тела) [36];

– введением кроликам сока капусты, содержащего зобогенные вещества [37].

У пациентов с гипотиреозом (возраст от 15 до 55 лет) была отмечена прямая корреляционная связь между уровнями АСТ и АЛТ и концентацией тиреотропного гормона (ТТГ) в крови и обратная связь между содержанием тироксина (Т4) и уровнем вышеуказанных ферментов [38].

При гипертиреозе также изменялась активность АСТ и АЛТ. Это было отмечено при различных моделях:

– при экспериментальном гипертиреозе у кроликов, вызванном введением Т4 [37];

– при гипертиреозе у кур (прием препарата Euthyrox с питьевой водой в дозах 250 и 500 мг/кг массы тела в течение 25 дней) [39].

Сывороточная концентрация АСТ и АЛТ повышалась и у гипертиреоидных пациентов – у 27 и 37% соответственно [40].

Изменение уровня ЙТГ в крови влияло и на активность ГГТ:

– у пациентов с первичным идиопатическим гипотиреозом активность ГГТ была ниже, чем у здоровых людей. При этом была обнаружена значительная корреляция между концентрацией ГГТ и трийодтиронина (Т3) (r=0,766) (но не между содержанием ГГТ и Т4 (r=0,476). Уровень ТТГ в крови не коррелировал с активностью ГГТ (r=-0,454). Не было обнаружено достоверной корреляции и между активностью этого фермента и полом и возрастом у пациентов с первичным гипотиреозом и в контрольной группе [41];

– у пациентов с гипотиреозом – сывороточный уровень ГГТ уменьшался, что коррелировало с содержанием ТТГ в крови. Заместительная терапия Т4 вызывала повышение содержания ГГТ в крови [42];

– у пациентов с гипотиреозом сывороточный уровень ГГТ был значительно снижен и коррелировал с содержанием Т4 (r=0,48) и Т3 (r=0,39) [43];

– у пациентов с гипертиреозом уровень ГГТ, напротив, был значительно увеличен и существенно уменьшался после лечения. При этом содержание ГГТ также коррелировало с уровнем Т4 (r=0,44) и Т3 (r=0,47) в крови. Существование выраженной корреляции между активностью фермента и уровнем ЙТГ в крови свидетельствует о том, что изменение активности ГГТ в условиях гипо- и гипертиреоза

может быть связано с изменением сывороточной концентрации ЙТГ [43];

– у 10 из 16 гипертиреоидных пациентов было обнаружено повышение активности ГГТ. Не выявлено достоверных различий между индексами свободного Т3 и свободного Т4 между группами с высоким и нормальным уровнем ГГТ. Спустя 6 месяцев после лечения радиоактивным йодом сывороточный уровень ГГТ уменьшался [42].

Следовательно, у пациентов с гипотиреозом активность ГГТ в крови, как правило, понижена, тогда как у пациентов с гипертиреозом – повышена.

Экспериментально вызванная тиреоидная дисфункция также изменяла активность ГГТ. Это было показано:

– в печени гипотиреоидных крыс – увеличение как активности ГГТ, так и уровня ее м-РНК. Результаты, полученные при культивировании гепатоцитов взрослых крыс в бессывороточной среде демонстрируют, что повышение уровня м-РНК ГГТ, стимулируемое дексаметазоном, коррелировало со стимуляцией активности ГГТ. Было отмечено прямое негативное влияние Т3 на активность ГГТ в культивируемых гепатоцитах, которое отражает специфическое подавление им экспрессии гена ГГТ [44];

– в печени потомства животных, которым во время беременности вводили тиреостатик, активность ГГТ была низкой, как и у контрольных животных. Однако с возрастом она значительно увеличивалась и была выше после 2-х месяцев на 260% по сравнению с контролем. Заместительная терапия Т3 нормализовала активность ГГТ до уровня контрольных животных. Влияние ЙТГ на активность фермента связано с их модулирующим влиянием на экспрессию гена ГГТ, что доказывается тесной корреляцией уровня м-РНК ГГТ при различном тиреоидном статусе с изменениями активности фермента [45];

– гипотиреоз у самок уменьшал специфическую активность ГГТ в головном мозге их потомства на 1 – 20 день после рождения. Это было связано с оксидативным стрессом, одним из первых проявлений которого является снижения уровня восстановленного глутатиона в развивающемся головном мозге крыс. Максимальное ингибирование (на 42%) наблюдалось на 10 день. Интраперитонеальное введение ЙТГ 15-ти дневным крысятам увеличивало активность ГГТ на 20 – 30% через 4 – 6 часов. Добавление в первичную культуру астроцитов ЙТГ также повышало специфическую активность ГГТ на 30 – 40% через 4 – 6 часов. Индукция активности фермента блокировалась актимицином Д или циклогексимидином, что указывает на ее опосредованность через синтез ГГТ de novo [46];

– экспериментальный гипертиреоз (солевой раствор 0,0012% L-T4 в течение 5 недель в питьевой воде) увеличивал активность ГГТ в сыворотке крови крыс [47].

Следовательно, как экспериментальный гипотиреоз, так и экспериментальный гипертиреоз изменяют активность ГГТ, как это было отмечено и в отношении аминотрансфераз.

В наших опытах также было установлено, что введение мерказолила само по себе приводило к возрастанию сывороточной активности всех изученных ферментов: АСТ – на 76% ($p<0,01$), АЛТ – на 32% ($p<0,001$), ГГТ – на 58% ($p<0,05$).

После холодового и химического стресса у гипотиреоидных животных, как и у эутиреоидных, активность АЛТ в крови повышалась (по отношению к группе «Мерказолил»), однако более существенно: на 29% ($p<0,001$) и на 67% ($p<0,01$), активность АСТ, в отличие от них, возрастала – на 69% ($p<0,001$) и 45% ($p<0,001$). Активность ГГТ после холодовой экспозиции, как и при этом воздействии у животных, не получавших мерказолил, не изменялась ($p>0,05$), а после введения алкоголя – также, как и в указанной группе крыс, повышалась, однако в существенно большей степени – на 381% ($p<0,01$). Также, как при стрессе у эутиреоидных крыс, у гипотиреоидных после СПК увеличивалась сывороточная активность обеих аминотрансфераз: АСТ – на 126% ($p<0,001$), АЛТ в значительно большей степени – на 93% ($p<0,001$) (на 49% больше), как и ГГТ – на 232% ($p<0,01$) (на 34% больше).

В результате по отношению к контролю активность аминотрансфераз в крови была выше после всех примененных воздействий ($p<0,001$): после холодового, химического и эмоционального стресса активность АСТ – на 145%, 121% и 202%; активность АЛТ – на 61%, 99% и 125%; активность ГГТ – на 99% ($p<0,01$), 439% ($p<0,01$) и 290% ($p<0,001$).

По сравнению со стрессом у эутиреоидных животных сывороточная активность изученных ферментов также была большей: после холодового воздействия активность АСТ – на 140% ($p<0,001$), АЛТ – на 50% ($p<0,001$), ГГТ – на 58% ($p<0,05$); после химического активность АСТ – на 85% ($p<0,001$), АЛТ – на 71% ($p<0,05$), ГГТ – на 263% ($p<0,05$); после эмоционального активность АСТ – на 74% ($p<0,001$), АЛТ – на 81% ($p<0,001$), ГГТ – на 192 ($p<0,01$).

Следовательно, введение мерказолила, само по себе вызывающее повышение активности изученных ферментов в крови, способствует ее большему возрастанию при воздействии всех примененных стрессоров.

Введение L-тироксина в малых дозах не изменяло сывороточную активность АСТ, АЛТ и ГГТ ($p>0,05$).

Холодовое воздействие у животных, получавших L-тироксин, как и у эутиреоидных животных, не сопровождалось увеличением активности АСТ и ГГТ в крови (по отношению к группе «Тироксин», $p>0,05$), и, в отличие от них, не вызывало возрастания активности АЛТ ($p>0,05$). После введения алкоголя повышалась сывороточная активность только АЛТ и ГГТ, как это имело место и у стрессированных животных, не получавших препарат, однако в меньшей степени – на 15% ($p<0,001$) (на 13% меньше) и на 38% ($p<0,05$) (на 138% меньше). После СПК возрастала активность только АСТ и АЛТ в крови, причем также менее значительно, чем при таком же воздействии без L-тироксина, – на 31% ($p<0,001$) (на 97% меньше) и 13% ($p<0,001$) (на 31% меньше). Активность ГГТ по отношению к группе «Тироксин» не изменялась ($p>0,05$).

По сравнению с контролем после холодового воздействия сывороточная активность всех ферментов была такой же ($p>0,05$) как и активность АСТ и АЛТ после химического ($p>0,05$), в условиях которого активность ГГТ была выше, однако значительно в меньшей степени – на 72% ($p<0,05$). После эмоционального стресса активность аминотрансфераз по отношению к контролю также была незначительно больше: АСТ – на 36% ($p<0,05$), АЛТ – на 10% ($p<0,05$), а активность ГГТ – такой же ($p>0,05$).

Поэтому по отношению к холодовому стрессу у крыс, не получавших L-тироксин, активность АЛТ и ГГТ в крови была такой же ($p>0,05$), а активность АСТ ниже – на 10% ($p<0,001$). После химического была меньшей активность АЛТ – на 16% ($p<0,05$) и ГГТ – на 104% ($p<0,05$). После эмоционального – активность и АСТ, и АЛТ, и ГГТ: на 92% ($p<0,01$), 34% ($p<0,05$) и 49% ($p<0,05$).

Следовательно, введение L-тироксина per se не влияет на активность исследованных ферментов. В условиях воздействия физического и химического факторов оно устраняет повышение активности АЛТ, как и активности ГГТ при физическом и эмоциональном стрессе. В условиях последнего воздействия малые дозы L-тироксина значительно лимитируют возрастание активности АСТ и АЛТ, как и увеличение активности ГГТ при химическом стрессе.

Обсуждение

В нашем исследовании установлено, что холодовой стрессор вызывает повышение сывороточной активности только АЛТ. Это может свидетельствовать о преимущественном повреждении мембран клеток печени в этих условиях. Химическое воздействие приводит к увеличению активности и АЛТ и, особенно, ГГТ. Значительное возрастание активности последнего фермента может являться следствием:

– высвобождения его (как и аминотрансфераз) из клеток при их повреждении, в том числе свободными радикалами и самим этанолом;

– усиления синтеза ГГТ в результате активации этанолом ферментов, участвующих в этом процессе [26];

– освобождения ГГТ из клеточных мембран в результате детергентного действия поверхностно активных веществ, составляющего одно из звеньев «липидной триады» [48]. Ее реализация лежит в основе повреждения клеточных мембран, в том числе, саркоплазматического ретикулума, что приводит к накоплению Ca^{2+} в саркоплазме. Этот катион, в свою очередь, активирует совокупность процессов, составляющих «липидную триаду», и, таким образом, «порочный круг» замыкается.

Заключение

В нашей работе обнаружено, что эмоциональный стресс сопровождается возрастани-

ем активности как АЛТ и ГГТ, так и АСТ, что может отражать возрастание проницаемости мембран не только клеток печени, но и сердечной мышцы.

Введение мерказолила per se вызывает увеличение активности исследованных ферментов в крови, что указывает на развитие цитолитического синдрома у таких животных. Экспериментальный гипотиреоз определяет наиболее значительное повышение сывороточной активности АСТ, АЛТ и ГГТ при физическом, химическом и эмоциональном стрессе, т.е. усугубляет повреждение клеточных мембран в этих условиях.

Введение L-тироксина в малых дозах само по себе не влияет на активность всех изученных ферментов в крови. Вместе с тем, оно предупреждает возрастание активности АЛТ при холодовом и химическом стрессе и активности ГГТ при эмоциональном, в условиях которого L-тироксин существенно органичивает увеличение активности аминотрансфераз, как и активности ГГТ при химическом воздействии. Минимизация повышения активности аминотрансфераз при стрессе под влиянием L-тироксина однозначно может быть расценена как позитивный его эффект. Для того, чтобы понять значение ограничения стресс-индуцированного возрастания активности ГГТ, которая, участвуя в метаболизме восстановленного глутатиона, может увеличивать устойчивость организма к стрессу [26], необходимо учесть, что чрезмерное повышение активности ГГТ, зарегистрированное в наших опытах, вызывает негативные последствия, поскольку одним из продуктов ее деятельности являются супероксидный радикал и пероксид водорода [49]. Это способствует прогрессированию свободнорадикальных нарушений и через модификацию сульфгидрильных групп белков-посредников влияет на передачу информации во внутриклеточных сигнальных путях [34].

В целом, полученные результаты указывают на стабилизацию клеточных мембран и, таким образом, укрепление «структурного» антиоксиданта и на нормализацию активности ключевого фермента катаболизма восстановленного глутатиона – ГГТ и, таким образом, стимуляцию неферментативного компонента антиоксидантной системы организма под влиянием L-тироксина в условиях стресса различного происхождения, что устанавливает новый аспект антистрессорного действия ЙТГ.

Литература

1. Роль локальных стресс-лимитирующих систем миокарда в протекторном кардиальном эффекте малых доз тиреоидных гормонов при иммобилизационном стрессе у крыс / И.В. Городецкая [и др.] // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т. 86, № 1. – С. 62–67.
2. Городецкая, И.В. Уменьшение тиреоидными гормонами интенсивности общего адаптационного синдрома при антагонистических стрессах / И.В. Городецкая // Здравоохранение. – 2000. – № 7. – С. 25–28.
3. Божко, А.П. Ограничение стрессорной активации перекисного окисления липидов малыми дозами тиреоидных гормонов / А.П. Божко, И.В. Городецкая, А.П. Солодков // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1990. – Т. 109, № 6. – С. 539–541.
4. Барабой, В.А. Растительные фенолы и здоровье человека / В.А. Барабой. – М. : Наука, 1984. – 160 с.
5. Demonstration of gamma-glutamyltranspeptidase activity in human jejunal mucosa / E. Greenberg [et al.] // Clin Chim Acta. – 1967. – Vol. 16, № 1. – P. 79–83.
6. Горленко, В.А. Гамма-глутамилтрансфераза, свойства и роль в обмене веществ / В.А. Горленко, Ю.В. Филиппович // Успехи соврем. биол. – 1979. – Т. 88, №6. – С. 367–386.
7. 7. Gamma-glutamyl transpeptidase-dependent lipid peroxidation in isolated hepatocytes and HepG2 hepatoma cells / A. Paolicchi [et al.] // Free Rad Biol Med. – 1997. – № 22. – P. 853–860.
8. Рачев, Р.Р. Тиреоидные гормоны и субклеточные структуры / Р.Р. Рачев, Н.Д. Ещенко. – М. : Медицина, 1975. – 296 с.
9. Пурсанов, К.А. Модификация гепарином активности аминотрансфераз при действии пчелиного яда и этанола / К.А. Пурсанов, З.В. Перепелюк // Заоч. науч.-пркт. конф. [Электронный ресурс]. – 2012. – Режим доступа : http://sibac.info/index.php. – Дата доступа : 12.01.2012.
10. Манухина, Е.Б. Влияние различных методик стрессирования и адаптации на поведенческие и соматические показатели у крыс / Е.Б. Манухина, Н.А. Бондаренко, О.Н. Бондаренко // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1999. – Т. 129, № 8. – С. 157–160.
11. Nagaraja, H.S Stress responses in albino rats / H.S. Nagaraja, B.K. Anupama, P.S. Jeganathan // Thai J of physiol sciences. – 2006. – Vol. 19, №

2. – P. 8–15.
12. Effect of peppermint oil on serum lipid peroxidation and hepatic enzymes after immobility stress in mice / A. Marjani [et al.] / The Open Bioch. J. – 2012. – № 6. – P. 51–55.
13. Co-administration of Vitamins E and C protects against stress-induced hepatorenal oxidative damage and effectively improves lipid profile at both low and high altitude / F. H. AL-Hashem [et al.] // African J of Biotechn. – 2012. – Vol. 11, № 45. – P. 10416–423.
14. Композиция для коррекции патологических нарушений углеводного, липидного обмена и антиоксидантного статуса организма : пат. 2360683 Рос. Федерация, МПК A61K 31/722, A61P3/00 / А.А. Артюков [и др.] ; заявитель и патентообладатель Тихоокеан. ин-т биоорган. химии ДВО РАН. – № 2008114994 ; заявл. 16.04.2008; опубл. 10.07.09 // Бюл. – 2009. – № 19. – С. 13.
15. Effects of induced heat stress on some biochemical values in broiler chicks / W.A. Khan [et al.] / Int. J. Agri. Biol. – 2002. – Vol. 4, № 1. – P. 74–75.
16. Сапожникова, О.Г. Влияние стрессовых ситуаций на организм спортивных лошадей и разработка методов их коррекции : автореф. дис. … канд. биол. наук : 06.02.01 / О.Г. Сапожникова; Севастоп. гос. аграр. ун-т. – М., 2010. – 26 с.
17. Бурсуков, А.В. Действие препарата лития цитрата на метаболизм у цыплят при стрессе / А.В. Бурсуков // Успехи соврем. естествознания. – 2004. – № 7 – С. 85–86.
18. Артюшкевич, С.А. Роль купферовских клеток и тиреоидного статуса организма в развитии оксидативного стресса у крыс при хронической алкогольной интоксикации / С.А. Артюшкевич // Мед. журн. – 2007. – № 4. – С.25 – 27.
19. Highman, B. Serum enzyme and histopathologic changes in rats after cold exposure / B. Highman, P.D. Altland // Proc Soc Exp Biol Med. – 1962, № 109. – P. 523–526.
20. Stress increases plasma enzyme activity in rats: differential effects of adrenergic and cholinergic blockades / H. Arakawa [et al.] // J Pharmacol Exp Ther. – 1997. – Vol. 280, № 3. – P. 296–303.
21. Development of oxidative stress and cell damage in the liver of rats with water-immersion restraint stress / Y. Ohta [et al.] // Redox Rep. – 2007. – Vol. 12, № 3. – P. 139–147.
22. Meltzer, H.Y. Plasma creatine phosphokinase activity, hypothermia, and stress / H.Y. Meltzer // Am J Physiol. – 1971. – Vol. 221, № 3. – P. 896–901.
23. Koner, B.C. Effects of stress on gamma glutamyltranspeptidase (GGT) activity in lymphoid system of rats: modulation by drugs / B.C. Koner, B.D. Banerjee, A. Ray // Indian J Exp Biol. – 1997. – Vol. 35, № 3. – P. 222–224.
24. Effects of exercise, cold, and immobilization stresses on gamma-glutamyltransferase activity in rat kidney / H. Ohno [et al.] // Jpn J Physiol. – 1989. – Vol. 39, № 6. – P. 949–955.
25. Effect of peppermint oil on serum lipid peroxidation and hepatic enzymes after immobility stress in mice / A. Marjani [et al.] // Open Biochem J. – 2012. – № 6. – P. 51–55.
26. The effect of emotional-painful stress, hypoxia, and adaptation to it on the activity of enzymes for metabolizing glutathione and concentration of glutathione in rat organs / L.S. Kolesnichenko [et al.] // Vopr Med Khim. – 1994. – Vol. 40, № 5. – P. 10–12.
27. Effect of emotional stress on the activity of enzymes of glutathione metabolism / L.S. Kolesnichenko [et al.] // Vopr Med Khim. – 1987. – Vol. 33, № 3. – P. 85–88.
28. Иванов, Д.Е. Физиологическая оценка метаболического ответа организма и функциональных изменений системной гемодинамики при черепно-мозговой травме различной степени тяжести : автореф. дис. … д-ра биол. наук : 03.00.13 / Д.Е. Иванов ; Сарат. гос. аграр. ун-т. – Астрахань, 2002. – 23 с.
29. Effects of exercise stress and cold stress on glutathione and gamma-glutamyltransferase in rat liver / H. Ohno [et al.] // Biochim Biophys Acta. – 1990. – Vol. 1033, № 1. – P. 19–22.
30. Helal, G.E. Effect of noise stress and /or sulpiride treatment on some physiological and histological parameters in female albino rats / G.E. Helal, F. Eid, M.T. Neama // The Egypt J of hospital med. – 2011. – Vol. 44. – P. 295–310.
31. Аглетдинов, Э.Ф. Состояние антиоксидантной системы придатка яичка при экспериментальной интоксикации бифенилами / Э.Ф. Аглетдинов // Фундам. исслед. – 2010. – № 1. – С. 7–12.
32. Функция почек в условиях экспериментального оксалатного нефролитиаза / В.М. Брюханов [и др.] // Нефрология. – 2008. – Т. 12, №1. – С 69–74.
33. Изменение активности фермента гамма-глутамилтрансферазы в крови лабораторных животных под влиянием органических соединений ртути / М.Е. Кубракова [и др.] // Фундам. иссл. – 2006. – № 5. – С. 65–66.
34. Жукова, О.Ю. Патогенетическая значимость активации свободнорадикальных процессов в печени при алкоголизации на фоне сахарного диабета : автореф. дис. … канд. мед. наук : 14.00.16; 03.00.04 / О.Ю. Жукова ; Омская гос. мед. акад. – Омск, 2008. – 16 с.
35. Ighodaro, O.M. Ethanol-induced hepatotoxicity

in male wistar rats: effects of aqueous leaf extract of Otimumgratissimum / O.M. Ighodaro, J.O. Omole // J of medc and medical sci. – 2012. – Vol. 3, № 8. – P. 499–505.
36. Магадеев, К.Р. Коррекция необработанным янтарем морфофизиологических показателей при экспериментальном гипотиреозе крыс : дис. … канд. биол. наук : 03.00.13 / К.Р. Магадеев. – М., 2009. – 164 л.
37. Mutu, A. Some particularities concerning the effects of experimental hypo- and hyperthyroidism on hematological homeostasy in domestic rabbit / A. Mutu, N. Dojana, V. Serban // J Veter Med. – 2010. – Vol. 56, № 2. – P. 130–135.
38. Biochemical markers of liver and kidney function are influenced by thyroid function- a case-controlled follow up study in indian hypothyroid subjects / S. Arora [et al.] // Indian J of Clin Biochem. – 2009. – Vol. 24, № 4. – P. 370–374.
39. Ladan, E. Histopathological evaluation of liver following experimental hyperthyroidism in chicks / E. Ladan, K. Reza, A. Narjes // Online J of Vet Res [Electronic resourse]. – 2012. – Mode of access : http://users.comcen.com.au. – Date of access : 04.12.2012.
40. Abnormalities of liver function tests in tyrotoxicosis / P. J. Thompson [et al.] // Mil Med. – 1978. – Vol. 143, № 8. – P. 548–551.
41. Studies on serum γ-glutamyl transpeptidase in priy idiopathic hypothyroidism patients / K. Rambabu [et al.] // Biochem Med and Metab Biol. – 1991. – Vol. 46, № 2. – P. 140–144.
42. Azizi, F. Gamma-glutamyl transpeptidase levels in thyroid disease / F. Azizi // Arch Intern Med. – 1982. – Vol. 142, № 1. – P. 79–81.
43. Evolution of serum gammaglutamyl transpeptidase activity in treated hyperthyroid and hypothyroid patients / P. Couzigou [et al.] // Gastroent Clin Biol. – 1984. – Vol. 8, № 5. – P. 458–463.
44. Demori, I. Triiodothyronine decreases gamma-glutamyltranspeptidase expression in cultured rat hepatocytes // I. Demori, C. Bottazzi, E. Fugassa // Horm Metab Res. – 1995. – Vol. 27, № 5. – P. 221–225.
45. Thyroid hormone modulates the expression of rat liver gamma-glutamyltranspeptidase activity / A. Voci [et al.] // Horm Metab Res. – 1994. – Vol. 26, № 3. – P. 133–136.
46. Dasgupta, A. Thyroid hormone stimulates γ-glutamyl transpeptidase in the developing rat cerebra and in astroglial cultures / A. Dasgupta, S.Das, P. K. Sarkar // J of neurosci res. – 2005. – Vol. 82, № 6. – P. 851–857.
47. Messaraha, M. Influence of thyroid dysfunction on liver lipid peroxidation and antioxidant status in experimental rats / M. Messaraha // Experim and toxicol pathol. – 2010. – Vol. 62, № 3. – P. 301–310.
48. Меерсон, Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика / Ф.З. Меерсон. – М. : Наука, 1981. – 278 с.
49. Hydrogen peroxide produced during gamma-glutamyl activity is involved in prevention of apoptosis and maintenance of cell proliferation in U937 cells / D. Bello [et al.] // Faseb J. – 1999. – № 13. – P. 69–79.

Поступила 25.02.2013 г.
Принята в печать 06.12.2013 г.

Сведения об авторах:
Евдокимова О.В. – аспирант кафедры нормальной физиологии УО «ВГМУ»;
Городецкая И.В. – д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии УО «ВГМУ».

Адрес для корреспонденции: 210023, г.Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра нормальной физиологии. Тел.раб.: 8 (0212) 37-07-54– Городецкая Ирина Владимировна.