

**В. В. Зенькович**

**О РОЛИ МОЧЕВИНЫ И L-АРИГИНИН-NO СИСТЕМЫ В РЕГУЛЯЦИИ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА ПРИ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКЕ**

**Научный руководитель д-р мед. наук, проф., чл.-кор. Ф. И. Висмонт**

*Кафедра патологической физиологии,*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

**Резюме.** Проведено комплексное исследование роли мочевины и L-аргинин-NO-системы печени в патогенезе эндотоксической лихорадки и механизмах эндогенного антипиреза. Установлено, что повышение уровня мочевины в крови является одним из факторов эндогенного антипиреза. L-аргинин-NO система участвует в изменениях мочевинообразовательной функции печени, формировании терморегуляторных реакций организма на действие бактериального эндотоксина.

**Ключевые слова:** монооксид азота, мочевина, эндотоксическая лихорадка, L-аргинин-NO-система.

**Resume.** A comprehensive study of the role of urea and L-arginine-NO-system of the liver in the pathogenesis of endotoxin fever and of endogenous antipyretic mechanisms was conducted. It was found that increase of the urea level in the blood is one of the factors of endogenous temperature reduction. L-arginine-NO system is involved in changes of the liver function Associate d with the formation of urea and formation of the thermoregulatory body reactions to bacterial endotoxin.

**Keywords:** nitric oxide, urea, endotoxin fever, L-arginine-NO system.

**Актуальность.** Известно, что мочевина и аминокислота L-аргинин играют важную роль в процессах терморегуляции организма [1, 2]. Известно также, что от функциональной активности печени зависит выраженность эндотоксинемии, а также уровень мочевины в крови [3]. В то же время, значимость мочевины в процессах теплообмена и регуляция активности L-аргинин-NO системы при эндотоксической лихорадке остается недостаточно изученной.

**Цель:** Выяснить роль мочевины крови и L-аргинин-NO-системы печени в процессах теплообмена при эндотоксической лихорадке.

**Задачи:**

1. Исследовать температуру тела у животных в условиях действия в организме бактериальных эндотоксинов.

2. Установить характер изменений уровня мочевины в плазме крови у животных в условиях эндотоксической лихорадки.

3. Исследовать системные действия мочевины в условиях бактериальной эндотоксинемии у крыс и кроликов.

4. Выяснить особенности изменения температуры тела и уровня мочевины в крови после введения L-аргинина солянокислого в условиях эндотоксической лихорадки.

5. Изучить влияние ингибитора NO-синтазы метилового эфира N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина на процессы терморегуляции.

**Материал и методы.** Опыты выполнены на ненаркотизированных белых крысах обоего пола массой 160 – 180 г и кроликах обоего пола массой 2,5 – 3 кг. Для создания общепринятой модели эндотоксиновой лихорадки использовался бактериальный липополисахарид (ЛПС) – эндотоксин E. Coli (серия 0111:B4 Sigma, США), который вводили однократно: крысам – внутривенно в дозе 5 мкг/кг, кроликам – в краевую вену уха в дозе 5 мкг/кг.

Для выяснения роли NO в исследуемых процессах использовался неселективный блокатор NOS – L-NAME (метилловый эфир N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина).

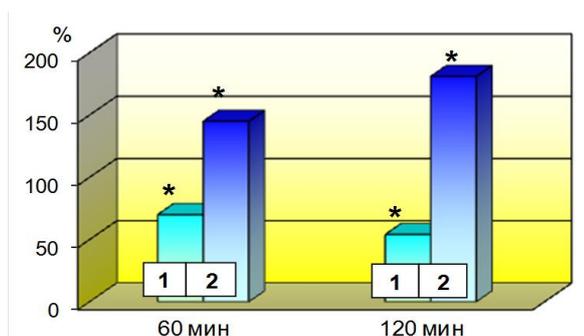
Мочевину и L-аргинин солянокислый вводили кроликам внутривенно в краевую вену уха в дозах 0,3 г/кг и 50 мг/кг соответственно. Концентрацию мочевины в плазме крови определяли фотометрически с помощью стандартных наборов. Количественное содержание свободных аминокислот в плазме крови определяли методом жидкостной хроматографии.

Активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови и печени оценивали по содержанию в них таких продуктов, как малоновый диальдегид (МДА), диеновые конъюгаты (ДК) и основания Шиффа (ОШ).

Температуру тела измеряли электротермометром ТПЭМ-1.

В работе применялся метод вариационной биологической статистики обработки данных с использованием t-критерия Стьюдента

**Результаты и их обсуждение.** На первом этапе исследований изучена температура тела у животных в условиях действия в организме ЛПС. В экспериментах, выполненных на крысах и кроликах, установлено, что действие ЛПС сопровождается повышением температуры тела у животных. Выявлено также, что действие ЛПС в организме животных сопровождается повышением концентрации мочевины в плазме крови у кроликов на 39,8% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) через 60 мин и на 77,8% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) через 120 мин. после инъекции и снижением уровня аминокислоты аргинина на 57,7% и 42,3% (с  $0,26 \pm 0,016$  до  $0,11 \pm 0,024$  и  $0,15 \pm 0,026$  ммоль/л) соответственно (рисунок 1).



**Рисунок 1** - Изменение уровня свободного аргинина (1) и мочевины (2) в плазме крови у кроликов через 60 и 120 минут после внутривенного введения ЛПС (0,5 мкг/кг) по

сравнению с контролем (введение апиrogenного физ. раствора). \* – Изменения достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,05$ ).

В опытах установлено, что наряду с повышением концентрации мочевины в плазме крови при действии ЛПС у крыс и кроликов наблюдается активация процессов ПОЛ в крови и печени.

Таким образом, при эндотоксической лихорадке, наряду с повышением температуры тела, у крыс и кроликов имеет место повышение концентрации мочевины и снижение уровня свободного аргинина в плазме крови, а также активация процессов ПОЛ в крови и печени. Эти данные согласуются с результатами исследований, проведенных на культурах клеток, в которых после обработки бактериальным ЛПС увеличивалось образование мочевины, что, по-видимому, обусловлено повышением активности аргиназы [4,5].

Принимая во внимание данные о том, что мочевина может оказывать стабилизирующее действие на мембраны, инактивировать протеолитические ферменты [6], и, тем самым, препятствовать усилению протеолиза, можно было предположить, что изменения уровня мочевины крови, а именно ее повышение, имеет важное значение в регуляции температуры тела при лихорадке. С этой целью на втором этапе исследований изучены особенности изменения температуры тела, уровня L-аргинина и процессов ПОЛ в крови у животных после введения им в кровотоки мочевины и L-аргинина солянокислого на высоте эндотоксической лихорадки.

Опыты показали, что введение в кровотоки кроликам мочевины (0,3 г/кг) на высоте подъема температуры тела при эндотоксической лихорадке (через 60 и 90 мин от момента инъекции ЛПС) приводило к её ослаблению. Так, через 15 и 30 мин от момента введения мочевины, на высоте лихорадки (60 мин), ректальная температура снижалась по сравнению с контролем на  $0,9 \pm 0,08^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ,  $n=12$ ) и  $0,8 \pm 0,10^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ,  $n=12$ ) соответственно. У крыс внутрибрюшинная инъекция мочевины (3,0 г/кг) за 30 мин до инъекции ЛПС полностью устраняла развитие лихорадочной реакции.

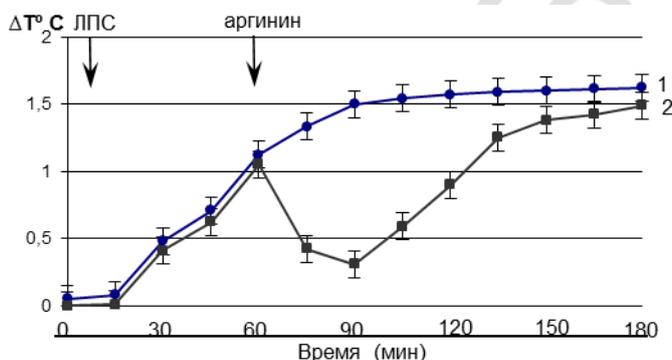
Установлено также, что внутривенное введение мочевины (0,3 г/кг) через 30 мин. после инъекции приводило у лихорадящих кроликов к повышению уровня L-аргинина и сопровождалось менее выраженными изменениями процессов ПОЛ в крови и печени.

Таким образом, мочевина, наряду с антипиретическим действием, в условиях эндотоксической лихорадки вызывает повышение уровня L-аргинина и ослабляет интенсивность процессов ПОЛ в плазме крови.

Учитывая, что расщепление L-аргинина является последним этапом и основным субстратом для образования мочевины, было изучено влияние введения в кровотоки животным этой аминокислоты.

Опыты показали, что введение в краевую вену уха L-аргинина солянокислого

(50 мг/кг), спустя 60 и 90 мин после инъекции ЛПС предотвращало дальнейшее повышение температуры тела, оказывало выраженный антипиретический эффект и вызывало повышение уровня мочевины в крови (рисунок 2).



**Рисунок 2** - Изменение температуры тела у кроликов после введения в кровотоки L-аргинина солянокислого в дозе 50 мг/кг (2) в условиях действия ЛПС (0,5 мкг/кг). Стрелка – момент введения препаратов.

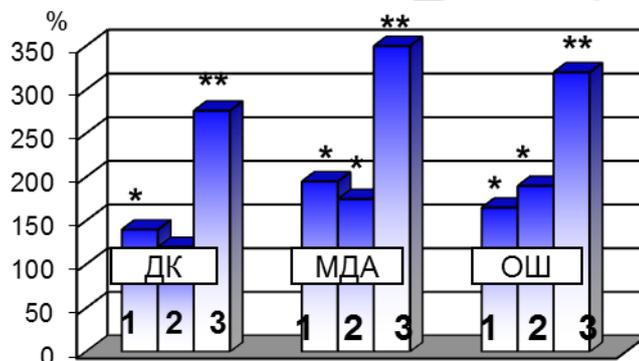
Учитывая, что действие в организме бактериальных эндотоксинов вызывает экспрессию NO-синтазы, а, следовательно, образование больших количеств NO [7], на третьем этапе исследований изучено изменение температуры тела при действии ЛПС в условиях угнетения активности L-аргинин-NO системы.

Для этого животным в кровотоки предварительно вводили ингибитор L-аргинин-NO системы - метиловый эфир N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина (L-NAME).

В опытах на крысах и кроликах установлено, что лихорадочная реакция, вызываемая бактериальным эндотоксином, ослабляется предварительным введением в организм L-NAME в дозе 25 мг/кг.

Выявлено также, что действие ЛПС в организме у крыс, предварительно получивших внутрибрюшинно L-NAME (25 мг/кг) сопровождается значительным повышением уровня мочевины и более выраженными изменениями в процессах ПОЛ в крови и печени.

Обнаружено, что через 180 мин. после инъекции ЛПС (5,0 мкг/кг) действие бактериального эндотоксина в организме животных (n=7) в этих условиях сопровождается более значимым по сравнению с контролем (внутрибрюшинное введение физ. раствора и ЛПС) повышением в плазме крови концентрации мочевины на 22,8% (p<0,05), ДК – на 139,5% (p<0,05), МДА – на 102,9% (p<0,05), ОШ – на 71,3% (p<0,05) (рисунок 3.5). В печени в этих условиях возрастало только содержание ДК на 32,1% (p<0,05) (рисунок 3).



**Рисунок 3** - Изменение содержания диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) и оснований Шиффа (ОШ) в плазме крови у крыс (в % по отношению к контролю -) после внутрибрюшинного введения 1- L-NAME (25 мг/кг); 2- ЛПС (5 мкг/кг); 3 - ЛПС (5 мкг/кг) в условиях действия L-NAME (25 мг/кг). \* – Изменения достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, полученные данные дали основание заключить, что активность L-аргинин-NO системы может влиять на процессы мочевинообразования. Установлено, что развитие эндотоксиновой лихорадки у крыс и кроликов в условиях действия в организме ингибитора NO-синтазы L-NAME сопровождается усилением процессов ПОЛ, увеличением содержания мочевины в плазме крови и не столь значительным повышением температуры тела. Ослабление лихорадочной реакции на действие бактериального эндотоксина в условиях действия ингибиторов NOS может быть связано как со снижением эффектов NO на процессы терморегуляции, так и с повышением содержания мочевины в этих условиях.

#### **Выводы:**

1. Мочевина и L-аргинин-NO система печени у крыс и кроликов имеют важное значение в механизмах регуляции температуры тела в условиях действия в организме бактериального эндотоксина.

2. Повышение уровня мочевины в крови является одним из факторов эндогенного антипиреза. Мочевина, введенная в кровоток, понижает температуру тела у кроликов в условиях эндотоксиновой лихорадки.

3. L-аргинин-NO система участвует в изменениях мочевинообразовательной функции печени, формировании терморегуляторных реакций организма на действие бактериального эндотоксина.

4. Развитие эндотоксиновой лихорадки у крыс в условиях действия в организме веществ, ингибирующих NO-синтазу, сопровождается более значительным повышением уровня мочевины в крови и менее выраженным подъемом температуры тела.

*V. V. Zenkovich*

**ABOUT THE SIGNIFICANCE OF UREA AND L-ARGININ-NO SYSTEM  
IN THE BODY TEMPERATURE REGULATION DURING ENDOTOXIN FEVER**

*Tutor Professor F. I. Vismont*

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

**Литература**

1. Гурин А. В. Терморегуляторные процессы у крыс в условиях блокады синтеза монооксида азота в центральной нервной системе / Под ред. В. Н. Гурина // В кн. Функциональная роль монооксида азота и пуринов. - Мн.: Бизнесофсет, 2001. - С. 37-39.
2. Gerstberger R. Nitric oxide and body temperature control / Gerstberger R // News Physiol. Sci. - 1999. - Vol. 14. - № 2. - P. 30-36.
3. Тэйлор Б. С., Аларсон Л. Х., Биллиар Т. Р. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции / Тэйлор Б.С. // Биохимия. - 1998. - № 7. - С. 905-923.
4. Getz G. S., Reardon C. A. Arginine/Arginase NO NO NO / Getz G.S. // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2006, - Vol. 26. – P. 237-240.
5. Mori M., Gotoh T. Arginine Metabolic Enzymes, Nitric Oxide and Infection / Mori M. // J. Nutr. 2004. - Vol. 134. - P. 2820-2825.
6. Гершенович З. С., Векслер Я. И. Защитный эффект аргинина при гипотермии / Гершенович З. С. // Биохимия. – 1963. – Т. 28. - № 6. – С. 937–940.
7. Duval D. L., Miller D. R., Collier J., Billings R. E. Characterization of hepatic nitric oxide synthase: identification as the cytokine-inducible form primarily regulated by oxidants / Duval D. L. // Mol. Pharmacol. - 1996. - Vol. 50. - № 2. - P. 277-284.