

*В.В. Зенькович*

## **ИЗМЕНЕНИЕ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ, УРОВНЯ МОЧЕВИНЫ В КРОВИ И ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА ПРИ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКЕ В УСЛОВИЯХ УГНЕТЕНИЯ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ**

*Научный руководитель: д-р мед. наук, проф., чл.-корр. НАНБ Ф.И. Висмонт*

*Кафедра патологической физиологии,*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

**Резюме.** Изучено изменение детоксикационной функции печени, уровня мочевины в крови и температуры тела при эндотоксической лихорадке в условиях угнетения аргиназы печени. Установлена зависимость активности аргиназы печени и уровня мочевины в крови от температуры тела, активности процессов детоксикации и формирования терморегуляторных реакций организма у крыс и кроликов при действии на организм животных бактериальных эндотоксинов.

**Ключевые слова:** аргиназа, мочевина, детоксикация, липополисахарид, эндотоксическая лихорадка.

**Resume.** A change in detoxication function of liver, the level of blood urea and body temperature with endotoxin fever in conditions of supression of liver arginase has been studied. The dependence of the activity of liver arginase and the level of blood urea on body temperature, the activity of detoxication processes and the formation of thermoregulatory reactions in rats and rabbits with the action of bacterial endotoxins on the organism of animals was established.

**Keywords:** arginase, urea, detoxification, lipopolysaccharide, endotoxin fever.

**Актуальность.** К настоящему времени накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих о взаимосвязи между функциональным состоянием печени и процессами регуляции температуры тела [1, 2, 3]. Однако значимость аргиназы печени и мочевины крови в процессах детоксикации и формировании терморегуляторных реакций организма при бактериальной эндотоксинемии изучена недостаточно.

**Цель:** выяснить изменение детоксикационной функции печени, уровня мочевины в крови и температуры тела при эндотоксической лихорадке в условиях угнетения аргиназы печени.

### **Задачи:**

1. Исследовать температуру тела и процессы детоксикации у животных в условиях эндотоксической лихорадки.

2. Изучить характер изменений активности аргиназы печени, уровня мочевины и нитрат/нитритов в плазме крови у крыс при эндотоксической лихорадке.

3. Выяснить особенности изменения температуры тела, уровня мочевины, нитрат/нитритов в плазме крови, а также процессов детоксикации у крыс и кроликов при эндотоксической лихорадке в условиях угнетения активности аргиназы печени и NO-синтазы.

4. Определить влияние введения в организм мочевины и L-аргинина на температуру тела, уровень аргинина в плазме крови у крыс.

**Материал и методы.** Эндотоксическую лихорадку моделировали с использованием эндотоксина E.Coli (ЛПС), который вводился однократно: крысам – внутривентриально (5 мкг/кг), кроликам – внутривенно (в/в) (0,5 мкг/кг). Применялся ингибитор аргиназы L-валин и неселективный блокатор NO-синтазы – метиловый

эфир N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина (L-NAME). В плазме крови определяли содержание мочевины, уровень NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и свободных аминокислот [4, 5]. Активность аргиназы печени оценивали спектрофотометрически, а содержание мочевины в плазме крови – фотометрически. О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), содержанию в плазме крови фракции СМ и СТК. Определение содержания СМ производили методом кислотно-этанольного осаждения, разработанным В.М. Мойным с соавт. [4], СТК-способом, предложенным О.А. Радьковой с соавт. [5]. О ПНС у крыс (гексенал 100,0 мг/кг, внутривентриально) судили по времени нахождения животных в боковом положении [6]. Измерение ректальной температуры у крыс проводилось электротермометром ТПЭМ-1. Все полученные цифровые данные, обрабатывались общепринятыми методами статистического анализа с использованием критерия Стьюдента (t).

**Результаты и их обсуждение.** Опыты показали, что внутривентриальное введение ЛПС крысам (n=12) приводило к медленному нарастанию температуры тела и к слабовыраженной гипертермии. Так, температура тела повышалась на 1,1°C (p<0,05) и 1,0°C (p<0,05) через 120 и 180 мин. после введения экзопирогена. Инъекция ЛПС кроликам (n=9) в кровоток приводила к быстрому нарастанию ректальной температуры и к выраженной гипертермии (на 0,6°C (p<0,05), 1,2°C (p<0,05) и 1,5°C (p<0,05) через 30, 60 и 120 мин. соответственно. Установлено, что при эндотоксической лихорадке, наряду с повышением температуры тела, у крыс и кроликов повышается активность процессов детоксикации, процессов ПОЛ в крови и печени и снижается ТПА плазмы крови.

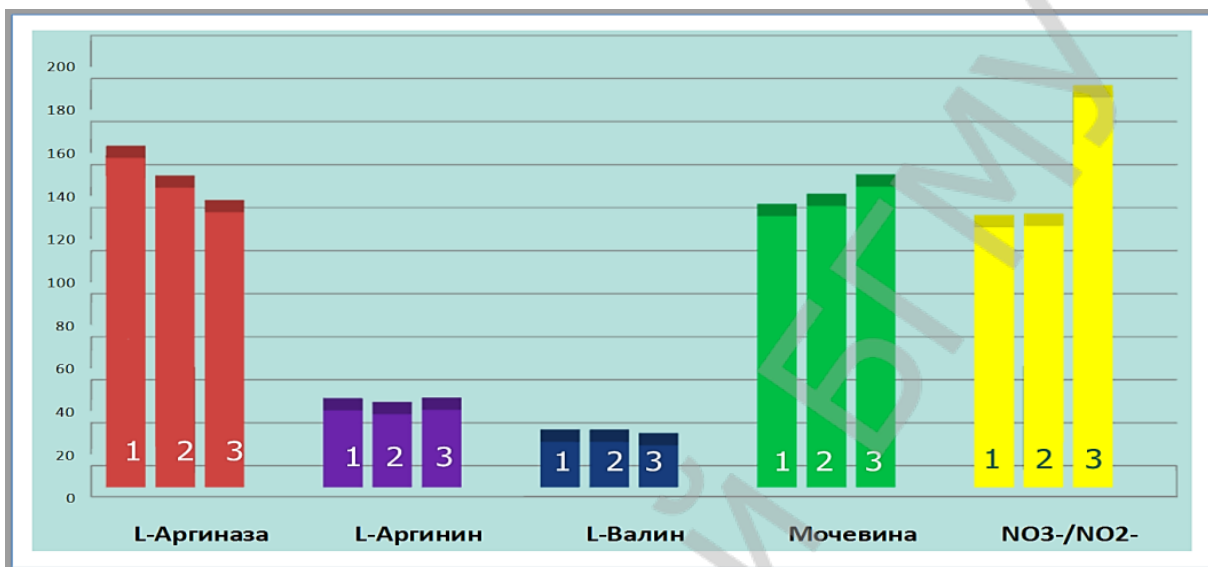
Принимая во внимание роль аргиназы печени в регуляции синтеза монооксида азота в гепатоцитах и уровня мочевины в крови, изучены характер изменений активности аргиназы печени, уровня мочевины, а также содержания NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в плазме крови у крыс при эндотоксической лихорадке. Опыты, выполненные на крысах, показали, что действие ЛПС у крыс через 120, 180 и 330 мин после введения в организм экзопирогена приводило к повышению активности аргиназы в печени на 53,1% (n=8), 39,2% (n=7) и 23,3% (n=7) (p<0,05) соответственно, по сравнению с контролем. Активность аргиназы в печени у крыс контрольной группы через 120, 180 и 330 мин после внутривентриального введения физраствора составляла 5,6±0,27 (n=7), 5,0±0,22 (n=7) и 5,4±0,29 (n=7) мкмоль мочевины/г сырой ткани·час.

Выявлено, что действие ЛПС в организме у крыс через 120, 180 и 330 мин после инъекции экзопирогена сопровождается повышением на 26,0% (n=8, p<0,05), 30,7% (n=8, p<0,05) и 39,8% (n=7, p<0,05) у опытных животных по сравнению с контролем (введение физраствора) концентрации мочевины в плазме крови, которая составляла соответственно 4,4±0,50; 5,1±0,60 и 5,2±0,43 мМоль/л (рисунок 1). При эндотоксической лихорадке, через 120 мин после инъекции ЛПС, в плазме крови у крыс снижалось на 32,4% содержание аргинина, которое составляло 0,164±0,013 мМоль/л (рисунок 1).

Внутривенное введение ЛПС, одновременно с ростом ректальной температуры, вызывало повышение 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 снижение уровня аминокислоты аргинина на 57,7% и 42,3% (с 0,26±0,016 до

0,11±0,024 и 0,15±0,026 мМоль/л) соответственно.

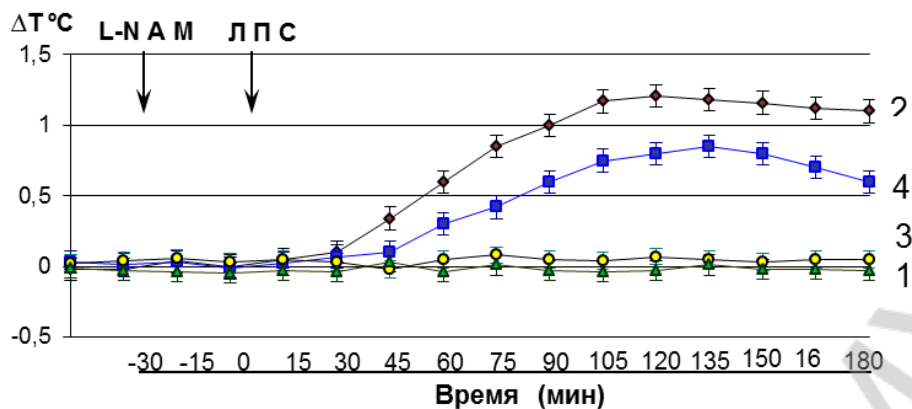
Действие ЛПС у крыс (n=7) через 120 и 180 мин после введения экзопирогена приводило к повышению уровня  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в плазме крови животных на 28,2 % ( $p<0,05$ ) и 58,4 % ( $p<0,05$ ) и составляло соответственно 6,8±0,1 и 9,5±1,27 мкМоль/л (рисунок 1).



**Рисунок 1** – Изменение активности L-аргиназы, уровней свободного аргинина, L-валина,  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ , концентрации мочевины в плазме крови у крыс после внутрибрюшинного введения ЛПС (5 мкг/кг) через 120 мин (1), 180 мин (2) и 330 мин (3)

С целью выяснения значимости аргиназы печени в регуляции температуры тела использовался ингибитор аргиназы L-валин (100 мг/кг), который вводили за 30 мин до начала опыта, крысам – внутрибрюшинно, а кроликам – внутривенно. Опыты показали, что депрессия аргиназы печени L-валином в условиях эндотоксиновой лихорадки препятствует активации детоксикационной функции печени и повышению температуры тела.

Учитывая, что действие в организме бактериальных эндотоксинов вызывает экспрессию NO-синтазы и образование больших количеств NO, изучен характер изменения  $T^{\circ}\text{C}$  тела при действии ЛПС в условиях угнетения активности L-аргинин-NO системы. В опытах на крысах и кроликах установлено, что лихорадочная реакция, вызываемая ЛПС, ослабляется предварительным введением в кровоток (за 30 мин до инъекции ЛПС) L-NAME (25 мг/кг). В экспериментах на крысах выявлено, что действие ЛПС (5 мкг/кг) в условиях предварительного введения в организм животных L-NAME (25 мг/кг) сопровождалось ослаблением лихорадочной реакции (рисунок 2). Так, ректальная температура у крыс, получивших только ЛПС повышалась на 1,2°C и 1,1°C через 120 и 180 мин. после инъекции, в то время как у животных, которые получили ЛПС в условиях действия L-NAME наблюдалось повышение температуры в указанные промежутки времени после введения эндотоксина всего лишь на 0,8°C и 0,6°C.



**Рисунок 2** – изменение ректальной температуры у крыс после внутрибрюшинного введения: 1 – физ. раствора, 2 – ЛПС (5 мкг/кг), 3 – L-NAME (25 мг/кг), 4 – ЛПС (5 мкг/кг) в условиях действия L-NAME (25 мг/кг).

**Примечание** - ↓ (стрелка) – момент введения препаратов

У кроликов через 120 мин после инъекции ЛПС (0,5 мкг/кг) в условиях предварительного введения в кровоток L-NAME, ректальная температура повышалась с  $38,8 \pm 0,12^\circ\text{C}$  до  $39,3 \pm 0,128^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ,  $n=6$ ), в то время как у животных контрольной группы ( $n=7$ ) с  $38,6 \pm 0,10^\circ\text{C}$  до  $40,3 \pm 0,11^\circ\text{C}$ , т.е. развитие эндотоксической лихорадки в условиях действия ингибиторов NOS характеризовалось меньшей скоростью нарастания и меньшими значениями температуры тела.

Выявлено, что действие ЛПС в организме у крыс ( $n=7$ ), предварительно (за 30 мин. до инъекции экзопирогена) получивших внутрибрюшинно L-NAME (25 мг/кг) сопровождается значительным повышением уровня мочевины и более выраженными изменениями в процессах детоксикации, а также ПОЛ в крови и печени.

Учитывая, что гидролитическое расщепление аминокислоты аргинина является последним этапом образования мочевины, в экспериментах на кроликах было изучено влияние введения в кровоток L-аргинина. Опыты, выполненные на кроликах, показали, что введение в краевую вену уха L-аргинина солянокислого (50 мг/кг), спустя 60 и 90 мин после инъекции ЛПС, не только предотвращало дальнейшее повышение температуры тела, но и оказывало выраженный антипиретический эффект. Снижение ректальной температуры у животных на высоте лихорадки (через 15 и 30 мин после введения аминокислоты) составляло  $0,8^\circ\text{C}$  и  $0,7^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ,  $n=6$ ). Антипиретический эффект аргинина солянокислого в значительной мере был обусловлен усилением у кроликов процессов теплоотдачи и усилением теплопродукции.

В опытах на кроликах также установлено, что введение L-аргинина солянокислого через 30 мин. после инъекции в кровоток приводит не только к снижению температуры тела у лихорадящих животных, но и к повышению уровня мочевины в крови. Уровень мочевины в крови повышался на 29,8% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) и составлял  $5,4 \pm 0,60$  ммоль/л.

Принимая во внимание данные о том, что мочевина оказывает стабилизирующее действие на мембраны, инактивирует протеолитические ферменты, препятствует усилению протеолиза, можно было предположить, что повышение уровня мочевины в крови при эндотоксической лихорадке может иметь значение в регуляции  $T^\circ\text{C}$  тела.

Опыты показали, что введение в кровоток кроликам мочевины в дозе 0,3 г/кг на высоте подъема  $T^\circ\text{C}$  тела приводило к ослаблению лихорадки. 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  $0,8 \pm 0,10^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ,  $n=12$ ). У крыс внутрибрюшинное введение мочевины в дозе 3,0 г/кг за 30 мин до инъекции ЛПС полностью устраняло развитие лихорадочной реакции. Установлено также, что внутривенное введение мочевины (0,3 г/кг) через 30 мин. после инъекции приводило у лихорадящих кроликов (90 мин. действия ЛПС) к повышению уровня аргинина на 29,3% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ).

#### **Выводы:**

1. Температура тела и активность процессов детоксикации у крыс и кроликов при эндотоксической лихорадке зависят от уровня мочевины в крови и активности аргиназы печени.

2. Действие эндотоксина в организме приводит к повышению температуры тела, уровня мочевины,  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в плазме крови и процессов детоксикации у экспериментальных животных.

3. Депрессия аргиназы печени препятствует повышению температуры тела и развитию характерных изменений в процессах детоксикации на действие ЛПС.

4. Повышение уровня мочевины в крови является фактором эндогенного антипиреза, а также ослабляет характерные для действия бактериального эндотоксина изменения содержания L-аргинина и  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в плазме крови.

5. Взаимодействие цикла синтеза мочевины с циклом синтеза NO в печени имеет значение в процессах детоксикации и терморегуляции при бактериальной эндотоксинемии. Утечка аргинина из цикла синтеза мочевины в реакции синтеза NO в печени имеет важное значение в патогенезе эндотоксической лихорадки, а усиление использования аргинина в процессах образования мочевины – в механизмах эндогенного антипиреза.

*V.V. Zenkovich*

#### **A CHANGE OF THE LIVER DETOXICATION FUNCTION, LEVEL OF BLOOD UREA AND BODY TEMPERATURE WITH ENDOTOXINIC FEVER IN CONDITIONS OF LIVER ARGINASE SUPPRESSION**

*Tutors: professor F. I. Vismont,*

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

#### **Литература**

1. Висмонт, А.Ф. Роль аргиназы печени и мочевины крови в процессах теплообмена, детоксикации, формирования тиреоидного статуса и тепловой устойчивости / А.Ф. Висмонт, Ф.И. Висмонт // Весці Нацыянальнай Акадэміі Навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. - 2014. - N 2. - С. 48-55.

2. Гурин, В.Н. Терморегуляция и биологически активные вещества плазмы крови / В.Н. Гурин, А.В.Гурин А.В. // - Минск. 2004.

3. Гершенович, З.С., Защитный эффект аргинина при гипотермии / З.С. Гершенович, Я.И. Векслер // Биохимия. - 1963. - Т. 28. - № 6. - С. 937-940.

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. Moshage, H. Nitrite and nitrate determinations in plasma: A critical evaluation / H. Moshage [et. all]. // Clin. Chem.-1995. - Vol.41, N 6 - P.892-896.

6. Парк, Д.В. Биохимия чужеродных соединений / Д.В. Парк. - М. : Медицина, 1973. - 287 с.