

*Ф.И. Висмонт, В.А. Касан, Т.В. Короткевич, Н.А. Степанова*

**Участие адренореактивных систем и опиоидных пептидов гипоталамуса в регуляции и активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и температуры тела при эндотоксической лихорадке**

*Белорусский государственный медицинский университет*

В опытах на крысах и кроликах показано, что действие в организме бактериального липополисахарида пирогенала приводит к повышению содержания  $\beta$ -эндорфина в гипоталамусе и снижению активности центральных  $\alpha$ -адренореактивных систем, что сопровождается активацией секреции АКТГ и развитием лихорадочной реакции. Установлено, что повышение содержания  $\beta$ -эндорфина в гипоталамусе, приводящее к снижению активности центральных адренореактивных систем, является важным патогенетическим фактором развития эндотоксической лихорадки. Ключевые слова: эндотоксическая лихорадка, адренореактивные системы, опиоидные пептиды, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система.

Исследования последних десятилетий убедительно продемонстрировали ведущую роль моноаминергических систем мозга в регуляции процессов жизнедеятельности и поддержании температурного гомеостаза [1, 6, 10, 12, 14, 16]. Вместе с тем, участие адренореактивных систем гипоталамической области мозга – центра регуляции вегетативных функций и особенности их взаимодействия с опиоидными пептидами и компонентами гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) в центральных механизмах регуляции температуры тела в норме и патологии остаются слабо изученными и во многом не ясными.

Целью исследования явилось выяснение механизмов и особенностей изменения активности адренореактивных систем и содержания опиоидных пептидов гипоталамической области мозга и их роли в регуляции эффекторных процессов поддержания температуры тела и активности ГГНС при эндотоксической лихорадке.

Материал и методы

Опыты выполнены на 80 белых крысах обоего пола массой 160 – 180 г и на 38 кроликах массой 2,5 – 3,0 кг. Животные получали полноценный рацион, и использовались в экспериментах после 1 – 2 недельной адаптации к условиям вивария. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20 – 22°C, что находится в пределах термонейтральной зоны для крыс и кроликов [3, 7].

В опытах на крысах и кроликах использовалась известная экспериментальная модель эндотоксической лихорадки с введением бактериального липополисахарида (ЛПС) пирогенала («МЕДГАМАЛ», Россия). Пирогенал вводили кроликам однократно в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг, крысам – внутривентриально в дозе 5,0 мкг/кг.

Для изменения активности центральных нейромедиаторных систем мозга и изучения их роли в формировании терморегуляторных реакций использовались синаптически активные вещества, которые вводили крысам под местной анестезией в правый боковой желудочек мозга в объеме 20 мкл; кроликам – в полость правого бокового или III желудочка через вживленные химиотроды в объеме 50 мкл. С этой целью использовали  $\alpha$ -адреномиметики клофелин, мезатон;  $\beta$ -адреномиметик – изопротеренол («Withrop», США), адреноблокаторы – феноксбензамин и пропранолол («Ayrest Lab's», США). Процессы химической терморегуляции изучали по количеству потребляемого ими кислорода и уровню неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) в плазме крови. Потребление кислорода определяли камерным методом [2]. Реакцию поверхностных сосудов ушной раковины у кроликов и кожи основания хвоста у крыс, как специфические процессы теплоотдачи, оценивали по изменению температуры кожи уха или корня хвоста. Температуру кожи и ректальную температуру измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1.

Взятие крови и ткани мозга у животных проводилось за возможно минимальное время после декапитации. Сыворотку или плазму использовали для определения содержания НЭЖК по методу [8] и уровня гормонов. Выделение гипоталамуса проводили по методу J.Glowinsky et al. [9].

Содержание катехоламинов норадреналина (НА) и дофамина (ДА) в гипоталамусе определяли спектрофлуориметрическим методом [11]. Скорость оборота норадреналина (НА) в гипоталамусе определяли по скорости убыли или прироста его содержания в гипоталамусе после введения животным ингибитора тирозингидроксилазы  $\alpha$ -метил- $p$ -тирозина или ингибитора монооксидоксидазы паргилина («Regis», США). Содержание нейропептидов и гормонов определяли радиоиммунным методом с помощью наборов различных фирм:  $\beta$ -эндорфина – «DRG International Inc.», мет-энкефалина – «Immuno Nuclear Corpor.» (США); АКТГ – «Sorin Biomedica» (Италия), кортизола-ИБОХ НАНБ. Все полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики.

#### Результаты и обсуждение

Внутрибрюшинное введение пирогенала (5 мкг/кг) крысам ( $n=12$ ) приводило к медленному нарастанию температуры тела и к слабо выраженной гипертермии. Так, температура тела повышалась на 1,10С и 1,00С через 120 и 180 мин. после введения препарата. Внутривенная инъекция пирогенала (0,5 мкг/кг) кроликам ( $n=8$ ) приводила к быстрому нарастанию ректальной температуры и к выраженной гипертермии (на 0,5; 1,2 и 1,50С через 30, 60 и 120 мин., соответственно). Изучение процессов теплообмена при эндотоксиновой лихорадке показало, что действие пирогенала сопровождается сужением сосудов кожи и торможением теплоотдачи. Так, у кроликов ( $n=8$ ) действие пирогенала через 60 мин. после инъекции сопровождалось понижением температуры уха на 2,10С.

При эндотоксиновой лихорадке как у крыс, так и у кроликов возрастает активность ГНС. Установлено, что через 120 мин. после инъекции ЛПС

уровень АКТГ в плазме крови крыс повышался. Так, у интактных крыс концентрация АКТГ в плазме крови была равна  $129,0 \pm 8,23$  нг/л; после внутрибрюшинного введения бидистиллированной воды (120 мин.) составляла  $407,2 \pm 35,8$  нг/л, а через 120 мин. после внутрибрюшинного введения пирогенала –  $808,1 \pm 91,7$  нг/л ( $n=8$ ;  $p < 0,01$ ).

В условиях действия ЛПС ( $0,5$  мкг/кг) уровень АКТГ и кортизола в крови у кроликов также возрастал. Через 60 и 120 мин после внутривенного введения ЛПС концентрация АКТГ и кортизола повышалась до  $183,6\%$  и  $170,1\%$  (через 60 мин.) и до  $278,7\%$  и  $305,0\%$  через 120 мин. по сравнению с уровнем гормонов в плазме крови у животных контрольной группы (табл.1).

Таблица 1

Изменение содержания АКТГ, кортизола в плазме крови и температуры тела у кроликов после внутривенного введения пирогенала в дозе  $0,5$  мкг/кг ( $M \pm m$ ).

Группа животных	АКТГ (нг/л)	Кортизол (мкг/л)	Температура тела °С
<b>Контрольная</b>			
после введения бидист. воды			
через: 30 мин ( $n=8$ )	$1082,9 \pm 57,06$	$105,5 \pm 7,95$	$38,8 \pm 0,10$
60 мин ( $n=7$ )	$927,9 \pm 61,48$	$75,7 \pm 5,48$	$38,8 \pm 0,12$
120 мин ( $n=7$ )	$881,9 \pm 156,37$	$62,6 \pm 1,83$	$38,7 \pm 0,11$
<b>Опытная</b>			
после введения пирогенала			
через: 30 мин ( $n=8$ )	$1032,8 \pm 30,91$	$132,7 \pm 13,72$	$39,3 \pm 0,08^*$
60 мин ( $n=7$ )	$1606,6 \pm 121,72^*$	$173,1 \pm 14,60^*$	$39,8 \pm 0,10^*$
120 мин ( $n=7$ )	$2630,9 \pm 354,93^*$	$190,4 \pm 13,08^*$	$40,3 \pm 0,11^*$

\*-Изменения достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

Установлено, что введение кроликам ( $n=7$ ) бактериального эндотоксина приводило через 60 мин. после инъекции к снижению содержания НА и ДА в гипоталамусе на  $30,7\%$  и  $67,7\%$ , соответственно ( $p < 0,05$ ) (табл.2). Скорость оборота НА при этом не изменялась.

Таблица 2

Изменение содержания ДА, НА в гипоталамусе и температуры тела у кроликов после внутривенного введения пирогенала в дозе  $0,5$  мкг/кг ( $M \pm m$ ).

Группа животных	Дофамин (мкг/г ткани)	Норадреналин (мкг/г ткани)	Температура тела °С
<b>Контрольная</b>			
интактные ( $n=7$ )			
	$1,08 \pm 0,175$	$1,30 \pm 0,115$	$38,8 \pm 0,08$
после введения бидист. воды			
через: 30 мин ( $n=8$ )	$0,95 \pm 0,169$	$1,23 \pm 0,100$	$38,8 \pm 0,10$
60 мин ( $n=7$ )	$1,02 \pm 0,144$	$1,37 \pm 0,121$	$38,8 \pm 0,12$
<b>Опытная после введения пирогенала</b>			
через: 30 мин ( $n=8$ )	$0,36 \pm 0,068^*$	$1,01 \pm 0,105$	$39,3 \pm 0,08^*$
60 мин ( $n=7$ )	$0,33 \pm 0,060^*$	$0,95 \pm 0,099^*$	$39,8 \pm 0,10^*$

\*-Изменения достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

Таким образом, при пирогеналовой лихорадке возникают значительные изменения не только в эффекторных процессах терморегуляции, но и в содержании НА и ДА в гипоталамической области мозга. Можно было предположить, что в условиях действия в организме бактериального эндотоксина ослабление функциональной активности центральных адренореактивных систем приводит к повышению температуры тела. Известно, что угнетение адренергической медиации в гипоталамусе может быть обусловлено, в частности, тормозным влиянием опиоидных пептидов на процесс выброса медиатора в синаптическую щель [4, 5, 13, 14, 15, 17]. С целью проверки этого предположения было изучено содержание опиоидных пептидов в гипоталамусе при эндотоксиновой лихорадке у кроликов.

Опыты показали, что действие в организме животных ЛПС сопровождается изменениями содержания иммунореактивного б-эндорфина (б-ЭНД-ИР), но не иммунореактивного мет-энкефалина (мет-ЭК-ИР), в гипоталамической области мозга. Так, внутривенное введение кроликам пирогенала приводило к увеличению содержания б-ЭНД-ИР (на 187,1% через 60 мин.) и не отражалось на концентрации иммунореактивного мет-ЭК-ИР (через 30 и 60 мин. после введения эндотоксина) в ткани гипоталамуса (табл. 3). Таблица 3 Изменение содержания радиоиммунореактивного б-эндорфина и мет-энкефалина в гипоталамусе у кроликов после внутривенного введения пирогенала в дозе 0,5 мкг/кг ( $M \pm m$ ).

Группа животных	б-эндорфин (пМоль/г ткани)	мет-энкефалин (пМоль/г ткани)
<b>Контрольная после введения бидист. воды</b>		
через: 30 мин (n=8)	2,64±0,372	182,0±22,33
60 мин (n=7)	1,89±0,259	191,4±30,93
<b>Опытная после введения пирогенала</b>		
через: 30 мин (n=8)	3,52±0,208	181,3±20,33
60 мин (n=8)	3,54±0,632*	191,3±28,19

\*-Изменения достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

Полученные экспериментальные данные о значительном изменении содержания б-ЭНД-ИР в терморегуляторных структурах мозга под влиянием пирогенала дают основания полагать, что опиоидные пептиды мозга могут участвовать в механизмах центрального контроля активности адренергических структур гипоталамуса и терморегуляторных реакций при эндотоксиновой лихорадке.

С целью выяснения роли адренореактивных систем гипоталамуса в центральных механизмах терморегуляции при эндотоксиновой лихорадке было изучено влияние возбуждения а-и б-адренореактивных систем мозга на температуру тела и некоторые эффекторные процессы теплопродукции и теплоотдачи.

Установлено, что центральное действие а-адреномиметика клофелина (10 мкг) у крыс (n=8) через 30 мин. после инъекции сопровождается повышением температуры кожи корня хвоста (с  $22,6 \pm 0,300^{\circ}\text{C}$  до  $25,5 \pm 1,050^{\circ}\text{C}$ ; n=12;

$p < 0,01$ ), повышением в плазме крови уровня НЭЖК с  $446,0 \pm 19,0$  мкэкв/л до  $760,0 \pm 26,0$  мкэкв/л ( $p < 0,001$ ) и снижением ректальной температуры с  $36,7 \pm 0,080$ С до  $33,8 \pm 0,060$ С ( $p < 0,001$ ). Показано, что центральное действие  $\alpha$ -адреномиметика мезатона (40 мкг) у крыс через 30 мин. также сопровождается повышением температуры кожи корня хвоста на  $0,90$ С, повышением в плазме уровня НЭЖК с  $517,0 \pm 26,9$  мкэкв/л до  $764,0 \pm 31,7$  мкэкв/л в крови ( $n=7$ ;  $p < 0,001$ ) и снижением ректальной температуры с  $37,1 \pm 0,090$ С до  $36,2 \pm 0,120$ С ( $n=10$ ;  $p < 0,001$ ).

Введение в желудочки мозга крысам ( $n=8$ )  $\beta$ -адреномиметика изопротеренола (10 мкг) приводило к через 30 мин. к повышению температуры тела с  $36,6 \pm 0,150$ С до  $37,3 \pm 0,110$ С ( $n=8$ ;  $p < 0,01$ ) и сопровождалось понижением уровня НЭЖК в крови с  $466,0 \pm 16,7$  мкэкв/л до  $233,0 \pm 14,5$  мкэкв/л ( $p < 0,001$ ) и количества потребляемого животными ( $n=7$ ) кислорода с  $44,3 \pm 2,11$  мл  $O_2$ /кг • мин. до  $14,93 \pm 1,04$  мл  $O_2$ /кг • мин.

В опытах на кроликах установлено, что клофелин (30 мкг) и мезатон (50 мкг) при введении в желудочки мозга через 30 мин. понижают на  $0,80$ С ( $n=6$ ;  $p < 0,05$ ) и  $0,40$ С ( $n=6$ ;  $p < 0,05$ ), а изопротеренол (50 мкг) – повышает температуру тела животных на  $0,70$ С ( $n=7$ ;  $p < 0,05$ ).

Понижение температуры тела у кроликов в условиях возбуждения центральных  $\alpha$ -адренореактивных систем сопровождалось усилением теплоотдачи, на что указывало повышение температуры ушной раковины (вазодилатация). Так, через 30 мин. после инъекции клофелина (30 мкг) температура уха повышалась на  $3,0 \pm 0,260$ С ( $n=6$ ;  $p < 0,01$ ). Повышение температуры тела, вызванное изопротеренолом, сопровождалось угнетением теплоотдачи. Установлено, что введение изопротеренола кроликам ( $n=7$ ) в желудочки мозга в дозе 50 мкг приводило к понижению температуры ушной раковины (на  $5,00$ С через 30 мин.).

Центральное действие  $\alpha$ -адреномиметиков клофелина и мезатона, наряду с изменением показателей теплообмена, сопровождалось понижением, а изопротеренола – повышением в плазме крови экспериментальных животных концентрации АКТГ. Так, уровень АКТГ в крови у крыс через 30 мин. после введения в желудочки мозга клофелина (10 мкг) или мезатона (40 мкг) понижался на 37,1% ( $n=7$ ;  $p < 0,05$ ) и 30,2% ( $n=7$ ;  $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. После инъекции изопротеренола уровень АКТГ в крови у крыс ( $n=6$ ) повышался на 35,8% ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, полученный экспериментальный материал позволяет предположить, что НА участвует в центральных тормозных и активирующих нейронных системах, регулирующих теплообмен и активность ГГНС. Угнетающее влияние НА на центральные механизмы, регулирующие сосудистый тонус и активность ГГНС, осуществляется через  $\alpha$ -адренорецепторы, а активирующее – через  $\beta$ -адренорецепторы. Угнетающее влияние НА на центральные механизмы, контролирующие интенсивность термогенеза, реализуется через  $\beta$ -адренорецепторы.

Следовательно, на основании полученных данных можно заключить, что  $\alpha$ -и  $\beta$ -адренореактивные системы и опиоидные пептиды гипоталамической

области мозга играют важную роль в формировании характера ответной терморегуляторной и гормональной реакции организма на действие бактериального эндотоксина.

#### Выводы

1. Изменения теплообмена при эндотоксиновой лихорадке, характеризующиеся интенсификацией энергетических процессов и угнетением процессов теплоотдачи, в значительной степени являются следствием понижения активности  $\alpha$ -адренореактивных систем гипоталамической области мозга.

2. Адренергические механизмы мозга, участвуя в тормозных и активирующих нейронных системах, регулирующих теплообмен и активность ГНС, являются общими звеньями в процессах терморегуляции при эндотоксиновой лихорадке. Угнетающее влияние НА на центральные структуры, регулирующие сосудистый тонус и активность ГНС, осуществляется через  $\alpha$ -адренорецепторы, а активирующее-через  $\beta$ -адренорецепторы.

3. Направленность и степень изменения активности центральных адренореактивных систем при эндотоксиновой лихорадке зависит от содержания  $\beta$ -эндорфина в гипоталамической области мозга. Повышение содержания  $\beta$ -эндорфина в гипоталамусе способствует угнетению активности  $\alpha$ -адренореактивных систем с последующей интенсификацией процессов термогенеза и угнетения процессов теплоотдачи и является одним из факторов, обеспечивающих повышение температуры тела при действии пирогенала.

#### Литература

1. Гурин, В.Н. Центральные механизмы терморегуляции. – Минск: Беларусь, 1980. – 122 с.
2. Елизарова, О.Н. Определение пороговых доз промышленных ядов при пероральном введении. – М.: Медгиз, 1962. – 174 с.
3. Лабораторные животные, Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захарня, Б.В. Западнюк. – Киев: Вища школа, 1983. – 383 с.
4. Adler, M.W., Geller, E.B. Physiological functions of opioids: temperature regulation. In: Herz A., Akil H., Simon E.G. Handbook of experimental pharmacology. – Beilin: Springer-Verlag, 1992. – P.205 – 238.
5. Carr, D.B., Bergland, R., Hamilton, A., et. al. Endotoxin-stimulated opioid secretion: two secretory pools and feedback control in vivo // Science. – 1982. – Vol. 217. – P.845 – 848.
6. Clark, W.G., Lipton, J.M. Changes in body temperature after administration of adrenergic and serotonergic agents and related drugs including antidepressants: II // Neurosci. Biobehav. Rev. – 1986. – Vol. 10. – P.153 – 220.
7. Council of Europe. Educational and Training Needs of Those Working with Laboratory Animals. Guideline Document. – Brussels, 1992. – P. 5.

8. Falholf, K., Lund, B., Falholf, W. An easy colorimetric micromethod for routine determination of free fatty acids in plasma // *Clin. Chim. Acta.* – 1973. – Vol. 46, №1. – P. 105 – 111.
9. Glowinsky, J., Iversen, L.L. Regional studies of catecholamines in the rat brain. II. Rate of turnover of catecholamines in various brain regions // *J. Neurochem.* – 1966. – Vol. 13, №8. – P. 661 – 669.
10. Hasegawa, H., Meeusen, R., Sarre, S., et. al. Acute dopamine/ noradrenaline reuptake inhibition increases brain and core temperature in rats // *J. Appl. Physiol.* – 2005. – Vol. 99. – P.1397 – 1401.
11. Laverty, R., Taylor, K. The fluorometric assay of catecholamines and related compounds // *Anal. Biochem.* – 1968. – Vol. 22, №2. – P. 269 – 279.
12. Lipton J.V., Clark W.G. Neurotransmitters in temperature control // *Annu. Rev. Physiol.* – 1986. – Vol. 48. – P. 613 – 623.
13. Mayfield, K.P., Kozak, A., Rudolph, K., Kluger, M.J. Morphine suppresses development of fever to lipopolysaccharide in rats // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 1998. – Vol. 856. – P.281 – 285.
14. Nestler, E.J., Hyman, S.E., Malenka, R.C. *Molecular Neuropharmacology: a foundation for clinical neuroscience.* – New York: McGraw-Hill, 2001. – 348 p.
15. Tsai, S.M., Lin, M.T., Wang, J.J., Huang, W.T. Pyrogens enhance b-endorphin release in hypothalamus and trigger fever that can be attenuated by buprenorphine// *J. Pharmacol. Sci.* – 2003. – Vol. 93. – P.155 – 162.
16. Watson, P., Hasegawa, H., Roelands, B., et. al. Acute dopamine/ noradrenaline reuptake inhibition enhances exercise performance in warm, but not temperate conditions // *J. Physiol.* – 2005. – Vol. 565. – P.873 – 883.
17. Xin, L., Zhao, S.F., Geller, E.B. et. al. Involvement of b-endorphin in the preoptic anterior hypothalamus during interleukin-1b-induced fever in rats // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 1997. – Vol. 813. – P.324 – 326.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ-РФФИ.