

В. В. Зенькович

**ОБ УЧАСТИИ L-АРГИНИН–NO СИСТЕМЫ В МЕХАНИЗМЕ
АНТИПИРЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МОЧЕВИНЫ В УСЛОВИЯХ
ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ**

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

Кафедра патологической физиологии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

***Резюме.** В экспериментах на крысах и кроликах установлено, что повышение активности L-аргинин-NO-системы оказывает влияние на уровень мочевины в крови и формирование терморегуляторных реакций организма в условиях эндотоксिनотической лихорадки, а высокое содержание мочевины в крови является одним из факторов эндогенного антипиреза. Выявлено, что развитие лихорадки у крыс и кроликов в условиях действия в организме ингибитора NO-синтетазы L-NAME сопровождается ослаблением процессов перекисного окисления липидов, повышением содержания мочевины в крови и менее значительным повышением температуры тела.*

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

***Resume.** In the experiments on the rats and rabbits it was established that increasing of L-arginine-NO-system activity affects the urea forming function of liver, the formation of body thermoregulatory reactions to bacterial endotoxin, and a high content of urea in blood is one of the factors of endogenous antipyretic action. It was revealed, that the development of fever in rats and rabbits under the conditions for action in the organism NO-synthetase inhibitor L-NAME is accompanied by decreasing of*

lipid peroxidation processes, increasing in the content of urea in the blood and less significant rise in body temperature.

Keywords: *nitrogen monoxide, urea, endotoxin fever, L-arginine-NO-system.*

Известно, что мочевины имеет особую значимость в процессах жизнедеятельности в норме и патологии [1,5]. Ранее нами было установлено, что введение в организм мочевины оказывает выраженный антипиретический эффект и что L-аргинин-NO система участвует в патогенезе эндотоксиновой лихорадки. Однако значимость L-аргинин-NO системы в механизмах реализации антипиретического эффекта мочевины остается не выясненной.

Цель: выяснить значимость L-аргинин-NO системы в механизме антипиретического действия мочевины при эндотоксиновой лихорадке.

Задачи:

1. Исследовать температуру тела у животных в условиях действия в организме бактериального эндотоксина *E. Coli*.

2. Установить характер изменений содержания мочевины и процессов ПОЛ в плазме крови у животных при эндотоксиновой лихорадке.

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

4. Изучить влияние ингибитора NO-синтетазы – метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина на процессы терморегуляции при бактериальной эндотоксемии.

Материал и методы. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах-самцах (n=29) массой 160–180 г и взрослых кроликах (n=13) обоего пола массой 2,5–3 кг. Для создания общепринятой модели эндотоксиновой лихорадки, использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) – эндотоксин *E. Coli* (серотип 0111:B4 Sigma, США), который вводили однократно крысам внутривентрально в дозе 5 мкг/кг, кроликам в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг. Все наблюдения производились в термонеutralных условиях (20 – 22°C).

Взятие для исследований крови и ткани печени у животных проводилось за возможно минимальное время после декапитации. Концентрацию мочевины в плазме крови определяли фотометрически, а количественное содержание свободных аминокислот - 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). Ректальную температуру измеряли у крыс и кроликов с помощью электротермометра ТПЭМ-1. Все полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной биологической статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. В экспериментах на крысах и кроликах установлено, что при эндотоксиновой лихорадке возникают значительные изменения не

только показателей теплообмена, но и содержания мочевины, а также свободного аргинина в плазме крови. Так, ЛПС через 120 и 180 мин после внутрибрюшинного введения вызывал повышение на 26,6% ($p < 0,05$, $n=8$) и 30,8% ($p < 0,05$, $n=7$) концентрации мочевины в плазме крови у крыс по сравнению с контролем (введение физраствора). Концентрация мочевины в плазме крови у крыс после введения ЛПС составляла соответственно $4,4 \pm 0,51$ и $5,4 \pm 0,60$ мМоль/л.

Действие ЛПС у крыс ($n=7$) через 120 мин после введения экзопирогена приводило к снижению на 32,4% ($p < 0,02$) содержанию аргинина в плазме крови, которое составляло $163,5 \pm 2,96$ мкМоль/л.

Внутривенное введение ЛПС одновременно с повышением 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 свободного аргинина на 57,7 % и 42,3% (с $0,26 \pm 0,16$ до $0,11 \pm 0,24$ и $0,15 \pm 0,26$ мМоль/л соответственно). Уровень мочевины в крови у кроликов контрольной группы составлял через 60 и 120 мин после введения физиологического раствора $2,9 \pm 0,20$ и $3,1 \pm 0,27$ мМоль ($n=6$) соответственно.

Известно, что активность свободнорадикальных реакций и уровень образующих ими продуктов, имеет важное значение для осуществления процессов терморегуляции и эндогенного антипиреза [3,4].

В опытах на крысах установлено, что действие бактериального эндотоксина в организме животных сопровождается возрастанием в плазме крови и ткани печени содержания основных продуктов ПОЛ: ДК, МДА и ОШ. 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 ЛПС, а в плазме крови на 14,5% ($p < 0,05$, $n=7$) на 180-й минуте эндотоксиновой 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 через 120 и 180 мин после введения ЛПС повышался в печени и плазме крови соответственно на 14,9% ($p < 0,05$, $n=7$) и 20,6% ($p < 0,05$, $n=7$), 95,1% ($p < 0,05$, $n=6$) и 128,1% ($p < 0,05$, $n=6$). У интактных животных ($n=7$) концентрация ДК, МДА и ОШ в плазме крови и печени была равной соответственно $0,65 \pm 0,036$ ΔD_{233} /мл, $0,78 \pm 0,050$ мкМоль/мл, $4,2 \pm 0,17$ ЕД/мл и $15,3 \pm 1,21$ ΔD_{233} /г, $16,5 \pm 0,59$ нМоль/г, $127,1 \pm 12,35$ ЕД/г ткани. Полученные результаты свидетельствовали о том, что развитие эндотоксиновой лихорадки у крыс сопровождается активацией процессов ПОЛ в крови и печени.

Принимая во внимание данные о том, что мочевина, может оказывать стабилизирующее действие на мембраны [1, 4], а через инактивацию протеолитических ферментов, препятствуя усилению протеолиза и на метаболизм пептидных гормонов, цитокинов и простагландинов, имеющих важное значение в терморегуляции [2], можно было предположить, что содержание мочевины в крови может иметь значение в регуляции температуры тела при эндотоксиновой лихорадке.

Исследования, выполненные на кроликах, показали, что введение в кровоток

интактным животным 30%-го раствора мочевины (0,3 г/кг) не влияет на температуру тела. Введение в кровоток мочевины (0,3 г/кг) на высоте подъема температуры тела при эндотоксиновой лихорадке (через 60 и 90 мин от момента инъекции ЛПС) приводило к значительному понижению температуры тела и ослаблению лихорадки. Так, через 15 и 30 мин от момента введения мочевины на высоте эндотоксиновой лихорадки (60 мин) ректальная температура у кроликов (n=8) снижалась по сравнению с контролем на $0,9 \pm 0,08^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$) и $0,8 \pm 0,10^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$).

Установлено, что развитие эндотоксиновой лихорадки (через 90 мин после инъекции экзопирогена) в условиях действия мочевины у экспериментальных животных сопровождается менее выраженными изменениями процессов ПОЛ в крови и печени. Так, содержание ДК, МДА и ОШ в плазме крови у кроликов (n=8) в условиях эндотоксиновой лихорадки через 30 мин после введения в кровоток мочевины было ниже по сравнению с контролем (действие одного ЛПС) на 16,5% ($p < 0,05$), 44,7% ($p < 0,05$) и 35,8% ($p < 0,05$), а в печени на 24,3% ($p < 0,05$), 15,1% ($p < 0,05$) и 37,2% ($p < 0,05$) соответственно.

Учитывая, что гидролитическое расщепление аминокислоты L-аргинина является последним этапом образования мочевины, нами в экспериментах на кроликах было изучено влияние введения в кровоток L-аргинина солянокислого в дозе 50 мг/кг, дозе, не влияющей на температуру тела интактных животных. Опыты, выполненные на кроликах, показали, что введение в краевую вену уха L-аргинина солянокислого (50 мг/кг) в условиях действия в организме ЛПС, через 60 мин после инъекции эндотоксина, приводит к ослаблению лихорадки.

Так, ЛПС (0,5 мг/кг) вызывал повышение температуры тела у кроликов (n=10) на $1,2 \pm 0,10^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$) через 60 мин после инъекции, а через 90 мин отклонение составляло $1,5 \pm 0,09^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$). Внутривенное введение L-аргинина солянокислого (50 мг/кг), спустя 60 и 90 мин после инъекции ЛПС оказывало выраженный антипиретический эффект. Снижение ректальной температуры на высоте лихорадки (через 15 и 30 мин после введения аминокислоты) составляло 0,8 и $0,7^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$ n=6) (рисунок 1).

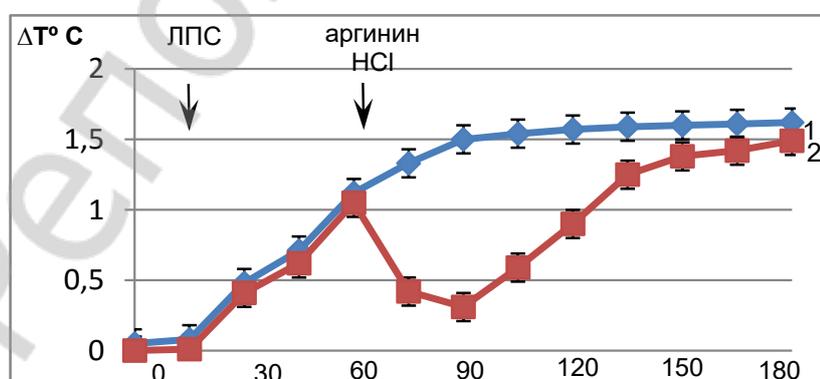


Рисунок 1 – Изменение температуры тела у кроликов после введения в кровоток L-аргинина солянокислого в дозе 50 мг/кг (2) в условиях действия ЛПС (0,5 мг/кг)

В исследованиях по изучению биологической роли NO широко используются ингибиторы фермента его образования NO-синтетазы – ложные аналоги L-аргинина, в частности его метиловые эфиры. Нами были использован широко применяемый в экспериментах *in vivo* и *in vitro* ингибитор NO-синтетазы метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинин (L-NAME).

В опытах на кроликах установлено, что лихорадочная реакция, вызываемая бактериальным эндотоксином, ослабляется предварительным введением в кровотоки L-NAME (25 мг/кг) – ингибитора NO-синтетазы, существенно не влияющего в указанной дозе на температуру тела в норме. Так, у животных через 120 мин после инъекции ЛПС (0,5 мкг/кг) в условиях предварительного введения в кровотоки 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 $40,3 \pm 0,11^\circ\text{C}$ (рисунок 2).

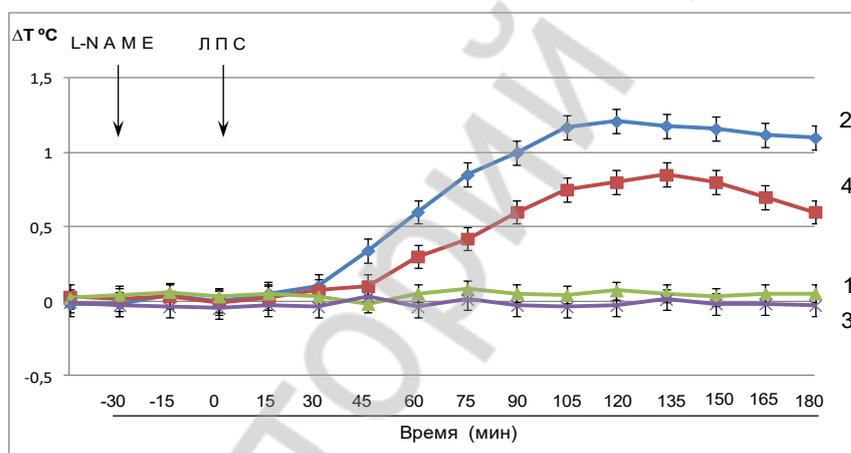


Рисунок 2 Изменение ректальной температуры у крыс после внутрибрюшинного введения: 1 – физ. раствора, 2 – ЛПС (5 мкг/кг), 3 – L-NAME (25 мг/кг), 4 – ЛПС (5 мкг/кг) в условиях действия L-NAME (25 мг/кг). **Примечание** – ↓ (стрелка) – момент введения препаратов

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 не только менее значимым подъемом температуры тела и активностью процессов ПОЛ в крови и печени, но и выраженным повышением уровня мочевины в плазме крови.

Следовательно, активность процессов ПОЛ в организме, как и формирование терморегуляторных реакций при действии бактериальных эндотоксинов у крыс и кроликов зависит от состояния L-аргинин-NO системы и уровня мочевины в крови. Есть основания полагать, что при бактериальной эндотоксинемии не исключена утечка аргинина из цикла синтеза мочевины, что может вносить существенный вклад в пул эндогенного аргинина, имеющегося в гепатоцитах, а соответственно сказываться на активности L-аргинин-NO системы печени. По-видимому, утечка ар-

гинина из цикла синтеза мочевины в цикл синтеза монооксида азота в печени имеет важное значение в механизмах развития эндотоксиновой лихорадки, а усиленное использование L-аргинина в процессах мочевинообразования – в механизмах эндогенного антипиреза.

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 уровня мочевины крови, 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, ослаблением процессов ПОЛ в крови и менее выраженным подъемом температуры тела.

V. V. Zenkovich,

ABOUT L-ARGININE-NO SYSTEM PARTICIPATION IN THE MECHANISM OF UREA ANTIPYRETIC ACTION IN CONDITIONS OF ENDOTOXIN FEVER

Tutor Professor F. V. Vismont,

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

Литература

1. Гершенович, З.С. Защитное действие мочевины при гипероксии. Содержание свободной и связанной форм мочевины в мозге / З.С. Гершенович [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 1972. - Т. 17, N 2. - С. 207-211.
2. Гурин, В.Н. Терморегуляция и биологически активные вещества плазмы крови / В.Н. Гурин, А.В. Гурин // Минск, 2004.
3. Давыдовский, А.Г. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантные процессы в печени при бактериальной эндотоксинемии / А.Г. Давыдовский // Минск: ООО «Ковчег», 2004.
4. Маеда, Х. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке / Х. Маеда, Т. Акаике // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. - С. 1007 – 1019.
5. Шугалей, В.С. Содержание мочевины и активность аргиназы в органах крыс при акклиматизации к холоду / В.С. Шугалей, Л.С. Козина // Физиологический журнал СССР им. И.М. Сеченова. – 1977. – Т. 63, № 8. - С. 1199-1202.