

*Зенькович В.В.*

## **АНТИПИРЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ МОЧЕВИНЫ В УСЛОВИЯХ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ И РОЛЬ МОНООКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМАХ ЕГО РЕАЛИЗАЦИИ**

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск  
кафедра патологической физиологии*

**Ключевые слова:** монооксид азота (NO), мочевины, эндотоксиновая лихорадка, L-аргинин-NO-система.

**Резюме:** Проведено исследование значимости мочевины и NO в регуляции температуры тела при эндотоксиновой лихорадке. Установлено, что повышение активности L-аргинин-NO-системы оказывает влияние на мочевинообразующую функцию печени, уровень  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  и формирование терморегуляторных реакций организма на действие бактериального эндотоксина. По-видимому, высокое содержание мочевины и уровня NO в крови является фактором эндогенного антипиреза.

**Resume:** A comprehensive study of urea significance and NO in body temperature regulation at endotoxin fever was conducted. It was found that increasing of L-arginine-NO-system activity affects the urea forming function of liver, level of  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  and on the formation of body thermoregulatory reactions to bacterial endotoxin. Perhaps a high content of urea and high level of NO in blood is one of the factors of endogenous antipyretic action.

**Актуальность.** Принимая во внимание данные о том, что мочевины, которая, главным образом, синтезируется в печени, и уровень которой увеличивается при лихорадочных состояниях, может оказывать стабилизирующее действие на мембраны, на активность протеолитических ферментов, метаболизм пептидных гормонов, провоспалительных цитокинов и простагландинов, имеющих важное значение в терморегуляции [3,4], были основания полагать, что мочевины в крови участвует в регуляции температуры тела при эндотоксиновой лихорадке. Учитывая имеющиеся в литературе сведения о значимости аминокислоты аргинина для процессов мочевинообразования и биосинтеза NO [5, 7, 10], можно было предположить, что утечка аргинина из цикла синтеза мочевины будет вносить существенный вклад в пул эндогенного аргинина и сказываться на уровне NO, имеющего важное значение для протекания различных физиологических и патологических процессов и регуляции температуры тела, в частности, при эндотоксинемии [1, 2, 6, 8].

**Цель:** выяснить значимость мочевины и NO в регуляции температуры тела при эндотоксиновой лихорадке.

**Задачи:** 1. Исследовать температуру тела у животных в условиях действия в организме бактериальных эндотоксинов; 2. Выяснить характер изменений уровня мочевины, свободного аргинина и  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в плазме крови у животных в условиях эндотоксиновой лихорадки; 3. Исследовать влияние системного действия мочевины на температуру тела в условиях бактериальной эндотоксинемии; 4. Выяснить особенности изменения температуры тела у экспериментальных животных при действии бактериального эндотоксина в условиях угнетения синтеза NO в организме.

**Материал и методы.** Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных крысах (n=52) и кроликах (n=23) обоего пола. Для создания модели эндотоксиновой лихорадки, использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) – эндотоксин E.Coli (серия 0111:B4 Sigma, США), который вводили однократно крысам внутрибрюшинно в дозе 5 мкг/кг, кроликам внутривенно в дозе 0,5 мкг/кг. Взятие для исследования крови у животных проводилось сразу же после декапитации. Содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс определяли методом жидкостной хроматографии на аналитической колонке Zorbax Eclipse XDB-C<sub>8</sub>. Содержание мочевины в плазме крови определяли фотометрически. Продукцию NO оценивали по суммарному уровню нитратов/нитритов NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> [9]. С целью выяснения значимости NO в регуляции температуры тела использовали неселективный ингибитор NO-синтазы L-NAME (метил эфир N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина) фирмы ACROS ORGANICS (США). Ректальную температуру измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1. Полученные данные обработаны общепринятыми методами статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

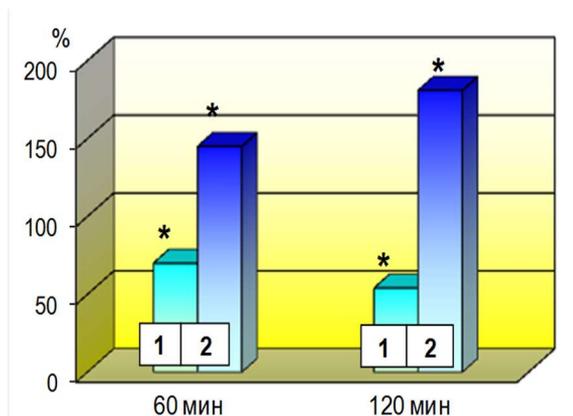
**Результаты и их обсуждение.** Опыты показали, что внутрибрюшинное введение ЛПС крысам (n=12) приводило к медленному нарастанию температуры тела и к слабовыраженной гипертермии. Так, температура тела повышалась на 1,1°C ( $p<0,05$ ) и 1,0°C ( $p<0,05$ ) через 120 и 180 мин. после введения экзопирогена.

Инъекция ЛПС (0,5 мкг/кг) 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).

Выявлено, что развитие эндотоксиновой лихорадки у крыс и кроликов наряду с повышением ректальной температуры, сопровождается увеличением содержания мочевины и снижением уровня аргинина в плазме крови. Внутривенное введение ЛПС, 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 аргинина на 57,7% ( $p<0,05$ , n=7) и 42,3% ( $p<0,05$ , n=7) соответственно (рис. 1).

Выявлено, что при эндотоксиновой лихорадке изменяется концентрация в плазме крови NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> - конечного продукта деградации NO. Действие ЛПС у крыс (n=7) через 120 и 180 мин после введения экзопирогена приводило к повышению уровня NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в плазме крови животных на 29,0 % ( $p<0,05$ ) и 58,2 % ( $p<0,05$ ) и составляло соответственно  $7,1 \pm 0,38$  и  $9,6 \pm 1,2$  мкмоль/л.

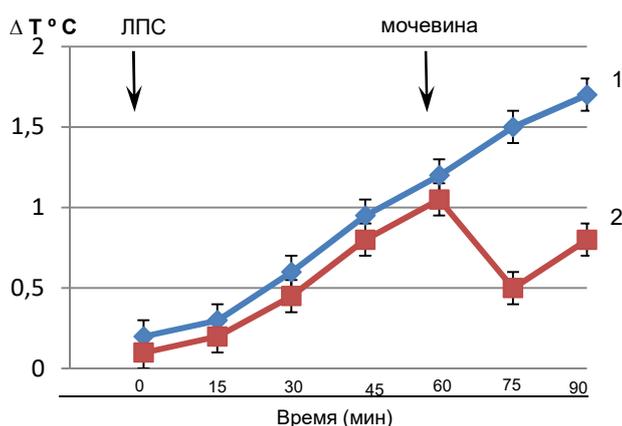
Содержание мочевины в плазме крови у крыс через 120 и 180 мин после внутрибрюшинного введения пирогенала возрастало на 26,0% ( $p<0,05$ , n=8) и 37,8% ( $p<0,05$ , n=7) по сравнению с контролем (физ.раствор).



**Рис. 1** Изменение уровня свободного аргинина (1) и мочевины (2) в плазме крови у кроликов через 60 и 120 минут после внутрибрюшинного введения ЛПС (0,5 мкг/кг) по сравнению с контролем (введение апиrogenного физ. раствора).

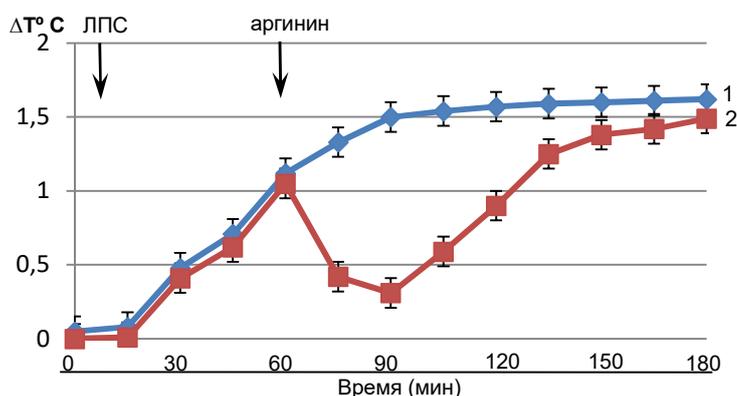
*Примечание:* \* – Изменения достоверны по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

Показано, что введение интактным кроликам в краевую вену уха 30% раствора мочевины или L-аргинина солянокислого (50 мг/кг) фирмы Carl Roth GmbH+Co.KG, (Германия) не влияет на температуру тела. Внутривенное введение мочевины (0,3 г/кг) или L-аргинина солянокислого (50 мг/кг) на высоте подъема температуры тела при эндотоксической лихорадке (через 60 и 90 мин от момента инъекции ЛПС) приводило к понижению ректальной температуры у кроликов на  $0,9 \pm 0,08^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) и  $0,8 \pm 0,10^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ );  $0,8 \pm 0,07^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ,  $n=6$ ) и  $0,7 \pm 0,07^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ,  $n=6$ ) через 15 и 30 мин после введения мочевины или аргинина соответственно (рис. 2, 3).



**Рис. 2** Изменение температуры тела у кроликов после введения в кровоток мочевины в дозе 0,3 г/кг (2) в условиях действия бактериального ЛПС (0,5 мкг/кг).

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



**Рис. 3** Изменение температуры тела у кроликов после введения в кровоток L-аргинина солянокислого в дозе 50 мг/кг (2) в условиях действия ЛПС (0,5 мкг/кг).

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

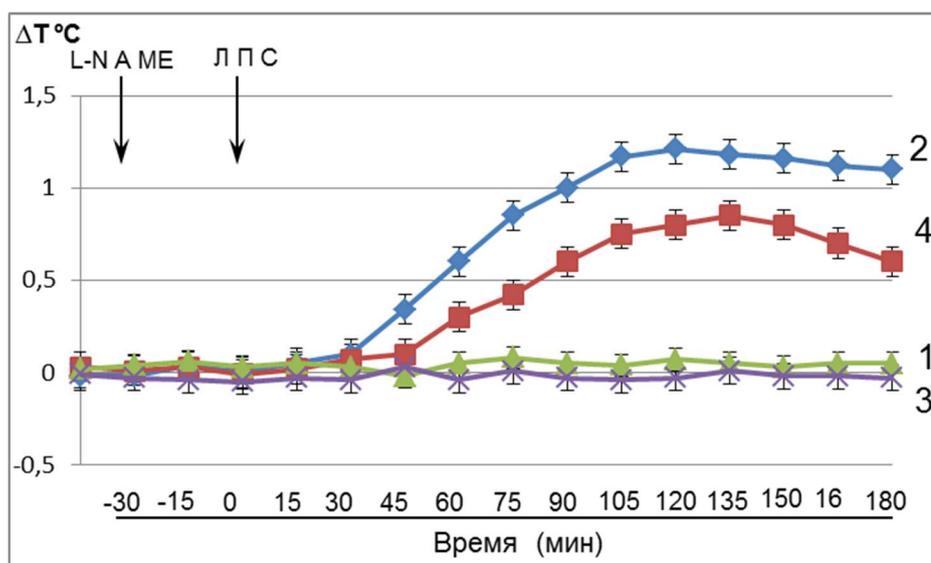
В опытах на кроликах (n=7) установлено, что лихорадочная реакция, вызываемая бактериальным эндотоксином, ослабляется предварительным введением в кровоток метилового эфира N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина (L-NAME, 25 мг/кг) – ингибитора NO-синтетазы и сопровождается повышением уровня мочевины в плазме крови.

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

Ректальная температура у крыс (n=12), 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 (n=12), 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 (рис. 4).

Выявлено, что действие ЛПС в организме у крыс (n=7), предварительно (за 30 мин. до инъекции экзопирогена) получивших внутривенно L-NAME (25 мг/кг) сопровождается значительным повышением уровня мочевины в крови.

Полученные данные дали основание заключить, что развитие эндотоксиновой лихорадки у крыс и кроликов в условиях действия в организме ингибитора NO-синтетазы L-NAME сопровождается увеличением содержания мочевины в плазме крови и менее выраженным повышением температуры тела.



**Рис. 4** 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

Таким образом, на основании результатов проведенных нами исследований и данных литературы, есть основания заключить, что взаимодействие между циклом оксида азота и циклом синтеза мочевины в печени играет важную роль в патогенезе эндотоксиновой лихорадки. Формирование терморегуляторных реакций при действии бактериальных эндотоксинов у крыс и кроликов зависит от процессов синтеза NO и уровня мочевины в крови. Очевидно, мочевины плазмы крови и NO можно рассматривать как важнейшие взаимосвязанные факторы, участвующие в регуляции температуры тела при эндотоксинемии, сопровождающейся лихорадкой. По-видимому, NO и мочевина являются важными факторами формирования терморегуляторных реакций при бактериальной эндотоксинемии.

**Выводы.** 1. Мочевина и NO у крыс и кроликов играют важную роль в механизмах терморегуляции в условиях действия в организме бактериального эндотоксина; 2. Повышение уровней как NO, так и мочевины в крови является одним из факторов эндогенного антипиреза. Развитие эндотоксинемии может сопровождаться утечкой аргинина крови в цикле синтеза мочевины и снижением уровня NO в плазме крови. Мочевина, введенная в кровоток, понижает температуру тела у кроликов в условиях эндотоксиновой лихорадки; 3. L-аргинин-NO система, ее активность, оказывает влияние на мочевинообразовательную функцию печени, формирование 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.

## 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. Висмонт, Ф.И. Об участии монооксида азота в регуляции детоксикационной функции печени, тиреоидного статуса и температуры тела при эндотоксиновой лихорадке / Ф.И. Висмонт, Н.А. Степанова // Белорусский медицинский журнал. - 2003. - N. 1. - С. 29-32.
3. Гурин, В.Н. Терморегуляция и биологически активные вещества плазмы крови / В.Н. Гурин, А.В. Гурин А.В. // - Минск. 2004.
4. Гершенович, З.С., Защитный эффект аргинина при гипотермии / З.С. Гершенович, Я.И. Векслер // Биохимия. - 1963. - Т. 28. - № 6. - С. 937-940.
5. Тэйлор, Б.С. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции / Б.С. Тэйлор, Л.Х.Аларсон, Т.Р. Биллиар // Биохимия. - 1998. - № 7. - С. 905-923.
6. Gerstberger, R. Nitric oxide and body temperature control / R. Gerstberger // News Physiol. Sci. - 1999. - Vol. 14. - № 2. - P. 30-36.
7. Getz, G.S. Arginine/Arginase NO NO NO / G.S. Getz, C.A. Reardon // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. - 2006, - Vol. 26. - P. 237-240.
8. Mori, M. Arginine Metabolic Enzymes, Nitric Oxide and Infection / M. Mori, T. Gotoh // J. Nutr. 2004. - Vol. 134. - P. 2820-2825.
9. 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.
10. Scibor, D. Arginine-metabolism and functions in the human organism / D. Scibor, H.Czeczot // Postepy Hig. Med. Dosw. - 2004. - Vol. 58. - P. 321-332.