

АНТИПИРЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ МОЧЕВИНЫ В УСЛОВИЯХ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ И РОЛЬ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ И МОНООКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМАХ ЕГО РЕАЛИЗАЦИИ

Зенькович В. В.

Белорусский государственный медицинский университет,
кафедра патологической физиологии

Ключевые слова: мочевины, эндотоксиновая лихорадка, монооксид азота, L-аргинин-NO-система

Резюме: В экспериментах на крысах и кроликах установлено, что антипиретический эффект мочевины в условиях эндотоксиновой лихорадки связан с изменением активности аргиназы печени и L-аргинин-NO-системы. По-видимому, утечка L-аргинина из цикла синтеза мочевины в цикл монооксида азота имеет важное значение в механизмах антипиретического действия мочевины.

Resume: In experiments on rats and rabbits it was established that the antipyretic effect of urea under endotoxic fever is associated with a change of liver arginase and L-arginine-NO-system activity. Apparently, the leakage of L-arginine from the urea synthesis cycle to the nitrogen monoxide cycle is important in the mechanisms of the urea antipyretic action.

Актуальность. Общеизвестно, что ведущим универсальным звеном в патогенезе нарушений жизнедеятельности при экстремальных состояниях организма и различных заболеваниях как инфекционной, так и не инфекционной природы является токсинемия. В последние годы все большее внимание уделяется изучению роли токсинов бактериального происхождения – эндотоксинов в процессах жизнедеятельности [1,6]. В настоящее время накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих о значении мочевины и аргиназы печени, которая является важным ферментом цикла мочевины [8] в процессах жизнедеятельности в норме и патологии [4,9]. Имеются сведения о том, что между функциональным состоянием печени и процессами регуляции температуры тела существует тесная взаимосвязь [1,2]. В тоже время данные о значимости аргиназы печени и мочевины в формировании терморегуляторных реакций организма при бактериальной эндотоксинемии отсутствуют, хотя их участие в этих процессах вполне закономерно, учитывая, что активность аргиназы печени будет сказываться на активности L-аргинин-NO системы печени и организма в целом, системы имеющей важное значение в процессах жизнедеятельности и регуляции температуры тела в норме и патологии [3,5].

Цель: выяснить значимость активности аргиназы печени и L-аргинин-NO системы в механизмах антипиретического действия мочевины.

Задачи: 1. Исследовать температуру тела у животных в условиях действия в организме бактериального эндотоксина E. Coli.; 2. Изучить изменения активности аргиназы печени и L-аргинин-NO системы у экспериментальных животных при эндотоксиновой лихорадке; 3. Выяснить особенности изменения активности аргиназы печени, L-аргинин-NO системы и температуры тела у крыс после введения в организм животных мочевины в условиях эндотоксиновой лихорадки;

Материал и методы. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах и кроликах обоего пола. Для создания общепринятой модели эндотоксиновой лихорадки использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) – эндотоксин *E. Coli* (Sigma, США), который вводили однократно: крысам – внутрибрюшинно в дозе 5 мкг/кг, кроликам – в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг. С целью выяснения значимости аргиназы печени и монооксида азота в регуляции температуры тела использовали ингибитор аргиназы N^ω-гидрокси-нор-L-аргинин (nor-NOHA) фирмы BACHEM (Германия), а также L-валин (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия) и неселективный блокатор NO-синтазы - метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинина (L-NAME) фирмы ACROS ORGANICS (США). Nor-NOHA (10,0 мг/кг) вводили крысам внутрибрюшинно ежедневно в течение недели, а L-валин (100,0 мг/кг) за 30 мин до начала опыта, крысам – внутрибрюшинно, а кроликам – внутривенно. L-NAME (25,0 мг/кг) вводили однократно: кроликам – внутривенно, крысам – внутрибрюшинно. При изучении влияния мочевины на показатели терморегуляции кроликам вводили внутривенно, а крысам внутрибрюшинно 30% раствор мочевины (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия). Концентрацию мочевины в крови определяли фотометрически, а активность аргиназы в печени – спектрофотометрически [7]. Содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс определяли методом обращенно-фазной жидкостной хроматографии на аналитической колонке Zorbax Eclipse XDB-C₈.

Реакцию поверхностных сосудов ушной раковины у кроликов и кожи основания хвоста у крыс, как специфическую реакцию теплоотдачу, оценивали по изменению температуры мочки уха и корня хвоста. Температуру кожи, как и 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. Установлено, что внутрибрюшинное введение крысам (n=12) ЛПС приводит к слабо выраженной гипертермии. Температура тела повышалась на 1,3°C (P<0,05), 1,2°C (P<0,05), 1,8°C (P<0,05) и 0,7°C (P<0,05) через 120, 180, 240 и 330 мин. после инъекции экзопирогена и составляла 38,9±0,11; 38,8±0,12; 39,4±0,10 и 38,3±0,12°C соответственно. Введение в кровоток ЛПС кроликам (n=9) приводило к значительному повышению ректальной температуры через 30, 60, 120 и 180 мин. после введения эндотоксина. Температура тела возрастала на 0,6°C (P<0,05), 1,3°C (P<0,05), 1,6°C (P<0,05) и 1,2°C (P<0,05) и составляла соответственно 39,2±0,12; 39,9±0,10; 40,2±0,11 и 39,8 ± 0,12°C. В термонейтральных условиях (20-22 °C) температура ушной раковины у кроликов (n=8) составляла 27-28 °C, а через 30 мин. от момента введения кровотока ЛПС отмечалась вазоконстрикция кожи уха и температура последовательно понижалась более чем на 2°C (P<0,05). В дозе 20 мг/кг и более ЛПС вызывал у крыс эндотоксиновый шок, приводил к снижению температуры тела и развитию гипотермии.

Действие ЛПС у крыс (n=8) через 120 и 180 мин после введения эндотоксина приводило к повышению активности аргиназы печени на 53,1% (P<0,05) и 39,2% (P<0,05) соответственно, по сравнению с контролем. Активность аргиназы печени у крыс контрольной группы через 120 и 180 мин после внутрибрюшинного введения

физраствора составляла $5,63 \pm 0,27$ ($n=8$) и $5,24 \pm 0,22$ ($n=7$) мкМоль мочевины/г ткани·ч. Выявлено, что действие ЛПС в организме у крыс через 120 и 180 мин после инъекции сопровождается повышением на 26,0% ($n=8$, $P<0,05$) и 30,7% ($n=8$, $P<0,05$) у опытных животных по сравнению с контролем (введение физраствора) концентрации мочевины в плазме крови, которая составляла $4,4 \pm 0,50$; $5,0 \pm 0,57$ и $5,2 \pm 0,43$ мМоль/л соответственно. Через 120 мин после инъекции ЛПС в плазме крови у крыс ($n=7$) снижалось содержание глутамина (на 12,7%, $P<0,05$), аргинина (на 32,4%, $P<0,02$), тирозина (на 26,4%, $P<0,01$) и валина (на 21,1% ($P<0,001$)).

Таким образом, при эндотоксической лихорадке имело место снижение концентрации в плазме крови аргинина, аминокислоты, которая является субстратом как для аргиназы, так и NO-синтазы, а также аминокислоты валина – ингибитора аргиназы, важного фермента цикла синтеза мочевины.

Как показали опыты, внутрибрюшинное введение крысам и введение в кровотоки кроликам раствора мочевины в дозе 0,1, 0,3 и 1,0 г/кг не влияет на температуру тела и только лишь в дозе 3,0 г/кг приводит к значительному снижению температуры тела. Через 60 мин после инъекции мочевины в дозе 3,0 г/кг, в плазме крови крыс ($n=7$) имело место снижение целого ряда свободных аминокислот и особенно аргинина (на 95,5%, $p<0,001$). Однако, в этих условиях уровень валина в плазме не изменялся. Выявлено, что действие ЛПС в условиях предварительного введения животным мочевины (0,3 г/кг) сопровождается ослаблением лихорадочной реакции. Установлено, что введение крысам пог-НОНА (10 мг/кг), как и инъекция L-валина (100,0 мг/кг), не сказывались на ректальной температуре тела и приводили к снижению активности аргиназы печени на 71,2% ($p<0,05$, $n=7$) и 83,5% ($p<0,05$, $n=8$), а также уровня мочевины в крови на 50,3% ($p<0,05$, $n=6$) и 56,4% ($p<0,05$, $n=7$) соответственно. Действие ЛПС у крыс ($n=7$) предварительно получивших как пог-НОНА, так и L-валин сопровождалось менее значимым повышением температуры тела и уровня мочевины в крови. В условиях предварительного введения в организм L-NAME, действие ЛПС у крыс ($n=7$) через 120 мин после инъекции приводило к повышению концентрации мочевины на 26,8% ($p<0,05$) и к менее значимому повышению температуры тела.

Выводы: 1. Формирование терморегуляторных реакций на действие бактериального эндотоксина у крыс и кроликов зависит от активности аргиназы печени, состояния L-аргинин-NO системы и уровня мочевины в крови. 2. При бактериальной эндотоксинемии, сопровождающейся лихорадкой, на ранних этапах ее развития имеет место значительное повышение активности аргиназы печени и усиленное использование аргинина в цикле мочевины, что может сказываться на активности L-аргинин-NO системы печени и вносить существенный вклад в патогенез лихорадочной реакции. 3. Мочевина плазмы крови и монооксид азота участвуют в поддержании температурного гомеостаза организма при бактериальной эндотоксинемии, сопровождающейся лихорадкой. 4. Утечка L-аргинина в цикл синтеза мочевины и усиленное его использование в процессах мочевинообразования имеет важное значение в развитии компенсаторно-адаптивных перестроек в метаболизме организма при бактериальной эндотоксинемии и механизмах эндогенного антипиреза.

Литература

1. Висмонт, Ф.И. Эндотоксинемия и дизрегуляторная патология // Ф.И. Висмонт, А.Ф. Висмонт // Новости медико-биологических наук. - 2008. – №1-2. – С. 41-46.
2. Висмонт, Ф.И. Зависимость терморегуляции от состояния детоксикационной функции печени и выраженности эндотоксинемии / В сб.: Нейрогуморальные механизмы регуляции функции в норме и патологии / Отв. ред. В.Н. Гурин. - Минск: Бизнесофсет. – 2007. – С. 54-58.
3. Гурин, А.В. Терморегуляторные процессы у крыс в условиях блокады синтеза монооксида азота в центральной нервной системе / В сб.: Функциональная роль монооксида азота и пуринов / Под ред. В.Н. Турина - Мн.: Бизнесофсет. – 2001. – С. 37-39.
4. Шугалей, В.С. Содержание мочевины и активность аргиназы в органах крыс при акклимации к холоду / В.С. Шугалей, Л.С. Козина // Физиол. ж. СССР им. И.М. Сеченова. – 1977. – Т.63, №8. – С. 1199-1202.
5. Тэйлор, Б.С. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции / Б.С. Тэйлор, Л.Х. Аларсон, Т.Р. Биллиар // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. – С. 905-923.
6. Яковлев, М.Ю. Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека / М.Ю. Яковлев // Физиология человека. – 2003. – Т. 29, № 4. – С.98-109.
7. 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.
8. Scibior, D. Arginine - metabolism and functions in the human organism / D.Scibior, H. Czczot // Postepy Hig. Med. Dosw. – 2004. – Vol 58. – P. 321-332.
9. Jones, P.G. Fever in uremia: production of leukocytic pyrogen by chronic dialysis patients / P.G. Jones [et all] // Ann. J. Kidney Dis. – 1985. – Vol. 6, № 4 – P. 241-244.