

## МЕДИКО – БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

### АНТИПИРЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ L-ВАЛИНА У КРЫС И КРОЛИКОВ В УСЛОВИЯХ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ

Висмонт А.Ф.

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

Актуальность. В последнее время в нашей стране и за рубежом наблюдается повышение интереса к физиологии и биохимии, фармакологии и вопросам клинического применения аминокислот и их производных. Однако, по проблеме влияния аминокислот на температуру тела, в частности, на терморегуляцию при лихорадке, имеются лишь единичные разрозненные данные (1, 2, 3).

Ранее нами было показано, что как центральное так и системное введение в организм аминокислоты L-аргинина оказывает выраженный антипиретический эффект (2, 3) и что повышение функциональной активности L-аргиназы печени имеет важное значение в патогенезе эндотоксिनтовой лихорадки (4, 5). В то же время, значимость аминокислоты L-валина крови в процессах теплообмена при лихорадочных состояниях не изучалась, хотя его участие в этих процессах вполне закономерно, учитывая, что L-валин является ингибитором L-аргиназы печени (8, 11), активность которой будет сказываться на активности L-аргинин-NO-системы, системы имеющей важное значение в регуляции физиологических и патологических процессов (7, 9), в механизмах терморегуляции и патогенезе лихорадки (3, 9).

Цель исследования – выяснить значимость L-валина в регуляции температуры тела при эндотоксिनтовой лихорадке.

Материалы и методы исследования. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых 117 крысах и 9 кроликах самцах. Для создания общепринятой модели эндотоксिनтовой лихорадки использовали эндотоксин E. Coli (серотип 0111:B4 Sigma, США), который вводили однократно: крысам – внутрибрюшинно в дозе 5 и 50 мкг/кг, кроликам – в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг. Для выяснения значимости аргиназы печени в регуляции температуры тела использовали ингибитор аргиназы N<sup>ω</sup>-гидрокси-нор-L-аргинин (norNOHA) фирмы BACHEM (Германия), а также L-валин (RothGmbH+Co.KG, Германия). NorNOHA в дозе 10 мг/кг вводили крысам внутрибрюшинно ежедневно, а L-валин в дозе 100 мг/кг внутрибрюшинно через день, в течение недели, а кроликам – однократно, внутривенно на высоте эндотоксिनтовой лихорадки.

Содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс определяли методом обращено-фазной жидкостной хроматографии на аналитической колонке ZorbaxEclipseXDB-C<sub>8</sub> (6). Активность аргиназы печени определяли спектрофотометрически (10). У крыс и кроликов ректальную температуру (в прямой кишке на глубине 3,0 и 5,0 см соответственно) измеряли с помощью

электротермометра ТПЭМ-1. В ряде опытов регистрацию глубокой температуры тела у бодрствующих крыс осуществляли при помощи телеметрической установки MiniMitter (модель 4000, США). Все полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной биологической статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты исследования. В опытах установлено, что внутрибрюшинное введение крысам ( $n=12$ ) бактериального эндотоксина (ЛПС) в дозе 5,0 мкг/кг приводит к медленному повышению температуры тела и слабо выраженной гипертермии. Температура тела повышалась на 1,3°C, 1,2°C, 1,8°C, 1,2°C и 0,7°C ( $p<0,001$ ) через 120, 180, 240, 300 и 330 мин. после инъекции эндотоксина и составляла  $38,9\pm 0,11$ ;  $38,8\pm 0,12$ ;  $39,4\pm 0,10$ ;  $38,8\pm 0,13$  и  $38,3\pm 0,12$ °C соответственно. После введения ЛПС в дозе 50 мкг/кг имело место более выраженное и длительное повышение температуры тела (рис.). Введение в кровотоки ЛПС (0,5 мкг/кг) кроликам ( $n=9$ ) приводило к быстрому и значительному повышению ректальной температуры. Температура тела у животных через 30, 60, 120 и 180 мин. после введения ЛПС возрастала на 0,6°C, 1,3°C, 1,6°C и 1,2°C ( $p<0,001$ ) и составляла соответственно  $39,2\pm 0,12$ ;  $39,9\pm 0,10$ ;  $40,2\pm 0,11$  и  $39,8\pm 0,12$ °C.

Действие ЛПС (5,0 мкг/кг) у крыс ( $n=8$ ) через 120, 240 и 330 мин после введения экзопирогена приводило к повышению активности аргиназы в печени на 53,1%, 31,3% и 23,3% ( $p<0,05$ ) соответственно, по сравнению с контролем. Активность аргиназы в печени у крыс контрольной группы через 120, 240 и 330 мин после внутрибрюшинного введения физраствора составляла  $5,63\pm 0,27$  ( $n=8$ ),  $5,26\pm 0,31$  ( $n=7$ ) и  $5,38\pm 0,29$  ( $n=7$ ) мкмоль мочевины/г сырой ткани·час.

В условиях эндотоксиновой лихорадки, через 120 мин. после инъекции ЛПС (50 мкг/кг), в плазме крови у крыс ( $n=7$ ) снижалось содержание аминокислоты L-валина на 21,1% ( $p<0,05$ ) и составляло  $133,6 \pm 8,12$  мкмоль/л.

В опытах на крысах ( $n=8$ ) установлено, что ежедневное внутрибрюшинное введение *nor*-NOHA в дозе 10 мг/кг в течение недели, как и L-валина в дозе 100 мг/кг через день в течение недели достоверно не сказывается на ректальной температуре и приводит к снижению активности аргиназы печени на 71,2% ( $p<0,05$ ) и 83,5% ( $p<0,05$ ), по сравнению с животными ( $n=7$ ) в контроле (внутрибрюшинное введение физраствора).

Выявлено, что лихорадочная реакция на внутрибрюшинное введение ЛПС у крыс ослабляется предварительным ежедневным внутрибрюшинным введением в течение 7 дней раствора *nor*-NOHA (10 мг/кг), и полностью устраняется предварительным внутрибрюшинным введением аминокислоты L-валина в дозе 100 мг/кг. Так, температура тела у крыс в контроле (через 7 дней после ежедневного внутрибрюшинного введения 1,0 мл физраствора) под влиянием внутрибрюшинного введения ЛПС (5,0 мкг/кг) через 120 и 180 мин от начала инъекции эндотоксина, повышалась на  $1,2\pm 0,14$  °C ( $n=10$ ) и  $1,1\pm 0,11$  °C ( $n=10$ ) соответственно, а в условиях действия *nor*-NOHA через 2 и 3 ч после введения ЛПС – на  $0,4\pm 0,06$  и  $0,3\pm 0,02$  °C ( $n=8$ ). В условиях действия в организме L-валина, лихорадочная реакция у крыс на ЛПС не развивалась,

даже если экзопироген вводили в дозе 50 мкг/кг (рис.).

В опытах на кроликах ( $n=7$ ) показано, что введение в кровоток L-валина (100мг/кг) на высоте подъема температуры тела при эндотоксиновой лихорадке (через 60 мин от момента инъекции ЛПС) приводит к понижению температуры тела и ослаблению лихорадки. Так, через 15 и 30 мин после введения L-валина ректальная температура на высоте лихорадки снижалась по сравнению с контролем на  $0,5\pm 0,08$  ( $p<0,01$ ) и  $0,7\pm 0,10$  °C ( $p<0,01$ ). Через 60 мин после инъекции L-валина антипиретический эффект препарата уже отсутствовал.

Таким образом, действие бактериального эндотоксина в организме животных приводит к повышению температуры тела, активности L-аргиназы печени и к снижению уровня аминокислоты L-валина в плазме крови. Есть основание полагать, что при эндотоксиновой лихорадке, на ранних этапах ее развития, сопровождающихся повышением активности L-аргиназы печени, вероятно в результате снижения уровня в крови L-валина – эндогенного ингибитора ее активности (8, 11), имеет место усиленное использование аминокислоты L-аргинина – субстрата L-аргиназы печени, в цикле мочевины, что вносит существенный вклад в пул эндогенного аргинина (12), имеющегося в гепатоцитах и в крови, а именно приводит к значительному снижению его уровня, а соответственно активности L-аргинин-NO-системы и к возникновению вазоконстрикции, снижению теплоотдачи. По-видимому, депрессия L-аргиназы печени L-валином, сопровождающаяся повышением уровня L-аргинина и активности L-аргинин-NO-системы, нарушает развитие характерной терморегуляторной реакции организма на бактериальный эндотоксин и препятствует развитию лихорадочной реакции.

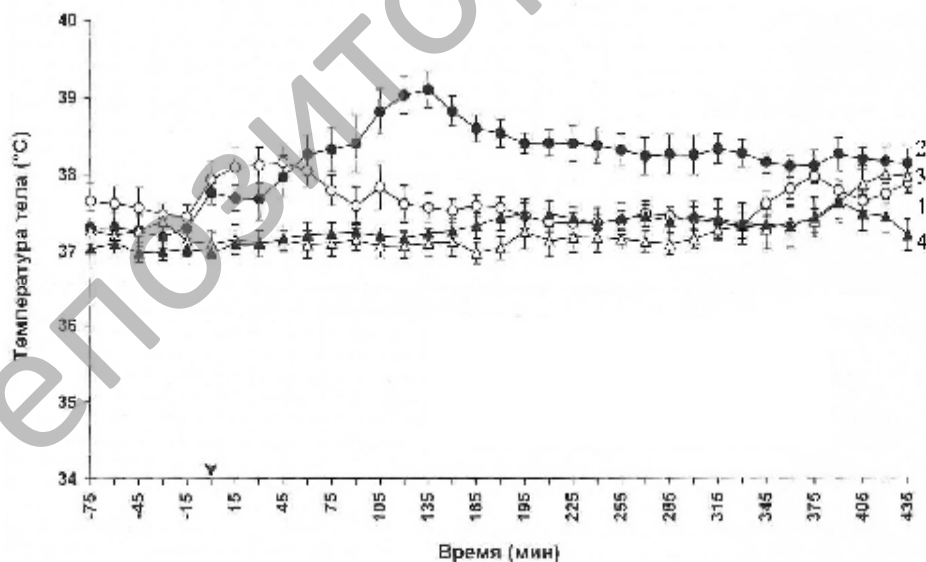


Рис. Изменения ректальной температуры у крыс после внутрибрюшинного введения

- 1 - физраствора ( $n=8$ ); 2 - ЛПС (50 мкг/кг,  $n=6$ );  
3 - L-валина (100 мг/кг,  $n=6$ ); 4 - ЛПС (50 мкг/кг) в условиях действия L-

валина (100 мг/кг, n=7).

Стрелка - момент введения ЛПС (50 мкг/кг), n - количество животных в группе.

#### **Выводы:**

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что формирование терморегуляторных реакций на действие бактериального эндотоксина у крыс и кроликов зависит от содержания в плазме крови аминокислоты L-валина и активности аргиназы печени. По-видимому, снижение содержания L-валина в крови является важным патогенетическим фактором эндотоксической лихорадки, а повышение его уровня в крови является одним из факторов эндогенного антипиреза. Очевидно, что вмешательство в процессы терморегуляции с помощью аминокислоты L-валина или фармакологических веществ, способных направленно изменять содержание аминокислот в плазме крови, может быть использовано в качестве эффективного средства коррекции процессов теплообмена, эндогенного антипиреза при лихорадочных состояниях и повышения устойчивости организма к действию пирогенных факторов.

#### **Литература**

1. Висмонт Ф.И., Степаненко Н.Н. Нейрохимические механизмы антипиретического действия L-аргинина // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. 1997. № 2. С. 102–106.
2. Висмонт А.Ф. Об участии L-аргинина в центральных механизмах эндогенного антипиреза при бактериальной эндотоксинемии // Актуальные проблемы современной медицины 2006 : материалы Междунар. науч. конф. студентов и молодых ученых, посвящ. 85-летию БГМУ : в 2 ч. / под ред. С.Л. Кабака, А.С. Леонтьюка. Минск : БГМУ. Ч. 1. 2006. С. 73–75.
3. Висмонт Ф.И., Висмонт А.Ф. Эндотоксинемия и дисрегуляторная патология // Новости медико-биологических наук. 2008. № 1/2. С. 41–46.
4. Висмонт А.Ф., Лобанок Л.М. Об участии мочевины и аргиназы печени в процессах терморегуляции при эндотоксической лихорадке // Весці НАН Беларусі. 2010. № 4. С. 20-24.
5. Висмонт А.Ф., Лобанок Л.М. Роль аргиназы печени в процессах детоксикации и ее участия в механизмах регуляции температуры тела при бактериальной эндотоксинемии // Доклады НАН Беларусі. 2011. Т. 55, № 2. С. 83–87.
6. Дорошенко Е.М. Методические аспекты и трудности анализа свободных (физиологических) аминокислот и родственных соединений в биологических жидкостях и тканях // В сб. тез. Республ. научн. конф. по аналитической химии с междун. участием «Аналитика РБ - 2010». Минск, 14-15 мая 2010. Минск, 2010. С.126.
7. Тейлор Б.С., Аларсон Л.Х., Биллиар Т.Р. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции // Биохимия. 1998. Т. 63, № 7. С. 905-923.

8. Carvajal N., Cederbaum S.D. Kinetics of inhibition of rat liver and kidney arginase by proline and branched chain amino acids // *Biochim. Biophys. Acta*. 1986. Vol. 870, N 2. P. 181-184.

9. Gerstberger R. Nitric Oxide and Body Temperature Control // *News Physiol. Sci.* 1999. Vol. 14, N 2. P. 30-36.

10. Geyer J.W., Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates // *Anal. Biochem.* 1971. Vol. 39, N 2. P. 412–417.

11. Lerzynski G., Suschek C.V., Kolb-Bachoten V. In hepatocytes the regulation of NOS-2 activity at physiological L-arginine levels suggests a close link to the urea cycle // *Nitric Oxide*. 2006. Vol. 14, N 4. P. 300-308.

12. Scibior D., Cieczot H. Arginine – metabolism and functions in the human organism // *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2004. Vol. 58. P. 321-332.