

## ОБ УЧАСТИИ L-АРГИНИН-NO СИСТЕМЫ В МЕХАНИЗМЕ АНТИПИРЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ L-ВАЛИНА В УСЛОВИЯХ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

*В опытах на крысах и кроликах установлено, что L-аргинин-NO система, активность которой определяя уровень монооксида азота (NO) в крови, играет важную роль в механизмах антипиретического действия L-валина в условиях эндотоксिनотической лихорадки. Выявлено, что депрессия аргиназы печени, вызываемая введением в организм L-валина, приводит к повышению активности L-аргинин-NO системы, уровня  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в крови и препятствует развитию эндотоксिनотической лихорадки. Очевидно, уровень валина в плазме крови и активность синтеза монооксида азота имеют значимость для процессов терморегуляции при эндотоксिनотической лихорадке.*

**Ключевые слова:** L-аргинин-NO система, аргиназа печени, L-валин, температура тела, эндотоксिनотическая лихорадка.

V. V. Lobanova, F. I. Vismont

## ABOUT L-ARGININE-NO SYSTEM PARTISIPATION IN THE MECHANISMS OF L-VALINE ANTIPIRETTIC ACTION DURING ENDOTOXINE FEVER

*It has been established in the experiments on rats and rabbits that L-arginine-NO system activity, determining the level of nitric oxide (NO) in blood, has an important role in the mechanisms of L-valine antipyretic action during endotoxine fever. It was revealed that depression of liver arginase by L-valine injection induced L-arginine-NO system activity, increase  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  blood level and prevents an increase of body temperature. Obviously, valine level in blood plasma and nitric oxide syntese activity has a great value for thermoregulation processes during endotoxine fever.*

**Key words:** L-arginine-NO system, liver arginase, L-valine, body temperature, endotoxine fever.

В последнее время в нашей стране и за рубежом наблюдается повышение интереса к физиологии и вопросам клинического применения аминокислот и их производных.

Ранее нами было показано, что как центральное так и системное введение в организм аминокислоты L-аргинина, как и L-валина оказывает выраженный антипиретический эффект [1, 3] и что повышение функциональной активности аргиназы печени имеет важное значение в патогенезе эндотоксिनотической лихорадки [2]. Учитывая, что содержание валина в крови, который является ингибитором аргиназы печени [4], будет сказываться на активности L-аргинин-NO-системы, системы определяющей уровень монооксида азота (NO) [8] и имеющей важное значение в механизмах терморегуляции и патогенезе лихорадки [5], были основания полагать, что активность L-аргинин-NO-системы может иметь значение в механизме антипиретического действия L-валина в условиях эндотоксिनотической лихорадки.

Цель исследования: выяснить значимость L-аргинин-NO-системы в механизмах реализации антипиретического действия L-валина в условиях эндотоксिनотической лихорадки.

**Материал и методы.** Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах самцах массой 160–220 г и кроликах обоих полов массой 2,5–3,0 кг. Для создания модели эндотоксिनотической лихорадки использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) эндотоксин E. Coli (серотип 0111:B4 Sigma, США), который вводили однократно: крысам – внутривентриально в дозе 5 и 50 мкг/кг, кроликам – в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг.

С целью выяснения значимости аргиназы печени и L-аргинин-NO системы в регуляции температуры тела использовали L-аргинин моногидрохлорид (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия) – субстрат как для аргиназы, так и для NO-синтазы [8], ингибиторы аргиназы N<sup>o</sup>-гидрокси-нор-L-аргинин (nor NOHA) фирмы BACHEM (Германия) и L-валин фирмы Carl Roth GmbH+Co.KG (Германия), а также несес-

лестивный блокатор NO-синтазы – метиловый эфир N<sup>g</sup>-нитро L-аргинина (L-NAME) фирмы ACROS ORGANICS (США). Nor-NOHA в дозе 10 мг/кг вводили крысам внутривенно ежедневно в течение недели, а L-валин (100 мг/кг) однократно за 30 мин до начала опыта. Раствор L-аргинина моногидрохлорида (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия) в дозе 100 мг/кг вводили крысам внутривенно, кроликам внутривенно.

Взятие для исследований крови у животных проводилось сразу после декапитации. Содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс определяли методом жидкостной хроматографии на аналитической колонке Zorbax Eclipse XDB-C<sub>8</sub>. Активность аргиназы печени определяли спектрофотометрически [6]. Продукцию NO оценивали по суммарному уровню нитрат/нитритов (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) в плазме крови [7]. 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 Mini Mitter (модель 4000, США). Все полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной биологической статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

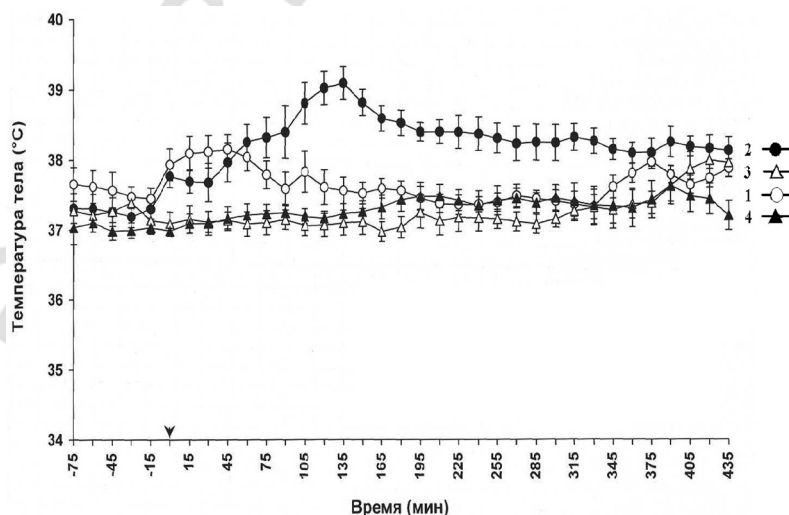
Результаты и обсуждение. Установлено, что внутривенное введение крысам (n = 12) ЛПС (5,0 мкг/кг) приводит к медленному повышению температуры тела и слабо выраженной гипертермии. Температура тела повышалась на 1,3 °C, 1,2 °C, 1,8 °C, 1,2 °C и 0,7 °C (p < 0,001) через 120, 180, 240, 300 и 330 мин. после инъекции эндотоксина и составляла 38,9±0,11; 38,8±0,12; 39,4±0,10; 38,8±0,13 и 38,3±0,12 °C соответственно. 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 и 120 мин после введения ЛПС возрастала на 0,6 °C, 1,3 °C и 1,6 °C (p < 0,001) и составляла, соответственно, 39,2±0,12; 39,9±0,10 и 40,2±0,11 °C.

Действие ЛПС у крыс через 120 и 240 мин после введения экзопирогена приводило к повышению активности аргиназы печени на 53,1% (p < 0,05, n = 8) и 31,3% (p < 0,05, n = 7), соответственно, по сравнению с контро-

лем. Активность аргиназы печени у крыс контрольной группы через 120 и 240 мин после внутривенного введения физраствора, составляла 5,63±0,27 (n = 8) и 5,26±0,31 (n = 7) мкмоль мочевины/г сырой ткани·час. В условиях эндотоксической лихорадки, через 120 мин. после инъекции ЛПС, в плазме крови у крыс (n = 7) снижалось содержание аргинина (на 32,4%, p < 0,02) и валина (на 21,1%, p < 0,001). Концентрация аргинина и валина в плазме крови крыс в этих условиях составляла соответственно 163,5±12,96 и 133,6 ± 8,12 мкмоль/л.

В опытах на крысах установлено, что ежедневное внутривенное введение nor-NOHA в дозе 10 мг/кг в течение недели, как и однократная внутривенная инъекция L-валина в дозе 100 мг/кг достоверно не сказывались на ректальной температуре и приводили к снижению активности аргиназы печени, соответственно, на 71,2% (p < 0,05, n = 8) и 83,5% (p < 0,05, n = 8). Лихорадочная реакция на ЛПС у крыс ослаблялась предварительным ежедневным внутривенным введением в течение 7 дней раствора nor-NOHA (10 мг/кг) и полностью устранялась предварительной внутривенной инъекцией L-валина (100 мг/кг). Так, температура тела у крыс в контроле (через 7 дней после ежедневного внутривенного введения 1,0 мл физраствора) под влиянием ЛПС (5,0 мкг/кг), через 120 и 180 мин от начала инъекции эндотоксина, повышалась на 1,2±0,14°C (p < 0,001, n = 10) и 1,1±0,11 °C (p < 0,001, n = 10) соответственно, а в условиях действия nor-NOHA через 2 и 3 часа после введения ЛПС – на 0,4±0,06 (n = 8) и 0,3±0,02°C (n = 8). В условиях действия в организме L-валина, лихорадочная реакция у крыс не развивалась, даже если ЛПС экзопироген вводили в дозе 50 мкг/кг (рис. 1).

Внутривенное введение L-аргинина моногидрохлорида (100 мг/кг) кроликам в условиях действия ЛПС оказывало выраженный антипиретический эффект и приводило к повышению содержания NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в крови. Снижение ректальной температуры на высоте лихорадки через 15 и 30 мин. после введения аминокислоты составляло 0,7 °C (p < 0,05) и 0,8 °C (p < 0,05). Уровень NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в плазме крови, через 30 мин. после инъекции, повышался на 27,1% (p < 0,05, n = 7) и составлял 10,3±1,20 мкмоль/л соответственно.



Стрелка – момент введения ЛПС (50,0 мкг/кг), n – количество животных в группе

Рис. 1. Изменения ректальной температуры у крыс после внутривенного введения: 1 – физраствора (n = 8); 2 – ЛПС (50,0 мкг/кг, n = 8); 3 – L-валина (100,0 мг/кг, n = 6); 4 – ЛПС (50,0 мкг/кг) в условиях действия L-валина (100,0 мг/кг, n = 7)

Выявлено, что в условиях предварительного (за 30 мин до инъекции эндотоксина) введения в организм L-NAME (25 мг/кг), действие ЛПС у крыс ( $n = 7$ ), через 120 мин. после инъекции, сопровождается менее значимым повышением температуры тела, а также снижением в плазме крови уровня  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  на 48,7% ( $P < 0,05$ ).

Заключение. Результаты проведенных исследований дают основания заключить, что активность L-аргинин-NO системы, определяя уровень NO в крови, играет важную роль в механизме антипиретического действия L-валина в условиях эндотоксиновой лихорадки.

### Литература

1. Висмонт, Ф. И. Нейрохимические механизмы антипиретического действия L-аргинина / Ф. И. Висмонт, Н. Н. Степаненко // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. – 1997. – № 2. – С. 102–106.
2. Висмонт, А. Ф. Об участии мочевины и аргиназы печени в процессах терморегуляции при эндотоксиновой лихорадке /

А. Ф. Висмонт, Л. М. Лобанок // Весці НАН Беларусі. – 2010. – № 4. – С. 20–24.

3. Висмонт, А. Ф. Антипиретическое действие L-валина в условиях эндотоксиновой лихорадки в эксперименте / А. Ф. Висмонт, Ф. И. Висмонт // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2011. – № 3. – С. 62–68.

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

5. Gerstberger, R. Nitric oxide and body temperature control / R. Gerstberger // News Physiol. Sci. – 1999. – Vol. 14, N 2. – P. 30–36.

6. 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.

7. Moshage, H. Nitrite and nitrate determinations in plasma: A critical evaluation / H. Moshage [et all.] // Clin. Chem. – 1995. – Vol. 41, № 6. – P. 892–896.

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