

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»

**ВОПРОСЫ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ  
ФИЗИОЛОГИИ**

*Сборник научных трудов,  
посвященный 100-летию со дня рождения  
Аринчина Николая Ивановича*

Гродно  
ГрГМУ  
2014

# ОБ УЧАСТИИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ И МОЧЕВИНЫ КРОВИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ

*Висмонт А.Ф., Лобанок Л.М.*

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск*

**Введение.** В настоящее время накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих о значимости роли мочевины и важного фермента цикла мочевины – аргиназы печени в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии. Имеются сведения, что между функциональным состоянием печени и процессами регуляции температуры тела существует тесная взаимосвязь [1,4]. В то же время данные об участии аргиназы печени и мочевины в патогенезе эндотоксической лихорадки отсутствуют.

Цель работы – выяснить роль аргиназы печени и мочевины крови в механизмах развития эндотоксической лихорадки.

**Материалы и методы исследования.** Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах и кроликах обоего пола. Для создания общепринятой модели эндотоксической 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 в регуляции температуры тела использовали ингибитор аргиназы N<sup>ω</sup>-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<sup>G</sup>-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

раствор мочевины (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия).

Концентрацию мочевины в крови определяли фотометрически, а активность аргиназы в печени – спектрофотометрически [3]. Содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс определяли методом обращенно-фазной жидкостной хроматографии на аналитической колонке Zorbax Eclipse XDB-C<sub>8</sub>. Содержание интерлейкина-1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ), интерлейкина-2 (ИЛ-2) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) в плазме крови определяли радиоиммунным методом наборами реактивов ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург, Россия).

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 $^{\circ}$ C (P<0,05), 1,2 $^{\circ}$ C (P<0,05), 1,8 $^{\circ}$ C (P<0,05) и 0,7 $^{\circ}$ C (P<0,05) через 120, 180, 240 и 330 мин. после инъекции экзопирогена и составляла 38,9 $\pm$ 0,11; 38,8 $\pm$ 0,12; 39,4 $\pm$ 0,10 и 38,3 $\pm$ 0,12 $^{\circ}$ C соответственно. Введение в кровоток ЛПС (0,5 мкг/кг) 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 $^{\circ}$ C (P<0,05), 1,3 $^{\circ}$ C (P<0,05), 1,6 $^{\circ}$ C (P<0,05) и 1,2 $^{\circ}$ C (P<0,05) и составляла соответственно 39,2 $\pm$ 0,12; 39,9 $\pm$ 0,10; 40,2 $\pm$ 0,11 и 39,8 $\pm$ 0,12 $^{\circ}$ C.

Действие ЛПС у крыс (n=8) через 120, 180 и 330 мин после введения эндотоксина приводило к повышению активности аргиназы в печени на 53,1% (P<0,05), 39,2% (P<0,05) и 27,8% (P<0,05) соответственно, по сравнению с контролем. Активность аргиназы в печени у крыс контрольной группы через 120, 180 и 330 мин после внутрибрюшинного введения физраствора составляла 5,63 $\pm$ 0,27 (n=8), 5,24 $\pm$ 0,22 (n=7) и 5,38 $\pm$ 0,29 (n=7) мкмоль мочевины/г ткани $\cdot$ ч.

Выявлено, что действие ЛПС в организме у крыс через 120, 180, 240 и 330 мин после инъекции сопровождается повышением

на 26,0% (n=8, P<0,05), 30,7% (n=8, P<0,05), 44,7% (n=7, P<0,05) и 39,8% (n=6, P<0,05) у опытных животных по сравнению с контролем (введение физраствора) концентрации мочевины в плазме крови, которая составляла  $4,4 \pm 0,50$ ;  $5,0 \pm 0,57$ ;  $5,4 \pm 0,47$  и  $5,2 \pm 0,43$  мМоль/л соответственно.

ЛПС у крыс, через 120 мин после инъекции, вызывал повышение концентрации ряда интерлейкинов, предполагаемых на сегодняшний день "медиаторов" лихорадки, и в частности, ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 в плазме крови на 241,7% (p<0,05, n=6) и 180,6% (p<0,05, n=6) соответственно. Уровень ИЛ-2 в этих условиях достоверно не изменялся.

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 эндотоксиновой лихорадке имело место снижение концентрации в плазме крови аргинина, аминокислоты, которая является субстратом как для аргиназы, так и NO-синтазы. В то же время уровень валина – ингибитора аргиназы [2] после введения в организм ЛПС – повышался.

Как показали опыты, внутрибрюшинное введение крысам и введение в кровоток 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. В условиях гипотермии, вызванной внутрибрюшинным введением мочевины (через 60 мин после инъекции), 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 валика в плазме не изменялся. Выявлено, что действие ЛПС в условиях предварительного введения животным мочевины в дозе 300 мг/кг сопровождается ослаблением лихорадочной реакции. Внутрибрюшинное введение мочевины в дозе 3,0 г/кг за 30 мин до инъекции ЛПС препятствовало повышению уровня ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 в плазме крови и полностью устраняло у крыс развитие лихорадочной реакции.

Установлено, что ежедневное внутрибрюшинное введение в течение недели крысам ингибитора аргиназы *nor-NOHA* (10 мг/кг), как и однократная внутрибрюшинная 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. Выявлено, что действие ЛПС у крыс ( $n = 7$ ) предварительно получивших *por*-НОНА, сопровождается менее значимым повышением уровня мочевины в крови.

Установлено, что в условиях предварительного введения в организм L-NAME, действие ЛПС у крыс ( $n = 7$ ) через 120 мин после инъекции сопровождается повышением концентрации мочевины на 26,8% ( $p < 0,05$ ) и менее значимым повышением температуры тела.

**Выводы.** Полученные данные позволяют заключить, что температура тела при бактериальной эндотоксинемии у крыс и кроликов зависит от активности аргиназы печени, состояния L-аргинин-НО-системы и уровня мочевины в крови. Есть основания полагать, что повышение активности аргиназы печени является важным патогенетическим фактором эндотоксиновой лихорадки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Висмонт Ф. И. Роль эндотоксинемии в формировании тиреоидного статуса организма и терморегуляции // *Здравоохранение*, 2011. - № 9. – С. 26-30.
2. Carvajal, N. Kinetics of inhibition of rat liver and kidney arginase by proline and branched chain amino acids / N. Carvajal, S.D. Cederbaum // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1986. – Vol. 870, № 2. – P. 181–184.
3. 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.
4. Sechic E., Hunter W. S., Ungar A. L., Blatteis C. M. // *Ann. of New York Acad. of Sci.* Vol. 813. Thermoregulation Tenth International symposium on the pharmacology of thermoregulation. Edit. by C.M. Blatteis. NewYork, 1997. P. 324–326.
5. Treatment with the arginase inhibitor N (omega)-hydroxy-L-arginine improves vascular function and lowers blood pressure in adult spontaneously hypertensive rat / T. Bagnost [et all.] // *J. Hypertens.* – 2008. – Vol. 26, № 6. – P. 1110–1118.