

# ОБ УЧАСТИИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ, L-АРГИНИН -NO-СИСТЕМЫ И МОЧЕВИНЫ КРОВИ В РЕГУЛЯЦИИ СОСУДИСТЫХ ТЕРМОРЕГУЛЯТОРНЫХ РЕАКЦИЙ И ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭНДОТОКСИНЕМИИ

Лобанова В.В., Висмонт Ф.И.

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск*

**Введение.** В настоящее время накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих об участии монооксида азота (NO), мочевины и важного фермента цикла синтеза мочевины – аргиназы печени в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии, и в частности в процессах терморезистентности и терморегуляции [1,2, 3]. В то же время данные об участии аргиназы печени и мочевины в формировании сосудистых терморегуляторных реакций и значимости их взаимодействия в реализации этих реакций при бактериальной эндотоксинемии отсутствуют.

Цель работы – выяснить значимость аргиназы печени, L-аргинин-NO-системы и мочевины крови в формировании сосудистых терморегуляторных реакций при бактериальной эндотоксинемии.

**Материалы и методы исследования.** 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<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 30% раствор мочевины (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия). Концентрацию мочевины в крови определяли фотометрически, а активность аргиназы в печени – спектрофотометрически [5]. Содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс определяли методом обращенно-фазной жидкостной хроматографии на аналитической колонке Zorbax Eclipse XDB-C<sub>8</sub>.

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  $1,3^{\circ}\text{C}$  ( $P<0,05$ ),  $1,2^{\circ}\text{C}$  ( $P<0,05$ ),  $1,8^{\circ}\text{C}$  ( $P<0,05$ ) и  $0,7^{\circ}\text{C}$  ( $P<0,05$ ) 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  $38,3\pm 0,12^{\circ}\text{C}$  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  $0,6^{\circ}\text{C}$  ( $P<0,05$ ),  $1,3^{\circ}\text{C}$  ( $P<0,05$ ),  $1,6^{\circ}\text{C}$  ( $P<0,05$ ) и  $1,2^{\circ}\text{C}$  ( $P<0,05$ ) и составляла соответственно  $39,2\pm 0,12$ ;  $39,9\pm 0,10$ ;  $40,2\pm 0,11$  и  $39,8 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$ . В термонеutralных условиях ( $20-22^{\circ}\text{C}$ ) температура ушной раковины у кроликов ( $n=8$ ) составляла  $27-28^{\circ}\text{C}$ , а через 30 мин. от момента введения кровотока ЛПС отмечалась вазоконстрикция кожи уха и температура последовательно понижалась более чем на  $2^{\circ}\text{C}$  ( $P<0,05$ ). В дозе  $20\text{ мг/кг}$  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 эндотоксиновой лихорадке имело место снижение концентрации в плазме крови аргинина, амнокислоты, которая является субстратов как для аргиназы, так и NO-синтазы. В то же время уровень валина – ингибитора аргиназы [4] 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. 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.** Полученные данные позволяют заключить, что формирование сосудистых терморегуляторных реакций и температуры тела при бактериальной эндотоксинемии у крыс и кроликов зависит от активности аргиназы печени, состояния L-аргинин-NO-системы и уровня мочевины в крови.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Висмонт, Ф.И. Роль эндотоксинемии в дизрегуляционной патологии / Ф.И. Висмонт // *Здравоохранение*. - 2012. - № 1. - С. 17-21.
2. Шугалей, В.С. Содержание мочевины и активность аргиназы в органах крыс при акклимации к холоду / В.С. Шугалей, Л.С. Козина // *Физиол. журн. СССР им. И.М. Сеченова*. - 1977. - Т. 63, № 8. - С. 1199–1202.
3. Bagnost T. 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.
4. 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.
5. 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.