

ОБ УЧАСТИИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ В ИЗМЕНЕНИЯХ АКТИВНОСТИ L-АРГИНИН-NO СИСТЕМЫ, ПРОЦЕССОВ ДЕТОКСИКАЦИИ И ФОРМИРОВАНИИ СОСУДИСТЫХ ТЕРМОРЕГУЛЯТОРНЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭНДОТОКСИНЕМИИ

Висмонт А.Ф., Висмонт Ф.И.

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Введение. Известно, что аргиназа печени имеет значение в процессах образования монооксида азота (NO), детоксикации и жизнедеятельности организма в норме и при патологии [3,4]. Показана значимость аргиназы печени в процессах терморезистентности и акклимации животных к холоду [1,2]. Учитывая, что аминокислота аргинин может использоваться в печени как для процессов мочевинообразования, так и биосинтеза NO [4], имеющего важное значение в регуляции сосудистых терморегуляторных реакций и температуры тела [3], можно было предположить, что активность аргиназы печени будет сказываться на активности L-аргинин-NO системы печени, состоянии эндотелия кровеносных сосудов, а соответственно на формировании сосудистых терморегуляторных реакций организма при бактериальной эндотоксинемии.

Цель работы – выяснить значимость аргиназы печени в изменениях активности L-аргинин-NO системы, детоксикационной функции печени и формировании сосудистых терморегуляторных реакций при эндотоксиновой лихорадке.

Материалы и методы исследований. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных крысах и кроликах обоего пола. Для создания модели эндотоксиновой лихорадки использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) – эндотоксин E. Coli (серия 0111:B4 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 NO в регуляции температуры тела использовали L-аргинин моногидрохлорид (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия), ингибитор аргиназы N^ω-гидрокси-нор-L-аргинин (nor NOHA) фирмы BACHEM (Германия), а также L-валин (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия). Для изучения влияния мочевины и L-аргинина на показатели терморегуляции проводилось введение кроликам внутривенно, а крысам внутрибрюшинно раствора мочевины (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия) или L-аргинина моногидрохлорида (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия). Содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс определяли методом жидкостной хроматографии на аналитической колонке Zorbax Eclipse XDB-C₈ (Дорошенко Е.М., 2010). Уровень мочевины определяли колориметрически, а активность L-аргиназы в печени – спектрофотометрически (Geyer J. W.,

Dabich D., 1971). Продукцию NO оценивали по суммарному уровню нитрат/нитритов ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) в плазме крови (Moshage H. et al., 1995). О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), содержанию в плазме крови фракции «средних молекул» (СМ) и степени токсичности крови (СТК). Определение содержания СМ производили методом кислотнo-этанольного осаждения, разработанным В.М. Мойным с соавт. (1989), СТК-способом, предложенным О.А. Радьковой с соавт. (1985). О ПНС у крыс (гексенал 100,0 мг/кг, внутрибрюшинно) судили по времени нахождения животных в боковом положении (Парк Д.В., 1973). Реакцию поверхностных сосудов ушной раковины у кроликов и кожи основания хвоста у крыс, как специфическую реакцию теплоотдачи, оценивали по изменению температуры мочки уха или корня хвоста. Температуру кожи, как и ректальную измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1.

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) и 1,2 °C (p<0,05) через 120 и 180 мин. после инъекции экзопирогена и составляла 38,9±0,11 °C и 38,8±0,12°C. Введение в кровоток ЛПС кроликам (n=9) приводило к повышению температуры тела на 0,6°C (p<0,05), 1,3°C (p<0,05) и 1,6°C (p<0,05) через 30, 60 и 120 мин. после инъекции эндотоксина. Температура кожи уха у животных при этом понижалась. Так если в термонейтральных условиях (20-22°C) температура ушной раковины у кроликов (n=8) составляла 27–28°C, то через 30 мин. от момента введения ЛПС отмечалась вазоконстрикция кожи уха и температура последнего понижалась более чем на 2°C (p<0,05). Выявлено, что действие ЛПС у крыс (n=7), через 120 и 180 мин после инъекции, приводило к повышению активности аргиназы в печени на 53,1% (p<0,05) и 39,2% (p<0,05) и уровня мочевины в плазме крови на 26,0% (p<0,05) и 30,7% (p<0,05) соответственно. Активность аргиназы в печени у крыс контрольной группы, через 120 и 180 мин. после внутрибрюшинного введения физ. раствора, составляла 5,63±0,27 (n=8) и 5,24±0,29 (n=7) мкМоль мочевины/г.ткани. Через 120 мин после введения экзопирогена имело место повышение в крови у крыс (n=7) уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ на 29,6% (p<0,05) и к снижению концентрации L-аргинина на 32,4% (p<0,02).

Системное действие ЛПС у крыс сопровождалось активацией детоксикационной функции печени. Так ПНС у крыс в условиях лихорадки (через 120 и 180 мин после инъекции ЛПС) уменьшалось соответственно на 21,2% (p<0,05, n=8) и 23,5% (p<0,05, n=7).

Выявлено, что у крыс в условиях угнетения аргиназы печени L-валином (100 мг/кг), действие ЛПС не сопровождалось активацией детоксикационной функции печени, снижением температуры кожи уха у

кроликов или кожи основания хвоста у крыс и лихорадочная реакция у животных на действие бактериального эндотоксина не развивалась.

В опытах на крысах и кроликах показано, что введение в организм животных мочевины (300 мг/кг) препятствует развитию эндотоксиновой лихорадки, а инъекция препарата в кровоток лихорадящим кроликам, на высоте подъема температуры тела, приводит к значительному понижению температуры тела и ослаблению лихорадки.

Выявлено, что введение в кровоток L-аргинина моногидрохлорида в дозе 50 мг/кг (не влияющей на температуру тела интактных животных) в условиях действия в организме ЛПС, через 60 мин после инъекции, приводит к вазодилатации сосудов уха и ослаблению лихорадки. А так как L-аргинин может использоваться в печени как для процессов мочевинообразования, так и биосинтеза NO [1], были основания полагать, что выявленные эффекты мочевины могут быть связаны с изменением активности L-аргинин-NO системы, а соответственно уровня NO.

Выводы. Состояние детоксикационной функции печени, температура тела и формирование сосудистых терморегуляторных реакций организма у крыс и кроликов при действии в организме животных бактериального эндотоксина, зависят от активности L-аргиназы печени, L-аргинин-NO системы и уровня мочевины в крови. По-видимому, утечка L-аргинина в цикл мочевины и усиленное его использование в процессах мочевинообразования имеют важное значение в механизмах формирования сосудистых терморегуляторных реакций при бактериальной эндотоксинемии, а уровень мочевины в крови, регулируя активность L-аргинин-NO системы и L-аргиназы печени, определяет их характер и выраженность.

Литература

1. Абдуллаев, Р.А. Активность аргиназы мозга и печени при гипотермии / Р.А. Абдуллаев, Э.З.Эмирбеков // Укр. биохим. журн. – 1991. – Т. 63, № 2. – С. 108–111.
2. 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.
3. Durante, W. Arginase: A critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function / W. Durante, F.K. Johnson, R.A. Johnson // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2007. – Vol. 34, № 9. – P. 906–911.
4. Scibior, D., Czeczot H. Arginine - metabolism and functions in the human organism / D. Scibior, H. Czeczot // Postepy Hig. Med. Dosw. – 2004. – Vol. 58. – P. 321–332.