

## **АНАЛИЗ ЦЕНТРАЛЬНЫХ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ГИПОТЕРМИЧЕСКОГО И АНТИПИРЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АНГИОТЕНЗИНА-2, ВВОДИМОГО В ЖЕЛУДОЧКИ МОЗГА**

Известно, что действие в организме пирогенов бактериального происхождения, приводящее к развитию лихорадки, реализуется через многие центральные и периферические механизмы. В частности, изменяется соотношение важнейших нейромедиаторов и нейропептидов в тканях головного мозга и повышается активность симпатической нервной системы (СНС). В таких условиях изменяется содержание в крови глюкозы, свободных жирных кислот, холестерина, глюкокортикоидов, катехоламинов, гормонов гипофизарно-тиреоидной системы и др [7, 8]. В связи с этим особое значение приобретает изучение центральных и периферических механизмов действия некоторых антипиретиков. Имеющиеся в настоящее время данные позволяют предположить существование в центральной нервной системе нескольких независимых антипиретических систем, в частности, аргинин-вазопрессиновой [7]. По мнению некоторых исследователей, на эту роль может также претендовать ренин-ангиотензиновая система (РАС), специфическая локализация которой в основном представлена нейронными группами в гипоталамических и стволовых структурах мозга [3, 6, 7]. Изучение РАС, важно и с той точки зрения, что ее влияние распространяется на многие функции организма. Так, известно,

что активный компонент РАС – ангиотензин-2 (а-2), участвует в регуляции кровяного давления и водно-электролитного баланса. Кроме того, а-2 относятся к одному из многих факторов, влияющих на состояние СНС и участвующих в контроле освобождения гипоталамических гормонов [3,4]. В литературе имеются также свидетельства участия РАС в процессах терморегуляции [1, 2, 3, 4, 5]. Имеются сведения об угнетении РАС в условиях пирогеналовой гипертермии и об активации этой системы при перегревании [6]. Вместе с тем не изучены изменения важнейших показателей энергетического обмена при центральном действии а-2. Не решена проблема взаимодействия между важнейшими центральными нейромедиаторными системами и РАС мозга.

Учитывая вышеизложенное, большой интерес представляет изучение центрального действия а-2 на состояние некоторых периферических звеньев химической терморегуляции, а также выяснение участия центральных медиаторных механизмов в реализации действия этого вещества в норме и при пирогеналовой гипертермии. В связи с этим в настоящем исследовании были использованы блокаторы м– и н– холинорецепторов, а изучаемыми показателями служили глубокая температура тела и содержание в крови гормонов инсулина и кортизола.

### Методика

Опыты выполнены на ненаркотизированных кроликах-самцах массой 2,5-3 кг и крысах-самцах массой 160-180 г. Для изменения активности и РАС мозга использовали а-2 (10 мкг на животное) ("Sigma", США), а для блокады центральных холинореактивных систем – м-холиноблокатор метамизил (100 мкг на животное) и н-холиноблокатор ИЭМ-506 (β-этилдифацил) (100 мкг на животное). Водные растворы препаратов, приготовленные на апиrogenной бидистиллированной воде, вводили животным в полость правого бокового желудочка (в.ж.) через предварительно вживленные химиотроды в объеме 5 мкл крысам и 10 мкл кроликам не ранее, чем через 7 суток после операции. Для вызывания лихорадочной реакции использовали липополисахарид (ЛПС) пирогенал (производства НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи). ЛПС вводили однократно в краевую вену (в.в.) уха кроликам в дозе 5 мкг/кг и внутрибрюшинно (в.б.) крысам в дозе 50 мкг/кг. Опыты проводились при температуре окружающей среды 20-22 °С. Температура (Т) тела регистрировалась электротермометром ТПЭМ-1 в прямой кишке на глубине 3 см у крыс и 5 см у кроликов через каждые 15 мин. Кровь у кроликов брали из краевой вены уха. Содержание инсулина и кортизола в сыворотке крови определяли радиоиммунологическим методом (наборы производства ИБОХ НАН Беларуси).

Подопытные животные были разделены на следующие основные группы:

I (кролики):

1: бидист. вода (в.в.) + бидист. вода (в.ж.) с интервалом 60 мин (n=6)

2: бидист. вода (в.в.) + а-2 (в.ж.) с интервалом 60 мин (n=6)

3: ЛПС (в.в.) + бидист. вода (в.ж.) с интервалом 60 мин (n=6)

4: ЛПС (в.в.) + а-2 (в.ж.) с интервалом 60 мин (n=6)

II (крысы):

1: ЛПС (в.б.) + бидист. вода (в.ж.) с интервалом 15 мин + бидист. вода (в.ж.) с интервалом 15 мин (n=9)

2: ЛПС (в.б.) + бидист. вода (в.ж.) с интервалом 45 мин + а-2 (в.ж.) с интервалом 15 мин (n=8)

3: ЛПС (в.б.) + метамизил (в.ж.) с интервалом 45 мин + бидист. вода (в.ж.) с интервалом 15 мин (n=9)

4: ЛПС (в.б.) + метамизил (в.ж.) с интервалом 45 мин + а-2 (в.ж.) с интервалом 15 мин (n=9)

5: ЛПС (в.б.) + ИЭМ-506 (в.ж.) с интервалом 45 мин + бидист. вода (в.ж.) с интервалом 15 мин (n=9)

6: ЛПС (в.б.) + ИЭМ-506 (в.ж.) с интервалом 45 мин + а-2 (в.ж.) с интервалом 15 мин (n=10)

**Результаты и их обсуждение**

Опыты на кроликах (гр. I.2, таб) показали, что центральное действие а-2 сопровождается снижением Т тела на 0.7 °С и 0.72 °С по сравнению с контролем (гр. I.1, таб) через 15 и 30 мин после введения пептида в систему желудочков мозга, соответственно.

Группа животных	Кортизол нмоль/л	Инсулин мкед/мл	Температура тела °С
Контроль (Гр.I.1) через 60 мин после в.в. введения бидист воды и через 15 мин после в.ж. введения бидист воды	166,44±10,5	60,38±14,01	39,06±0,13
через 60 мин после в.в. введения бидист воды и через 30 мин после в.ж. введения бидист воды	158,85±7,3	54,85±5,92	38,96±0,08
Опыт (Гр.I.2) через 60 мин после в.в. введения бидист воды и через 15 мин после в.ж. введения а-II	165,59±12,17	29,71±6,98	38,46±0,17*
через 60 мин после в.в. введения бидист воды и через 30 мин после в.ж. введения а-II	226,89±8,81*	22,39±2,41*	38,34±0,22*
Контроль (Гр.I.3) через 60 мин после в.в. введения ЛПС и через 15 мин после в.ж. введения бидист воды	196,77±30,52	116,16±18,91	40,36±0,19*
через 60 мин после в.в. введения ЛПС и через 15 мин после в.ж. введения бидист воды	285,61±28,48*	43,47±10,38	40,42±0,15*
Опыт (Гр.I.4) 75 мин через 60 мин после в.в. введения ЛПС и через 15 мин после в.ж. введения а-II	178,64±21,75	71,96±7,54*	39,50±0,18*
90 мин через 60 мин после в.в. введения ЛПС и через 15 мин после в.ж. введения а-II	259,02±51,12	45,10±11,42	39,46±0,12*

**Таб.** Влияние ангиотензина-2 при его центральном введении на температуру тела и содержание кортизола и инсулина в периферической крови у кроликов в норме и при пирогеналовой гипертермии.

\* - изменения достоверны по отношению к контролю (p<0,05)

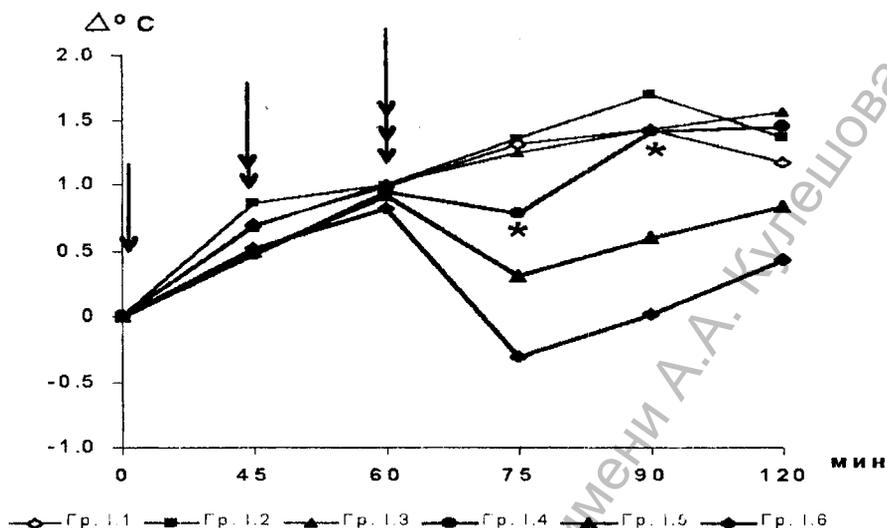
Уровень инсулина снизился на 58,98% через 30 мин после в.ж инъекции а-2, а концентрация кортизола возросла до 142,8% (по сравнению с соответствующей мин контроля, таб). В следующей серии экспериментов изучалось влияние центрального действия а-2 на Т тела, уровень инсулина и кортизола в периферической крови у кроликов в условиях, моделирующих лихорадку. В контрольной серии опытов (гр I.3, таб) было показано, Т тела повышалась на 1,28, 1,18, 1,34, 1,52 °С на 60, 75, 90 и 120-ой минутах после инъекции ЛПС в кровотока по сравнению с гр I.1, соответственно. Развитие гипертермии сопровождалось значительным повышением уровня инсулина (до 192,4% на 75-ой мин развития лихорадки по сравнению с контролем (гр I.1, таб)). При этом уровень кортизола также увеличился и достиг 178,8% через 90 мин после инъекции ЛПС. Эти данные подтверждают существующее представление об интенсификации процессов термогенеза, направленных на поддержание высокой Т тела в условиях эндотоксической лихорадки [6,7].

В следующей серии опытов был показан отчетливый антипиретический эффект центрального действия а-2 (гр. I.4, таб). Так, его введение через 60 мин после инъекции ЛПС, вызвало снижение Т тела у кроликов на 0,62 и 0,74°С через 15 и 30 мин по сравнению с 75-ой и 90-ой мин развития лихорадки (гр I.3, таб). При этом было отмечено снижение уровня инсулина через 15 мин после введения а-2 (в.ж) на 38% по сравнению с его концентрацией на 75 мин развития гипертермии. Достоверных изменений уровня кортизола в данной серии исследований обнаружено не было.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о гипотермическом и антипиретическом действии а-2 при его центральном введении, что согласуется с данными других авторов [1,2,5]. Кроме того, они согласуются с ранее полученными нами данными об ослаблении тонуса СНС при в.ж введение а-2 [10].

Для изучения центральных медиаторных механизмов антипиретического действия а-2 нами были проведены серии опытов с введением в боковой желудочек мозга крыс веществ, избирательно блокирующих м- и н-холинорецепторы, в условиях эндотоксической лихорадки. При выполнении этих экспериментов мы исходили из существующего представления о важной роли ацетилхолина в центральных механизмах терморегуляции в норме и при гипертермии, вызываемой ЛПС, а так же из анализа данных, полученных нами ранее [6,9].

Опыты показали, что введение крысам ЛПС приводит к медленному нарастанию Т тела (гр. II.1, рис). После внутрибрюшинного введения пирогенала она была выше исходной ( $36,97 \pm 0,46$  °С) на 0,98, 1,31, 1,41, 1,17 °С ( $p < 0,001$ ) через 60, 75, 90 и 120 мин, соответственно. Центральное действие а-2 в условиях пирогеналовой гипертермии (гр. II.2, рис) предотвращало дальнейшее повышение Т тела и даже приводило к ее заметному понижению (на 1,62 и 1,4°С через 15 и 30 мин после введения пептида по сравнению с гр. II.1). Полученные данные подтверждают существующее представление о важной роли РАС мозга в центральных механизмах терморегуляции при эндотоксемии [5,6] и свидетельствуют об антипиретическом действии а-2. Т. к. развитие лихорадки у животных, которым на 45-ой мин после внутрибрюшинного введения ЛПС в желудочки мозга инъецировались холиноблокаторы (гр. II.3, II.5, рис), достоверно не отличалось от соответствующего контроля (гр. II.1), особый интерес представляет тот факт, что метамизил, введенный в.ж через 45 мин после внутрибрюшинной инъекции ЛПС за 15 мин до в.ж. введения а-2 (гр. II. 4, рис), значительно ослабил антипиретическое действие пептида (гр. II. 2, рис).



**Рис.** Влияние м- и н-холиноблокаторов (в.ж.) на антипиретический эффект а-2 при его центральном введении:

одинарная стрелка - момент в.б.инъекции ЛПС или бидист. воды,  
двойная стрелка – момент в.ж. инъекции холиноблокаторов или бидист. воды,  
тройная стрелка – момент в.ж инъекции а-2 или бидист. воды

- - достоверность между серией ЛПС (в.в) + метамизил (в.ж) с интервалом 45 мин +
- + а-2 (в.ж) с интервалом 15 мин (n=9) и серией ЛПС (в.в) + бидист. вода (в.ж)
- с интервалом 45 мин + а-2 (в.ж) с интервалом 15 мин (n=8) <0,005

Так Т тела снизилась до  $37,20 \pm 0,15$  и  $37,84 \pm 0,13$  °С через 15 и 30 мин после в.ж введения а-2 на фоне предварительной инъекции метамизила, тогда как пептид, введенный в систему желудочков мозга после бидист. воды, снижал Т тела до  $36,45 \pm 0,20$  и  $36,78 \pm 0,25$  °С, соответственно. Вместе с тем, опыты с введением в систему желудочков мозга н-холиноблокатора ИЭМ-506 в условиях лихорадки (гр. II.6, рис), показали, что ослабление антипиретического эффекта а-2 при его центральном введении через 15 мин после этого блокатора было недостоверным. Следовательно, можно предположить, что антипиретический эффект центрального действия а-2 может также реализовываться через м-холинореактивные системы мозга. Данное предположение согласуется с имеющимися в литературе данными о доминирующей роли м-холинореактивных систем в центральных механизмах терморегуляции [7, 11].

Таким образом, гипотермическое и антипиретическое действие а-2 при введении его в желудочки мозга, связано с определенными изменениями в периферических звеньях системы терморегуляции. По-видимому, этот пептид обладает способностью угнетать процессы теплопродукции в норме и при лихорадке, что предполагали ранее некоторые исследователи [1, 2, 5]. Результаты исследований позволяют предположить, что в условиях пирогеналовой лихорадки ренин-ангиотензиновая система мозга взаимодействует с центральными холинореактивными системами, причем преимущественно с м-холинореактивными системами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. **Lin M.T.** Effects of angiotensin II on metabolic, respiratory and vasomotor activities as well as body temperature in the rabbit // *J. Neural. Transm.* – 1980. – Vol. 49, №3. – P. 197-204.
2. **Lin M.T., Chandra A., Jou J.J.** Angiotensin II inhibits both heat production and heat loss mechanisms in the rat // *Can J. Physiol. Pharmacol.* – 1980. – Vol. 58, №8. – P. 909-914.
3. Retting R et. al. Brain angiotensin II: Localization and possible functions. // *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* – 1987. – Vol. 43, – P. 129-36.
4. **Tatsuo W.** et. al. Stress and Brain Angiotensin II Receptors // *J. Neurobiol.* – 1998. Vol.12. – №4. – P. 305-317.
5. **Vismont. F.I.** Angiotensin-II as factor of endogenous antipyresis in rats and rabbits. // *Thermoregulation and Temperature Adaptation* (ed. V.N. Gourin). – 1995. – P. 73-76.
6. **Висмонт Ф.И.** Об участии ренин-ангиотензиновой системы мозга в центральных механизмах терморегуляции при перегревании и пирогеналовой лихорадке // Тез. док. VIII съезда Белорусского физиологического общества им. И.П.Павлова. – Минск, 1991. – С. 24.
7. **Гурин В.Н.** Механизмы лихорадки. – Минск, 1993. – 165 с.
8. **Гурин В.Н.** Терморегуляция и симпатическая нервная система. – Минск, 1989. – 231 с.
9. **Кондратенкова Е.А, Гурин В.Н.** Сравнительная оценка влияния блокады центральных м- и н-холинорецепторов на гипотермический эффект ангиотензина-II, вводимого в желудочки мозга // Сб. "Роль нейромедиаторов и регуляторных пептидов в процессах жизнедеятельности." – Минск, 1999. – С. 74-75.
10. **Кондратенкова Е.А.** Центральное действие ангиотензина-II, введенного в желудочки мозга, на симпатическую эфферентную импульсацию почечного нерва у кроликов // Сб. "Роль нейромедиаторов и регуляторных пептидов в процессах жизнедеятельности" – Минск, 1999. – С. 72-73.
11. **Царюк В.В.** Фармакологический анализ центральных холинергических механизмов в терморегуляции. В кн: Физиология и фармакология терморегуляции. Минск, 1978. – С. 60-74.