

**Об участии монооксида азота и центральных адренореактивных систем в механизмах антипиретического действия акупунктуры при эндотоксической лихорадке у кроликов**

Белорусский государственный медицинский университет

В опытах на кроликах показано, что в условиях эндотоксической лихорадки иглоукалывание в аналоги биологически активных точек шао-шан (LU-11) и шан-ян (LI-1), а также цюй-чи (LI-11) и вай-гуань (TH-5) оказывает выраженный антипиретический эффект. Уста-овлено, что в механизмах реализации антипиретического действия акупунктуры при стимуляции аналогов точек LU-11 и LI-1 в этих условиях участвует монооксид азота, а также играют важную роль центральные  $\alpha$ -адренореактивные системы.

Ключевые слова: акупунктура, антипиретическое действие, монооксид азота, центральные адренореактивные системы, эндотоксическая лихорадка.

И известно, что иглоукалывание (акупунктура) является одним из эффективных и доступных методов анальгезии и лечения различных заболеваний и воспалительных процессов, сопровождающихся повышением температуры тела [4,5]. Появляются сведения о влиянии воздействия акупунктуры на иммунологические процессы и процессы теплообмена [6,8,9,10]. Однако по проблеме влияния иглоукалывания на температуру тела, по механизмам реализации его воздействия на терморегуляцию в литературе имеются лишь разрозненные, единичные сведения противоречивого характера.

Ранее нами было показано, что акупунктурное воздействие на ряд биологически активных точек (БАТ) оказывает выраженный антипиретический эффект в условиях гипертермии, вызываемой бактериальными эндотоксинами [2], в механизмах развития которой важное значение имеет понижение функциональной активности адренореактивных систем гипоталамической области мозга [1]. Установлено, что монооксид азота (NO) участвует в центральных механизмах регуляции процессов теплообмена при перегревании и действии пирогенных факторов [7]. Однако роль центральных адренореактивных систем организма в механизмах реализации жаропонижающего действия иглоукалывания и возможность участия в них NO оставались неизученными.

Целью настоящей работы явилось выяснение роли NO и центральных адренореактивных систем в механизмах антипиретического действия акупунктуры у кроликов при эндотоксической лихорадке.

#### Материал и методы

Исследования проведены на ненаркотизированных белых крысах обоего пола массой 180–200 г и взрослых ненаркотизированных мягко фиксированных беспородных кроликах обоего пола массой 2.2–3.5 кг. Для создания общепринятой экспериментальной модели эндотоксической лихорадки использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) – пирогенал (филиал «Медгамал» ГУ НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН, Россия), который вводили кроликам однократно в краевую вену уха в дозе 0.5 мкг/кг. Для изменения активности NO-зависимых механизмов применяли блокатор NO-синтазы L-NAME – метиловый эфир NG-нитро-L-аргинина (Sigma, США), который вводили внутривенно в дозе 25 мг/кг. Для изменения активности центральных адренореактивных систем использовали адреномиметики и адреноблокаторы, водные растворы которых вводили однократно крысам под местной анестезией в полость правого бокового желудочка мозга в объеме 20 мкл; кроликам - через вживленные химиотроды в полость правого бокового или III желудочка в объеме, не превышающем 50 мкл. С этой целью использовали  $\alpha$ -

адреномиметики L-норадреналина битартрат моногидрат (Sigma-Aldrich, США), клофелин (Sigma, США), мезатон (Sigma-Aldrich, США) и  $\beta$ -адреномиметик изопротеренола битартрат дигидрат (Sigma, США), адреноблокаторы феноксифензамин (Sigma, США) и пропранолол (Sigma, США). Растворы препаратов готовились на апиrogenной дистиллированной воде. Иглоукалывание осуществляли в аналоги БАТ шао-шан (LU-11) и шан-ян (LI-1), а также цюй-чи (LI-11) и вай-гуань (TH-5) у кроликов на обеих конечностях одновременно в течение 45 с на 60-й и 120-й минутах эндотоксиновой лихорадки (после предварительного выстригания у животных шерсти в области локализации точек). Глубина введения иглы 3 мм. В контрольных сериях животным делали иглоукалывание вне аналогов БАТ. Поиск аналогов БАТ осуществлялся по анатомо-топографическим признакам и специальным картам с помощью специального прибора, предназначенного для индикации «активных точек». В опытах на кроликах изучались в динамике изменения показателей физической терморегуляции. Реакцию поверхностных сосудов ушной раковины, как специфическую реакцию теплоотдачи, оценивали по общепринятой методике – измерению температуры кожи уха. Температуру кожи наружной поверхности ушной раковины у кроликов, а также глубокую ректальную температуру у крыс и кроликов измеряли электрическим термометром ТПЭМ-1. Весь цифровой материал обработан общепринятыми методами вариационной статистики.

## Результаты и обсуждение

Опыты показали, что введение ЛПС кроликам ( $n=8$ ) приводит к быстрому повышению ректальной температуры и выраженной гипертермии. Температура тела повышалась на 0.5 °C ( $p < 0.05$ ), 1.3 °C ( $p < 0.05$ ) и 1.6 °C ( $p < 0.05$ ) через 30, 60 и 120 мин после введения препарата и достигала значений  $39.2 \pm 0.13$  °C,  $40.0 \pm 0.12$  °C и  $40.3 \pm 0.11$  °C соответственно. Длительность гипертермии составляла 5–6 ч. Изучение показателей теплообмена при эндотоксиновой лихорадке показало, что действие ЛПС у кроликов ( $n=8$ ) сопровождается торможением процессов теплоотдачи. Об этом свидетельствовало сужение поверхностных сосудов и понижение температуры кожи уха более чем на 2.0 °C через 60 мин. после инъекции эндотоксина.

Акупунктурное воздействие на аналоги БАТ LU-11 и LI-1, а также LI-11 и TH-5 в условиях эндотоксиновой лихорадки через 15 мин после окончания иглоукалывания приводило к понижению ректальной температуры на  $0.7 \pm 0.08$  °C ( $p < 0.05$ ,  $n=12$ ) и на  $0.6 \pm 0.08$  °C ( $p < 0.05$ ,  $n=10$ ) соответственно. Антипиретический эффект акупунктуры сохранялся в течение 40 мин.

Понижение температуры тела у лихорадящих животных отмечалось и при повторном иглоукалывании. Повторное акупунктурное воздействие (через 120 минут после введения ЛПС) на аналоги БАТ LU-11 и LI-1, а также LI-11 и TH-5 приводило к более выраженному снижению температуры тела соответственно на  $0.9 \pm 0.1$  °C ( $p < 0.05$ ,  $n=10$ ) и на  $0.8 \pm 0.09$  °C ( $p < 0.05$ ,  $n=10$ ) по сравнению с однократным. Антипиретический эффект как однократного, так и повторного акупунктурного воздействия, как показали опыты, в значительной мере обусловлен усилением процессов теплоотдачи. Признаком усиления теплоотдачи было повышение температуры кожи уха (вследствие расширения поверхностных сосудов) на  $3.6 \pm 0.41$  °C ( $p < 0.05$ ,  $n=10$ ) через 15 мин после однократного и на  $4.8 \pm 0.52$  °C ( $p < 0.05$ ,  $n=10$ ) после повторного иглоукалывания в аналогах БАТ LU-11 и LI-1.

Внутривенное введение кроликам ( $n=8$ ) ингибитора NO-синтазы L-NAME в дозе 25 мг/кг (препарат в данной дозе не влиял на температуру тела в нормальных условиях) за 30 мин до иглоукалывания препятствовало снижению ректальной температуры после

акупунктурного воздействия в аналоги БАТ LU-11 и LI-1, LI-11 и TH-5. В другой серии опытов ингибитор NO-синтазы L-NAME вводили внутривенно за 30 мин. до инъекции кровотока ЛПС и на 60-й мин. развития лихорадки осуществляли иглоукальвание в аналоги БАТ LU-11 и LI-1 (рис. 1). Через 15 мин после акупунктурного воздействия ректальная температура у опытных кроликов снижалась на 0,3 °С ( $p<0.05$ ,  $n=9$ ), а у животных контрольной группы, получивших внутривенно за 30 мин до введения ЛПС бидистиллированную воду, аналогичное воздействие через 15 мин после иглоукальвания вызывало снижение температуры тела на 0.7 °С ( $p<0.05$ ,  $n=8$ ). Температура кожи уха у лихорадящих животных, предварительно получивших до инъекции ЛПС L-NAME, повышалась на 0,8 °С ( $p<0.05$ ,  $n=7$ ) после иглоукальвания в аналоги БАТ LU-11 и LI-1, а у кроликов в контроле – на 3,1 °С ( $p<0.05$ ,  $n=8$ ). Полученные данные свидетельствуют о том, что NO может принимать участие в механизмах реализации воздействия акупунктуры на температуру тела, на процессы теплообмена и сосудистые терморегуляторные реакции.

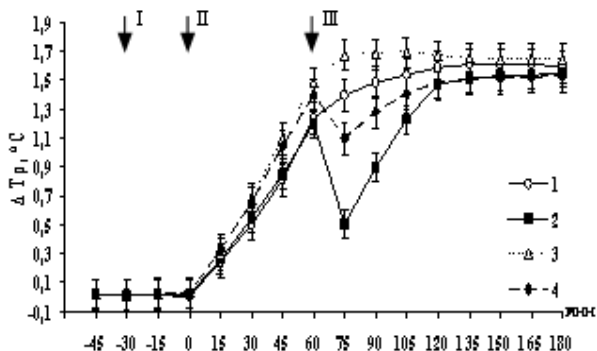


Рисунок 1. Влияние акупунктуры на температуру тела у кроликов при эндотоксиновой лихорадке в условиях действия в организме L-NAME: 1 – бидист. вода + ЛПС + АП вне аналогов БАТ ( $n=8$ ); 2 – бидист. вода + ЛПС + АП в аналоги БАТ LU-11 и LI-1 ( $n=8$ ); 3 – L-NAME + ЛПС + АП вне аналогов БАТ ( $n=7$ ); 4 – L-NAME + ЛПС + АП в аналоги БАТ LU-11 и LI-1 ( $n=9$ ); стрелка I – момент внутривенного введения L-NAME (25 мг/кг) или бидист. воды в контроле; стрелка II – момент внутривенного введения ЛПС (0,5 мкг/кг); стрелка III – момент иглоукальвания в аналоги БАТ LU-11 и LI-1 или вне аналогов БАТ;  $n$  – число животных.

Повышение температуры тела у кроликов ( $n=8$ ), вызванное введением в кровотока ЛПС, значительно ослаблялось под действием клофелина (30 мкг) или мезатона (50 мкг), но не изопротеренола (30 мкг). Введение в систему желудочков мозга клофелина (30 мкг) или мезатона (50 мкг) спустя 120 мин после инъекции ЛПС приводило к быстрому понижению ректальной температуры на 0.7 оС ( $p<0.05$ ,  $n=8$ ) и 0.6 оС ( $p<0.05$ ,  $n=8$ ) через 15 мин соответственно. Эффект  $\alpha$ -адреномиметиков у животных в значительной мере был вызван усилением процессов теплоотдачи. Признаком этого было повышение температуры кожи уха после введения клофелина (30 мкг) с  $27.2\pm 1.22$  оС до  $31.4\pm 1.56$  оС ( $n=7$ ). Опыты на кроликах показали, что в условиях блокады как  $\alpha$ -адренорецепторов мозга феноксibenзамином (50 мкг), так и  $\beta$ -адренореактивных систем пропранололом (50 мкг) скорость нарастания температуры тела у животных на введение ЛПС достоверно не изменялась.

В последующих исследованиях установлено, что предварительное (за 45 мин до акупунктурного воздействия) введение в систему желудочков мозга  $\alpha$ -адреноблокатора феноксibenзамина (50 мкг) в условиях действия в организме ЛПС устраняло антипиретический эффект иглоукальвания у кроликов при воздействии на аналоги БАТ LU-11 и LI-1 (рис. 2). В то же время, акупунктурное воздействие при эндотоксиновой

лихорадке в условиях угнетения активности  $\alpha$ -адренорецепторов мозга феноксibenзамином не сопровождалось дилатацией поверхностных сосудов и повышением температуры кожи уха. Введение в систему желудочков мозга  $\beta$ -адреноблокатора пропранолола (50 мкг) за 15 мин до иглоукальвания в аналоги точек LU-11 и LI-1 в условиях нарастающей эндотоксиновой лихорадки не отражалось на антипиретическом эффекте акупунктуры.

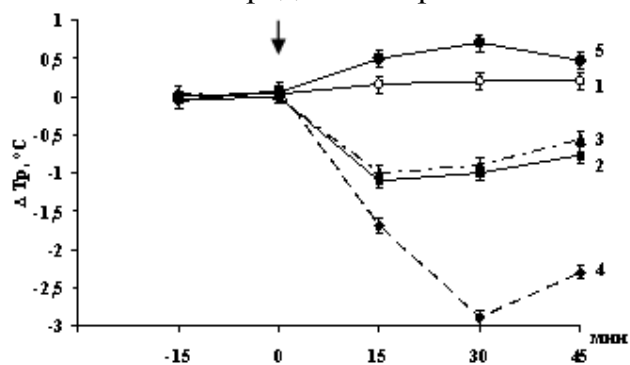


Рисунок 2. Изменение температуры тела у кроликов после акупунктурного воздействия при эндотоксиновой лихорадке в условиях угнетения центральных  $\alpha$ -адренореактивных систем феноксibenзамином: 1 – ЛПС + феноксibenзамин + АП вне БАТ (n=10); 2 – ЛПС + бидистиллированная вода + АП в аналоги БАТ LU-11 и LI-1 (n=12); 3 – ЛПС + феноксibenзамин + АП в аналоги БАТ LU-11 и LI-1 (n=10); стрелка I – момент внутривенного введения ЛПС (0,5 мкг/кг); стрелка II – момент введения в желудочки мозга феноксibenзамина (50 мкг) или бидистиллированной воды; стрелка III – момент иглоукальвания в аналоги БАТ LU-11 и LI-1 или вне аналогов БАТ; n – число животных

В опытах на крысах (n=10) установлено, что введение в боковой желудочек мозга водного раствора норадреналина в дозе 1 мкг на животное приводит к повышению температуры тела (на 1.0 °C через 15 мин. и на 0.9 °C через 30 мин). С увеличением дозы вводимого норадреналина ответная реакция изменялась. Центральное действие норадреналина у крыс (n=8) в дозе 10 мкг сопровождалось понижением ректальной температуры на 0.5 °C (p<0.05, n=8). Введение в желудочки мозга крыс (n=10) норадреналина в дозе 20 мкг на животное (рис. 3) сопровождалось через 15 мин. после инъекции повышением температуры кожи корня хвоста с 22.8±0.27 °C до 25.7±0.62 °C (p<0.05, n=10) и значительным снижением ректальной температуры с 37.0± 0.09 °C до 35.9±0.18 °C (p<0.05, n=10).

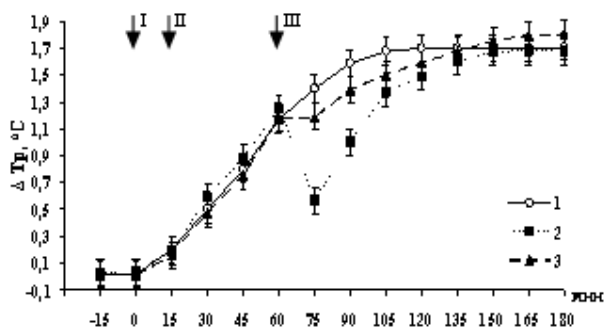


Рисунок 3. Изменение температуры тела у крыс после введения в желудочки мозга адреномиметиков: 1 – контроль (бидист. вода, n=10); 2 – норадреналин (20 мкг, n=10); 3 – мезатон (40 мкг, n=10); 4 – клофелин (10 мкг, n=10); 5 – изопротеренол (10 мкг, n=8);

стрелка обозначает момент введения препарата или бидист. воды в контроле; n – число животных

В опытах на кроликах показано, что введение в систему желудочков мозга норадреналина в дозе 30 мкг приводит к слабовыраженной гипертермии. Так, ректальная температура через 30 и 60 мин. после инъекции повышалась соответственно на  $0.4 \pm 0.02$  ( $p < 0.05$ ,  $n=8$ ) и  $0.7 \pm 0.02$  °C ( $p < 0.05$ ,  $n=8$ ).

Учитывая гетерогенность синапсов, можно было предположить, что норадреналин в разных дозах (что определяет скорость и степень диффузии веществ из желудочков мозга к различным участкам мозга) влияет на различные, в зависимости от доступности, центральные адренорецепторы, функциональное назначение которых в регуляции температуры тела неодинаково [3]. Подтверждение высказанному предположению было получено в опытах с введением в желудочки мозга крыс и кроликов адреномиметиков, взаимодействующих преимущественно с  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторами.

Опыты показали, что центральное действие  $\alpha$ -адреномиметиков клофелина (10 мкг) и мезатона (40 мкг) у крыс ( $n=10$ ) сопровождается повышением температуры кожи корня хвоста и снижением ректальной температуры, а введение в желудочки мозга  $\beta$ -адреномиметика изопротеренола (10 мкг) приводит к повышению температуры тела (рисунок 3). В опытах на кроликах также установлено, что клофелин (30 мкг) и мезатон (50 мкг) при введении в желудочки мозга через 30 мин понижают ректальную температуру соответственно на  $0.7 \pm 0.03$  °C ( $p < 0.05$ ,  $n=6$ ) и на  $0.4 \pm 0.02$  °C ( $p < 0.05$ ,  $n=6$ ), а изопротеренол (50 мкг) – повышает ее на  $0.5 \pm 0.02$  °C ( $p < 0.05$ ,  $n=7$ ). Понижение температуры тела в условиях возбуждения  $\alpha$ -адренореактивных систем сопровождалось усилением теплоотдачи, на что указывало повышение температуры кожи ушной раковины (вазодилатация). Повышение температуры тела, вызванное изопротеренолом, сопровождалось угнетением теплоотдачи.

Следовательно, полученный экспериментальный материал позволяет предположить, что норадреналин участвует в центральных тормозных и активирующих нейронных системах, регулирующих теплообмен. Угнетающее влияние норадреналина на центральные механизмы, регулирующие сосудистый тонус осуществляется через  $\alpha$ -адренорецепторы, а активирующее – через  $\beta$ -адренорецепторы.

Таким образом, результаты исследований позволяют заключить, что акупунктурное воздействие на аналоги БАТ LU-11 и LI-1 у кроликов оказывает выраженный антипиретический эффект. Принимая во внимание полученные нами ранее данные [1] о том, что снижение активности  $\alpha$ -адренореактивных систем гипоталамической области мозга в условиях действия в организме ЛПС является одним из пусковых механизмов в цепи процессов, приводящих к повышению температуры тела, можно заключить, что центральные адренореактивные системы участвуют в механизмах реализации акупунктурного воздействия на терморегуляцию при эндотоксической лихорадке. По-видимому, в механизмах реализации антипиретического действия акупунктуры при стимуляции аналогов точек LU-11 и LI-1 у кроликов в условиях лихорадки, вызванной бактериальным эндотоксином, наряду с NO важная роль принадлежит  $\alpha$ -адренореактивным системам гипоталамической области мозга.

#### Выводы

1. Акупунктурное воздействие на аналоги точек шао-шан (LU-11) и шан-ян (LI-1), а также цюй-чи (LI-11) и вай-гуань (TH-5) оказывает выраженный антипиретический эффект в условиях эндотоксической лихорадки у кроликов. Жаропонижающее действие акупунктуры обусловлено усилением процессов теплоотдачи.

2. Активность синтазы монооксида азота имеет важное значение для формирования терморегуляторных реакций на акупунктурное воздействие в аналогах биологически активных точек LU-11 и LI-1, LI-11 и TH-5 у кроликов. Угнетение образования в организме монооксида азота метиловым эфиром NG-нитро-L-аргинина устраняет гипотермический эффект иглоукалывания в аналогах точек LU-11 и LI-1, LI-11 и TH-5 и ослабляет антипиретический эффект акупунктуры в аналогах точек LU-11 и LI-1.

3. Адренергические механизмы мозга, участвуя в тормозных и активирующих нейронных системах, регулирующих теплообмен, являются важными звеньями в процессах терморегуляции при эндотоксической лихорадке. Угнетающее влияние норадреналина на центральные механизмы, регулирующие сосудистый тонус, осуществляется через  $\alpha$ -адренорецепторы, а активирующее – через  $\beta$ -адренорецепторы.

4. Центральные  $\alpha$ -адренореактивные системы играют важную роль в механизмах реализации антипиретического действия акупунктуры при стимуляции аналогов точек LU-11 и LI-1 в условиях эндотоксической лихорадки. Угнетение этих систем феноксифензином в условиях действия бактериального эндотоксина устраняет формирование вазомоторных реакций организма на действие иглоукалывания и препятствует понижению температуры тела.

5. Вмешательство в центральные механизмы терморегуляции через акупунктурное воздействие может быть использовано в качестве одного из эффективных методов коррекции процессов теплообмена и эндогенного антипиреза при лихорадочных состояниях, вызванных бактериальными эндотоксинами.

#### **Литература**

1. Висмонт, Ф.И. Эндотоксинемия в физиологии и патологии терморегуляции / Ф.И. Висмонт // Проблемы термофизиологии в биологии и медицине / Институт физиологии НАН Беларуси; ред. В.Н. Гурин и др. Минск: ПЧУП «Бизнесофсет», 2004. С. 61–63.

2. Висмонт, Ф.И., Третьякович, Е.А. К механизму антипиретического действия акупунктуры в условиях экспериментальной эндотоксической лихорадки / Ф.И. Висмонт, Е.А. Третьякович // Белорусский медицинский журнал. 2003. № 4. С. 46–49.

3. Гурин, В.Н. Механизмы лихорадки. Минск: Наука и техника., 1993. 165 с.

4. Линь, Ч. Клиническая акупунктура: практ. рук. / Ч. Линь, М. Штереншис. Ростов н/Д: Феникс, 2004. 272 с.

5. Лувсан, Г. Традиционные и современные аспекты восточной рефлексотерапии / Г. Лувсан. М.: Вариант, 1991. Часть 1. 192 с.

6. Неженцев, М.В. Жаропонижающая активность акупунктуры и ее усиление под влиянием анаприлина / М.В. Неженцев, С.И. Александров // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1992. Т. 13. № 3. С. 288–90.

7. Степанова, Н.А. О роли монооксида азота в регуляции уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови и температуры тела при эндотоксической лихорадке / Н.А. Степанова, Ф.И. Висмонт // Белорусский медицинский журнал. 2005. Т. 11. № 1. С. 94–96.

8. Antipyretic action of peripheral stimulation with electroacupuncture in rats / J.Q. Fang [et al] // *In Vivo*. 1998. Vol. 12. № 5. P. 503–510.

9. Antipyretic effects of acupuncture on the lipopolysaccharide-induced fever and expression of interleukin-6 and interleukin-1 beta mRNAs in the hypothalamus of rats / Y.S. Son [et al.] // *Neuroscience Letters*. 2002. Vol. 319. № 1. P. 45–48.

10. Electroacupuncture up-regulates natural killer cell activity. Identification of genes altering their expressions in electroacupuncture induced up-regulation of natural killer cell activity / C.K. Kim [et al.] // J. Neuroimmunol. 2005. Vol. 168. № 1-2. P. 125–131.