

*В.И. Дунай*

**Влияние ингибитора синтазы *no*, введенного в неонатальном периоде на становление терморегуляции, сердечно-сосудистой и ноцицептивной систем**

*Белорусский государственный университет*

В ходе выполненной работы установлено, что *NO* может играть важную роль в становлении механизмов регуляции теплообмена в онтогенезе, а также в неонатальном периоде участвует в развитии механизмов, ответственных за становление устойчивой температуры тела, характерной для взрослых животных, изменении температуры тела в течение суток, и принимает участие в становлении ноцицептивной системы.

**Ключевые слова:** онтогенез, *NO*-синтеза, гипоталамус.

Свободнорадикальный газ *NO* является нейромедиатором и нейромодулятором в нервной системе [1, 2]. Установлено, что *NO* является одним из важнейших факторов, обеспечивающих развитие нервной системы. *NO* является эффекторной молекулой, вызывающей гибель определенных клеточных структур, а также играет важную роль в механизмах роста нервных окончаний и формирования синаптических контактов [3]. Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что *NO* участвует в центральных механизмах регуляции важных автономных функций: дыхания и кровообращения [5]. Показано, что *NG*-метил-*L*-аргинин, ингибитор *CNO*, при системном введении стимулирует активность симпатического почечного нерва как примера вазоконстрикторного нерва [7]. Сходные результаты были получены и при центральном введении ингибитора *NO*-синтазы. *NG*-метил-*L*-аргинин при введении в большую цистерну мозга анестезированным крысам достоверно повышает кровяное давление и значительно увеличивает активность симпатического почечного нерва [8]. Эти данные позволяют сделать вывод о том, что *NO* принимает участие в центральной регуляции кровообращения, ингибируя эфферентный симпатический тонус.

Также в литературе имеются сведения об участии *NO* в центральных нейрохимических механизмах терморегуляции [6]. Так, *NO*, синтезируемый нейронами терморегуляторных центров головного мозга, участвует в регуляции активности периферических эффекторов теплоотдачи и теплопродукции [6]. Установлено, что формирование терморегуляторных реакций организма на действие высоких и низких температур зависит от функциональной активности центральных *NO*-зависимых механизмов и процессов. Показано также, что в условиях гипертермии, вызываемой пирогенами, *NO* может участвовать в центральных механизмах терморегуляции как один из компонентов эндогенной антипиретической системы.

Таким образом, литературные данные свидетельствуют о том, что *NO*, выделяемый *CNO*-позитивными нервными клетками, участвует в становлении

структуры и функции нервной системы в онтогенезе, о чем свидетельствуют немногочисленные, но убедительные данные [4], а также у взрослого организма принимает участие в центральной регуляции большинства физиологических функций. Однако, несмотря на это, роль этого низкомолекулярного передатчика в становлении функциональных систем, и в частности, системы терморегуляции, остается не изученной. Выяснение роли NO мозга в развитии системы терморегуляции в онтогенезе гомойотермных животных позволило бы получить данные, необходимые для понимания общих принципов становления функциональных систем с участием низкомолекулярных полифункциональных молекул.

Целью данной работы явилось изучение влияния ингибитора синтазы NO, введенного в неонатальном периоде, на становление устойчивой температуры тела, а также терморегуляцию, деятельность сердечно-сосудистой и ноцицептивной систем у взрослых животных.

### Материал и методы

Эксперименты выполнены на 64 крысах. Первой группе животных (32 крысы) вводили подкожно L-МЭНА в дозе 750 мг/кг двукратно на первом и третьем дне жизни. Второй контрольной группе (32 крысы) вводили подкожно D-МЭНА в дозе 750 мг/кг двукратно на первом и третьем дне жизни. Когда животные достигали двухмесячного возраста, им для измерения температуры тела вживлялись телеметрические датчики. Температура тела регистрировалась с помощью телеметрической установки. Когда животные достигали трехмесячного возраста, у них регистрировалась частота сердечных сокращений, измерялось внутрижелудочковое давление и проводилось определение латентного периода рефлекса отдергивания хвоста в ответ на тепловое ноцицептивное раздражение.

Для определения частоты сердечных сокращений использовали телеметрическую установку MINI MITTER (США). Для измерения температуры тела использовались телеметрические датчики MINI MITTER, а также электротермометр ТПЭМ-1. С целью оценки болевой чувствительности проводилось измерение латентного периода рефлекса отдергивания хвоста у крыс по общепринятой методике. Биомеханическую активность сердца регистрировали с помощью многоканального поликардиографа «Мингограф-81» (Элема, Швеция). Измеряли и анализировали частоту сердечных сокращений (ЧСС, сокр./мин), максимальное давление в левом желудочке сердца (P<sub>max</sub>, мм рт. ст.). Крыс наркотизировали внутрибрюшинно тиопентал-натрием (80 мг/кг), Достоверность статистических различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Установлено, что у крыс, которым на первых днях жизни вводили ингибитор CNO, становление температуры тела, характерное для взрослых

животных, наблюдалось позже, чем у контрольных крыс. Так у 12, 14, 16 и 18-дневных крысят, которым вводили L-МЭНА на первый и третий день жизни, температура тела была  $35,9 \pm 0,41^\circ\text{C}$ ,  $35,4 \pm 0,42^\circ\text{C}$ ,  $36,0 \pm 0,23^\circ\text{C}$  и  $36,2 \pm 0,17^\circ\text{C}$  соответственно, в то время как у контрольных животных она составляла  $37,1 \pm 0,25^\circ\text{C}$ ,  $37,3 \pm 0,24^\circ\text{C}$ ,  $36,7 \pm 0,18^\circ\text{C}$  и  $37,1 \pm 0,22^\circ\text{C}$  (рис. 1). Температура тела крыс, которым в раннем онтогенезе ингибировали СНО, достигала значений, характерных для контрольных животных, лишь к 20-му дню постнатального онтогенеза (рис. 1).

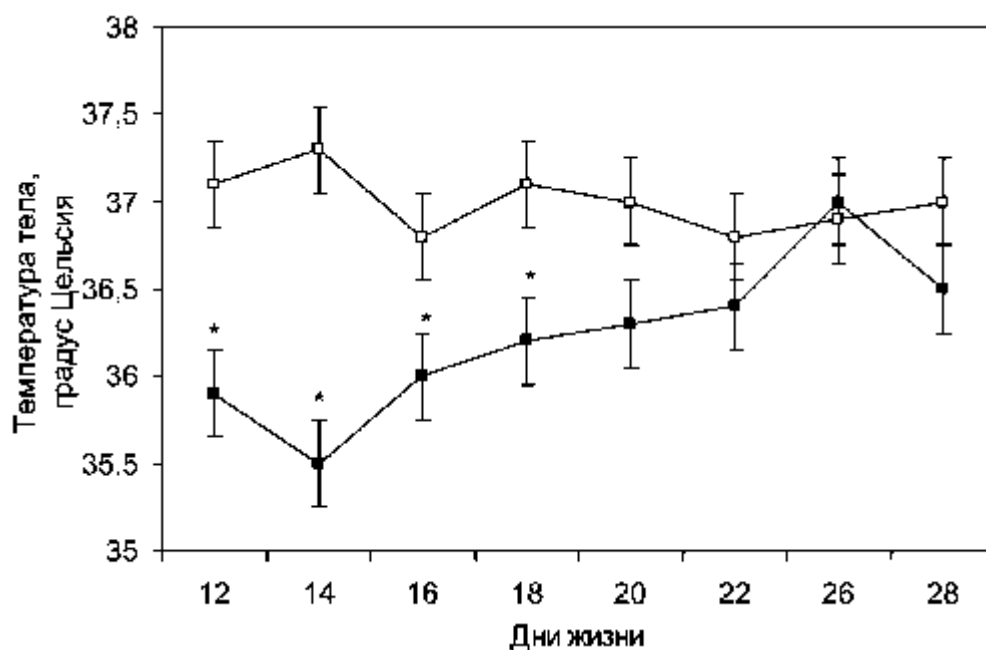


Рис. 1. Температура тела у крыс в разные сроки постнатального онтогенеза после подкожного введения ингибитора синтазы NO (L-МЭНА) двукратно на первый и третий день жизни

□ – контроль, (D-МЭНА, 750 мг/кг,  $n = 8$ ); ■ – опыт, (L-МЭНА, 750 мг/кг,  $n = 8$ );  $n$  – число животных в опыте; \* – изменения достоверны по отношению к контролю:  $p << 0,05$ .

Установлено, что суточная температура тела у животных, которым в раннем постнатальном онтогенезе вводили D-МЭНА, колебалась незначительно и была в пределах  $37,5 \pm 0,34^\circ\text{C}$ . У животных, у которых в раннем постнатальном онтогенезе ингибировалась синтаза NO, суточные колебания температуры были более выражены, чем у контрольных, и температура тела ночью (с 23 ч. до 1 ч.) достигала  $38,5 \pm 0,13^\circ\text{C}$ , что было на  $1^\circ\text{C}$  выше, чем у контрольных животных. Таким образом, можно предполагать, что NO в раннем постнатальном онтогенезе принимает участие в развитии механизмов, ответственных за изменение температуры тела в течение суток (рис. 2).

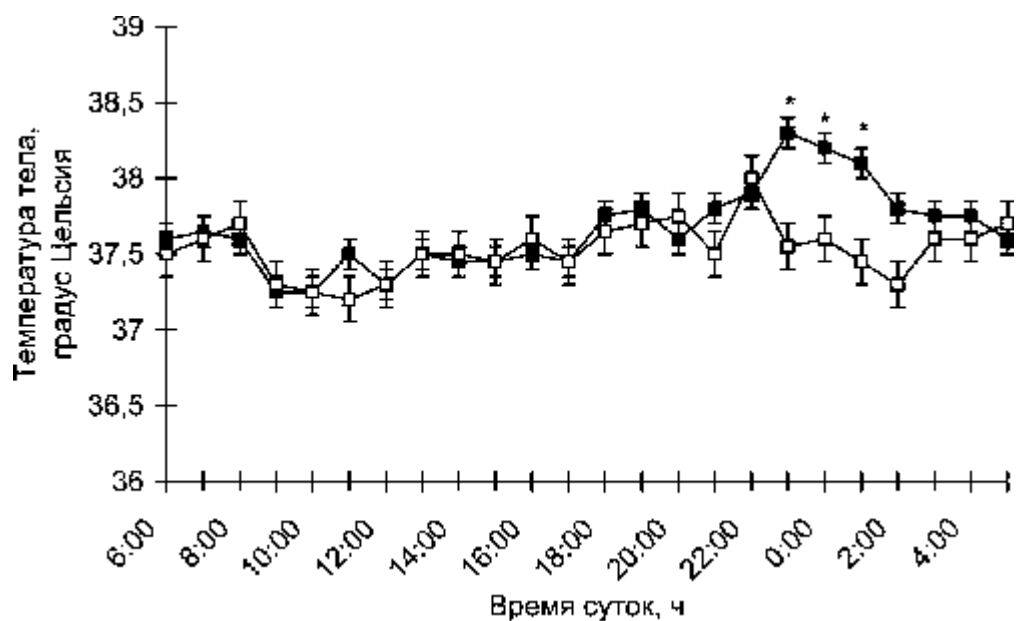


Рис. 2. Влияние ингибитора синтазы NO (L-MЭHA), введенного на первый и третий день жизни, на изменения температуры тела в течение суток у взрослых крыс

hh – контроль, (D-MЭHA, 750 мг/кг, n=8); ? – опыт, (L-MЭHA, 750мг/кг, n=8); n – число животных в опыте; \* – изменения достоверны по отношению к контролю:  $p \ll 0,05$ .

Для воспроизведения общепринятой модели эмоционально-ориентировочной реакции, сопровождающейся повышением температуры тела, крыс помещали в «открытое поле». В ходе выполненных экспериментов установлено, что выраженность гипертермии при эмоционально-ориентировочной реакции в «открытом поле» у животных, которым в раннем постнатальном онтогенезе ингибировали синтазу NO, и у контрольных была сходной.

Таким образом, ингибирование синтазы NO в неонатальном периоде не проявляется выраженной гипертермией при эмоционально-ориентировочной реакции.

У животных, которым в неонатальном периоде вводился L-MЭHA, частота сердечных сокращений в трехмесячном возрасте не отличалась от таковой у контрольных крыс. Однако у взрослых крыс, которым на первых днях жизни ингибировали CNO, в трехмесячном возрасте латентный период реакции отдергивания хвоста на болевой раздражитель составлял  $4 + 0,47$  с, в то время как у животных, которым на первых днях жизни вводили D-MЭHA, он составлял  $13 + 1,2$ . Эти данные могут свидетельствовать о том, что в неонатальном периоде NO не только участвует в развитии системы терморегуляции, но и вовлекается в становление ноцицептивной системы.

Проведенные исследования показали, что у животных, которым на раннем

этапе постэмбрионального развития вводили ингибитор NO-синтазы, частота сердечных сокращений не отличалась от таковой в контроле, однако максимальное внутрижелудочковое давление сердца существенно изменялось. P<sub>max</sub> у экспериментальных крыс было на 30 % меньше, чем у контрольных животных (таблица).

Таблица

Функциональные показатели сердца зрелых крыс после применения ингибитора NO-синтазы на раннем этапе постнатального онтогенеза

Показатели	ЧСС, сокр./мин	P <sub>max</sub> , мм рт. ст.
Контроль	294,8 ± 9,2	120,6 ± 6,4
После применения L-NAME	282,1 ± 7,3	92,0 ± 4,7*

Примечание: \* – различия достоверны по отношению к контролю при P < 0,05.

Результаты исследований, описанные выше, свидетельствуют в пользу высказанной гипотезы, согласно которой NO может играть важную роль в становлении механизмов регуляции теплообмена в онтогенезе. Важно было изучить, как влияет ингибитор синтазы NO, введенный в неонатальном периоде, на становление устойчивой температуры тела, а также терморегуляцию, деятельность сердечно-сосудистой и ноцицептивной систем у взрослых животных. Предполагалось, что на основе полученных данных будет составлено представление о тех механизмах, в развитии которых участвует NO в раннем постнатальном онтогенезе.

Установлено, что у крыс, которым на первых днях жизни вводили ингибитор CNO, становление температуры тела, характерное для взрослых животных, наблюдалось позже, чем у контрольных крыс. Температура тела крыс, которым в раннем онтогенезе ингибировали CNO, достигала значений, характерных для контрольных животных, лишь к 20-му дню постнатального онтогенеза.

Установлено, что суточная температура тела у животных, которым в раннем постнатальном онтогенезе вводили D-МЭНА, колебалась незначительно. У животных, у которых в раннем постнатальном онтогенезе ингибировалась синтаза NO, суточные колебания температуры были более выражены, чем у контрольных, и температура тела ночью (с 23 ч. до 1 ч.) была на 1°C выше, чем у контрольных животных.

Таким образом, можно предполагать, что NO в раннем постнатальном онтогенезе принимает участие в развитии механизмов, ответственных за

изменение температуры тела в течение суток.

Установлено, что выраженность гипертермии при эмоционально-ориентировочной реакции в «открытом поле» у животных, которым в раннем постнатальном онтогенезе ингибировали синтазу NO, не отличалась от таковой у контрольных животных.

Поскольку было установлено, что NO может принимать участие в становлении терморегуляции в онтогенезе, и принимая во внимание имеющиеся в литературе сведения, указывающие, что NO, синтезируемый нервными клетками структур ствола головного мозга, обладает способностью оказывать гипотензивное действие за счет центрального торможения тонуса сосудосуживающих симпатических нервов, необходимо было определить, в какой степени этот передатчик вовлекается в развитие других функциональных систем. В отдельной серии исследований было изучено влияние ингибитора CNO, вводимого в неонатальном периоде, на частоту сердечных сокращений. Так как полученные в последние годы данные свидетельствуют о том, что NO может являться одним из медиаторов в передаче ноцицептивной информации и в определенных условиях может принимать участие в развитии гипералгезии, следовало изучить влияние ингибирования синтазы NO в неонатальном периоде на развитие нервных структур, вовлеченных в ноцицептивную систему.

У животных, которым в неонатальном периоде вводился L-МЭНА, частота сердечных сокращений в трехмесячном возрасте не отличалась от таковой у контрольных крыс. Однако у взрослых крыс, которым на первых днях жизни ингибировали CNO, в трехмесячном возрасте латентный период реакции отдергивания хвоста на болевой раздражитель был достоверно меньше, чем у животных, которым на первых днях жизни вводили D-МЭНА. Эти данные могут свидетельствовать о том, что в неонатальном периоде NO не только участвует в развитии системы терморегуляции, но и вовлекается в становление ноцицептивной системы.

Таким образом, полученные данные дают достаточные основания полагать, что NO в неонатальном периоде участвует в развитии механизмов, ответственных за становление устойчивой температуры тела, характерной для взрослых животных, и изменении температуры тела в течение суток, а также принимает участие в становлении ноцицептивной системы.

## **Литература**

1. Реутов, В. П. Цикл окиси азота в организме млекопитающих// Успехи биологической химии. – 1995. – Т. 35. – С. 189 – 228.
2. Bredt, D. S., Hwang, P. M., Snyder, S. H. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide// Nature. – 1990. – V. 347. – P. 768 – 770.

3. Dawson, T. M., Snyder, S. H. Gases as biological messengers: Nitric oxide and carbon monoxide in the brain// *J. Neurosci.* – 1994. – Vol. 14. – P. 5147 – 5159.

4. Galea, E., Feinstein, D. L., Reis, D. J. Induction of calcium-independent nitric oxide synthase activity in primary rat glial cultures// *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1992. – Vol. 89, N. 22. – P. 10945 – 10949.

5. Goodson, A. R., Leibold, J. M., Gutterman, D. D. Inhibition of nitric oxide synthesis augments centrally-induced sympathetic coronary vasoconstriction in cats// *Circulation.* – 1992. – Vol. 86, N. 4. – P. 509.

6. Gourine, A. V. Does central nitric oxide play a role in thermoregulation? //In: *Thermal balance in health and disease: Recent basic research and clinical progress/* Eds. E. Zeisberger, E. Schonbaum, P. Lomax. Birkhauser Verlag AG. – 1994. – P. 491 – 495.

7. Sakuma, I., Gross, S. S., Levi, R. NG-Methyl-L-arginine, an inhibitor of L-arginine-derived nitric oxide synthesis, stimulates renal sympathetic nerve activity in vivo – a role for nitric oxide in the central regulation of sympathetic tone// *Circulation Res.* – 1992. – Vol. 70, N. 3. – P. 607 – 611.

8. Togashi, H., Yasuda, H., Levi, R. A central nervous system action of nitric oxide in blood pressure regulation// *J. Pharmac. Exp. Ther.* – 1992. – Vol. – 262. – P. 343 – 347.