

УДК 599.742.4+612.556+612.57

© 1992

ЛИХОРАДОЧНАЯ РЕАКЦИЯ ХОРЯ *MUSTELA PUTORIUS* × *MUSTELA PUTORIUS FURO* НА БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ПИРОГЕН: ГИПО- И ГИПЕРТЕРМИЧЕСКАЯ ФАЗЫ

А.А. Романовский, Е.К. Карман, В.Н. Гурин

Институт физиологии АН Беларуси, Минск

Резюме

Показано, что совхозный хорь *Mustela putorius* × *Mustela putorius furo* реагирует двухфазным изменением температуры тела (T_T) на внутримышечное введение липополисахарида (ЛПС) *Salmonellae typhi* в дозах 30 нг/кг — 100 мкг/кг: в первой фазе ответа происходит снижение T_T , сменяющееся гипертермией во второй фазе. Повышение T_T в ответ на инъекцию ЛПС в максимальной дозе (100 мкг/кг) достигает $1.6 \pm 0.1^\circ\text{C}$. Кроличий лейкоцитарный пироген/интерлейкин-1 (1 мл от $3.5 \cdot 10^7$ клеток перитонеального экссудата, 3 мл/кг, подкожно) вызывает у хоря выраженное ($-1.1 \pm 0.3^\circ\text{C}$) снижение T_T . Обсуждаются механизмы гипотермического действия пирогенов. Предполагается, что в основе описанного паттерна ответа хоря на ЛПС (гипотермия—гипертермия) лежит единый для различных проявлений лихорадочной реакции терморегуляторный механизм.

Введение

Лихорадка является эволюционно выработанной, филогенетически древней защитно-приспособительной реакцией организма экто- и эндотермных животных на появление чужеродного (пирогенного) материала во внутренней среде. Основным и обязательным симптомом лихорадочной реакции традиционно считается повышение глубокой температуры тела [1]. При лихорадке, вызванной экзо- или эндогенным пирогеном в высокой дозе, повышение температуры тела протекает в 2 фазы (ранняя и поздняя), различающиеся как по нейрохимическому обеспечению, так и по механизмам терморегуляторных изменений [2—4].

Результаты опытов по изучению температурных ответов млекопитающих разных отрядов на различные пирогенные раздражители при широком варьировании экспериментальных условий (температура среды, пищевой рацион и другие) свидетельствуют о способности пирогенов вызывать в обеих фазах лихорадочной реакции не только повышение, но и снижение температуры тела [4—9].

Вызванную пирогенами гипотермию наблюдали и в настоящем исследовании, выполненном на хорьках. Хотя ранее и было показано, что хорь отвечает лихорадочной реакцией на внутривенное и интраназальное введение частиц вируса гриппа [10], а также что лихорадка при гриппозной инфекции является одним из защитных механизмов [11], температурную реакцию хорька на бактериальный липополисахарид (ЛПС) и эндогенный пироген не изучали.

В настоящей работе сделана попытка определить чувствительность хоря к ЛПС, охарактеризовать взаимоотношения между ранней и поздней фазами терморегуляторного ответа на данный пироген, а также сравнить температурные реакции на ЛПС и эндогенный пироген.

Материал и методика

Опыты проводили на 6 половозрелых самцах совхозного хоря *Mustela putorius* × *Mustela putorius furo* массой тела 1.5 ± 0.1 кг. Животных содержали в индивидуальных клетках, оборудованных утепленными домиками, в нетермостатированном виварии. В период проведения экспериментов (июнь 1988 г. — март 1989 г.) температура воздуха в виварии изменялась от -10 до 22°C . Животным обеспечивали свободный доступ к пище и воде и полноценный пищевой рацион, включавший мясо, молоко и творог.

Лихорадку вызывали экзогенным и эндогенным пирогенами. В качестве экзогенного пирогена использовали ЛПС *Salmonellae typhi* (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи РАМН). Препарат разводили на апиrogenном физиологическом растворе и инъецировали внутримышечно в дозах 30 нг/кг—100 мкг/кг в объеме 1.0—1.5 мл. В качестве эндогенного пирогена применяли кроличий лейкоцитарный пироген/интерлейкин-1 (ЛП/ИЛ-1, 1 мл: $3.5 \cdot 10^7$ клеток перитонеального экссудата), полученный в лаборатории общей патологии НИИ экспериментальной медицины РАМН. Препарат вводили подкожно в дозе 3 мл/кг.

Активность препаратов ЛПС и ЛП/ИЛ-1 проверяли в опытах на кролике *Oryctolagus cuniculus* — традиционном для термофизиологических исследований объекте, характеризующимся высокой чувствительностью к пирогенам [12]. Использовали 18 кроликов-самцов породы шиншилла массой тела 2.5 ± 0.2 кг, которым пирогены вводили теми же способами и в тех же дозах, что и хорькам. Все опыты на кроликах проводили в термонейтральных (20 — 22°C) условиях. Контролем к экспериментам с ЛПС и ЛП/ИЛ-1 служили опыты, в которых хорькам и кроликам вводили апиrogenный физиологический раствор (2 мл внутримышечно).

Температуру хорьков и кроликов измеряли электротермометром со щупом длиной 4 см. Математическую, в том числе статистическую, обработку результатов проводили на ЭВМ IBM PC/AT. Статистически результаты обрабатывали с использованием критерия Стьюдента. В тексте и на рисунках результаты представлены в виде среднего арифметического \pm стандартная ошибка.

Результаты

Исходная ректальная температура хорьков составляла $39.1 \pm 0.1^\circ\text{C}$ ($n = 40$). Введение ЛПС в диапазоне доз 30—100 нг/кг вызывало дозозависимую температурную реакцию (рис. 1). В соответствии с существующими представлениями о двухфазном течении лихорадочной реакции в динамике температурного ответа хоря на ЛПС мы выделили 2 фазы: первую, или раннюю, проявляющуюся в наших опытах снижением глубокой температуры тела, и вторую — позднюю, характеризующуюся повышением

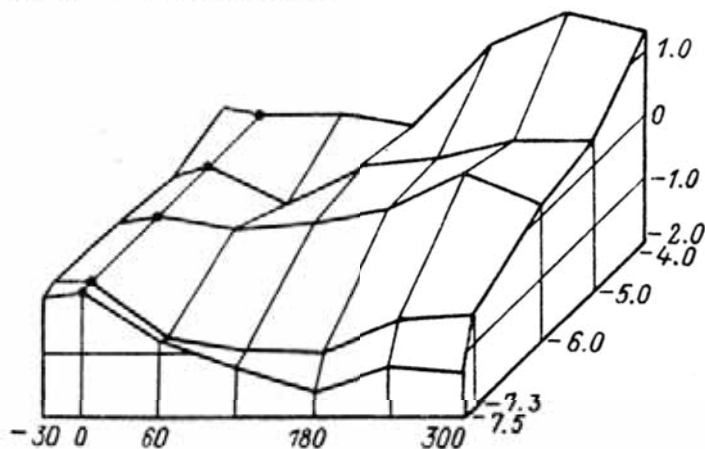


Рис. 1. Температурная реакция хоря на внутримышечное введение ЛПС.

По оси абсцисс — время после введения ЛПС (мин), по оси ординат — десятичный логарифм дозы ЛПС (доза рассчитана в г/кг), по оси аппликат — среднее (по данным 5—6 опытов) отклонение ректальной температуры от исходной ($^\circ\text{C}$). Точки — инъекции ЛПС.

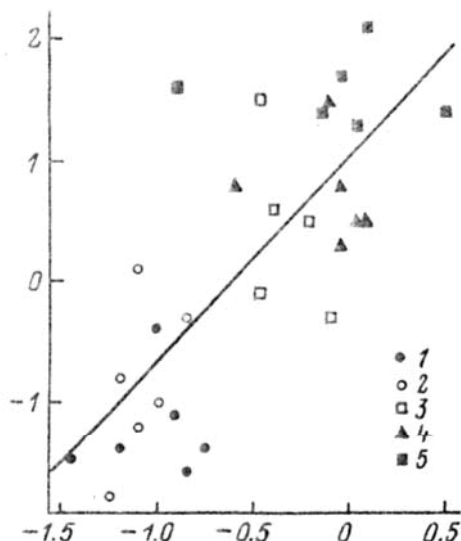


Рис. 2. Взаимосвязь изменений температуры тела в первую и вторую фазы реакции хоря на ЛПС.

По оси абсцисс — максимальное снижение ректальной температуры в первой фазе ответа ($^{\circ}\text{C}$), по оси ординат — максимальное повышение ректальной температуры во второй фазе ($^{\circ}\text{C}$). Характеристики ответов на введение ЛПС в дозах 1 — 30, 2 — 50 мг/кг, 3 — 1, 4 — 10, 5 — 100 мг/кг. Уравнение регрессии $y = -1.695x + 1.043$ ($p < 0.001$); коэффициент корреляции $r = 0.77$ ($p < 0.01$).

ем температуры. В низких дозах (30 и 50 мг/кг) ЛПС вызывал снижение ректальной температуры в течение первых 2 ч на величину около 1°C ; вторая фаза ответа проявлялась стабилизацией температуры тела на новом (пониженном) уровне. С увеличением дозы пирогена (1 и 10 мг/кг) начальная гипотермия становилась менее выраженной и сменялась повышением температуры тела. В наибольшей из применявшихся доз (100 мг/кг) ЛПС вызывал незначительное начальное снижение ректальной температуры и ее повышение на $1.6 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ в поздней фазе лихорадочной реакции, причем максимальный прирост температуры наблюдался через 4 ч после инъекции.

Взаимоотношения температурных изменений в разных фазах ответа показаны на рис. 2: температура тела во второй фазе повышалась лишь в том случае, если отсутствовало выраженное снижение температуры в первой фазе.

Описанное снижение температуры тела не объясняется спецификой свойств использованного бактериального пирогена, поскольку эндогенный «медиатор» лихорадочной реакции ЛП/ИЛ-1 также вызывал у хоряка существенную ($1.1 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$) гипотермию (рис. 3). Гипотермия, развивающаяся при пирогенных воздействиях, не является следствием стрессирования животного самой процедурой инъекции, так как

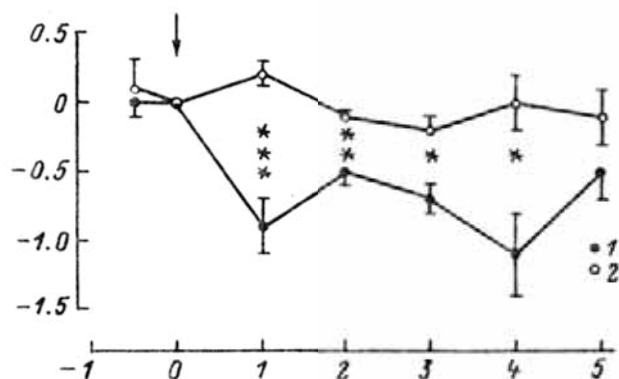


Рис. 3. Температурная реакция хоря на подкожное введение ЛП1/ИЛ-1 (3 мг/кг).

По оси абсцисс — время (ч), по оси ординат — среднее (по данным 5—6 опытов) отклонение ректальной температуры от исходной ($^{\circ}\text{C}$). 1 — реакция на ЛП1/ИЛ-1, 2 — динамика ректальной температуры в контроле (после введения апиrogenного физиологического раствора); вертикальные линии — стандартные ошибки, стрелка — момент введения препаратов. Одной, двумя и тремя звездочками обозначена достоверность отличия изменения температуры тела, вызванного ЛП1/ИЛ-1, от изменения температуры в контроле при уровнях значимости $< 0.05 < 0.01$ и < 0.001 соответственно.

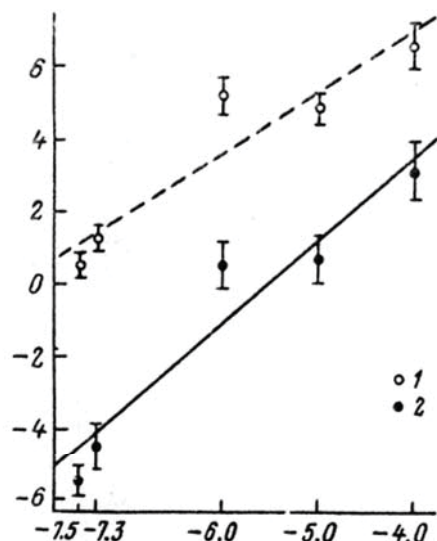


Рис. 4. Сравнение чувствительности кролика и хорька к ЛПС.

По оси абсцисс — десятичный логарифм дозы ЛПС (доза рассчитана в г/кг); по оси ординат — среднее значение (по данным 5—6 опытов для хорьков и 6 для кроликов) лихорадочного индекса, рассчитанного за первые 5 ч реакции ($^{\circ}\text{C} \cdot \text{ч}$). 1 — показатели реакции кроликов: лункир (аппроксимирующая прямая), уравнение регрессии $y = 1.650x + 13.466$ ($p < 0.05$), коэффициент корреляции $r = 0.93$ ($p < 0.05$). 2 — показатели реакции хорьков: сплошная линия (аппроксимирующая прямая), уравнение регрессии $y = 2.366x + 12.964$ ($p < 0.01$), коэффициент корреляции $r = 0.96$ ($p < 0.05$). Вертикальные линии — стандартные ошибки.

введение физиологического раствора не влияло на ректальную температуру (рис. 3).

С целью сравнения чувствительности хорька и кролика к ЛПС сопоставляли зависимость величины температурной реакции от дозы ЛПС, взятой в логарифмической шкале. Показателем температурной реакции считали лихорадочный индекс, вычислявшийся как интеграл отклонения ректальной температуры от исходной по времени (пределы интегрирования 0—5 ч после инъекции). Исходная ректальная температура кроликов в наших опытах ($39.1 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$; $n = 46$) не отличалась от таковой хорьков.

Зависимость температурной реакции кролика и хорька от логарифма дозы ЛПС удовлетворительно описывается прямыми (рис. 4). Обе прямые имеют практически одинаковый наклон, что свидетельствует о сходной чувствительности данных животных к ЛПС. В то же время одинаковая (по лихорадочному индексу) температурная реакция наблюдается лишь в том случае, если доза ЛПС (на 1 кг массы тела), вводимого хорьку, на 2—3 порядка превышает дозу, используемую в опытах на кролике. Пороговая доза ЛПС, вызывающая повышение температуры, составляет для кролика 50 нг/кг, а для хорька — лежит в интервале 10—100 мкг/кг. Хорь реагирует на введение и существенно более низких доз препарата (30 нг/кг), но в этом случае реакция проявляется не повышением, а снижением температуры тела.

Описанные эксперименты проводили при температуре воздуха в широком диапазоне (-10 — 22°C), однако выявить определенную зависимость температурного ответа хорька на пирогены от внешней температуры не удалось. Характер реакции на ЛПС был одинаковым при отрицательных и положительных температурах; опыты с ЛП/ИЛ-1 проводили при внешней температуре -10°C .

Обсуждение

Полученные данные показывают, что хорь обладает высокой чувствительностью к пирогенам, реагируя изменением глубокой температуры тела на введение ЛПС уже в дозе 30 нг/кг. Особенность терморегуляторного ответа хорька состоит в том, что основным проявлением реакции на ЛПС в низких дозах является не повышение, а снижение температуры тела.

Физиологические эффекты экзогенных пирогенов делятся на 2 группы. Большинство эффектов (гипертермический, гипергликемический, лейкопенический, гипотензивный и другие) относятся к первой группе [8]. Реализация этих эффектов связана с синтезом и (или) секрецией моноклеарными фагоцитами эндогенных «медиаторов» [прежде всего эндогенных пирогенов — ИЛ-1, фактора некроза опухоли (ФНО) и других цитокинов]. При введении ЛПС на фоне предварительно выработанной толерантности эффекты первой группы не развиваются. Нами было показано, что к этой группе эффектов относится и антидиуретическое действие

выработанной толерантности эффекты первой группы не развиваются. Нами было показано, что к этой группе эффектов относится и антидиуретическое действие пирогенов [13].

Эффекты второй группы, примером которых является анорексия, развиваются при введении ЛПС как «наивным», так и толерантным животным [14].

Поскольку снижение температуры тела в наших опытах вызывалось не только экзогенным пирогеном, но и ЛПС/ИЛ-1, есть основание полагать, что гипотермическое действие относится к первой группе эффектов пирогенов, не связано со спецификой использовавшегося ЛПС и отражает особенности течения лихорадки у хоря.

Способность пирогенов вызывать снижение температуры тела показана во многих работах. Описаны гипотермические реакции мышей на ЛПС и простагландины группы E [7], падение глубокой температуры тела крысы под действием ФНО [5], вызванное эндотоксином снижение температуры тела кролика при недостаточном белковом питании [6] и другие. Способность грызунов отвечать на введение эндотоксинов как гипер-, так и гипотермией обсуждается в монографии Клюгера [8]. Многочисленные случаи гипотермии новорожденных детей при инфекционных заболеваниях и данные о снижении температуры тела детенышей различных лабораторных животных при экспериментальной лихорадке рассматриваются в обзоре [9].

Механизмом снижения температуры тела во второй фазе лихорадки является диссоциация порогов реакций холодовой и тепловой защиты, которая состоит в снижении пороговой (для активации теплопродукции) глубокой температуры тела параллельно с повышением порога инициации реакций теплоотдачи (полипноэ, периферическая вазодилатация). Показано, что межпороговая зона (которая в норме практически отсутствует) существенно расширяется в поздней фазе лихорадки и достигает 2—3°C [3, 4]. В этих условиях глубокая температура тела является результатом преимущественно пассивного теплообмена организма со средой и может принимать любые значения, лежащие в широкой межпороговой зоне. Таким образом, проявлениями поздней фазы лихорадки могут быть не только гипертермия, но и нормо- или гипотермия.

Ранняя фаза лихорадки характеризуется повышением установочной точки терморегуляции (параллельным смещением вверх по температурной шкале порогов активации терморегуляторных эффекторов [3, 4]. Единственно возможной температурной реакцией в этих условиях является регулируемое повышение температуры тела. Существует, однако, механизм «превращения» ранней фазы лихорадочной реакции в позднюю. Такое «превращение», ведущее к развитию диссоциации порогов тепловой и холодовой защиты уже в первой фазе лихорадки, осуществляется под действием эндогенных антипиретиков, например адренокортикотропина [3]. Активация системы эндогенного антипиреза и последующее развитие диссоциации порогов холодовой и тепловой защиты и являются, по всей видимости, механизмом снижения температуры тела в первой фазе лихорадки. Развитие гипотермии на ранних сроках после введения пирогена описано в настоящей работе и в работах [4—8].

Если механизм гипотермического действия пирогенов связан с развитием диссоциации порогов активации терморегуляторных эффекторов, то направленность изменения температуры тела при лихорадке должна зависеть от температуры среды. Такая зависимость обнаружена в многочисленных опытах на новорожденных животных (см. обзор [9]). Настоящее исследование не позволяет сделать определенное заключение о влиянии внешней температуры на характер ответа хоря на ЛПС, поскольку мы не определяли реакцию на одну и ту же дозу пирогена при разных температурах.

Одним из путей изучения механизмов лихорадочной реакции является сопоставление паттернов монофазных и двухфазных температурных ответов на различные пирогены при разных способах их введения в организм [2] и выявление взаимосвязи между изменениями температуры тела в раннюю и позднюю фазы лихорадки [5].

Наши опыты показывают, что существенное повышение температуры тела хоря в поздней фазе ответа на ЛПС развивается лишь в том случае, если отсутствует выраженное снижение температуры тела в ранней фазе. Эта же закономерность была выявлена для терморегуляторного действия ФНО α в исследовании [5], выполненном на крысах.

Отдельного рассмотрения заслуживает вопрос о биологическом значении температурного ответа на пироген. Повышение температуры тела является лишь одним из механизмов (наряду с перераспределением иммунокомпетентных клеток в организме, изменением концентрации микроэлементов в крови и другими [8]), через которые реализуется защитная функция лихорадки. Многие животные, экологические и этологические особенности которых обуславливают высокую частоту инфицирования, например крыса, обладают эффективными механизмами местной защиты (фагоцитоз). Надежность местных механизмов объясняет низкую чувствительность таких животных к пирогенам — необходимость в системной реакции повышения температуры тела зачастую отсутствует [15]. Вне зависимости от вида животного высокая энергетическая стоимость делает нецелесообразным повышение температуры тела при развитии инфекционного процесса на фоне недостаточного питания, низкой температуры среды, массивной кровопотери. Именно в этих случаях лихорадка наиболее часто проявляется гипотермией или отсутствием температурных изменений [6, 9]. Диссоциация порогов холодовой и тепловой защиты может служить механизмом оптимизации ответа организма на пироген, обеспечивая повышение температуры тела в условиях низких энергозатрат на такое повышение (высокая температура среды) и препятствуя развитию гипертермии при необходимости сохранения энергии для осуществления других функций.

В результате сравнительно-физиологического изучения механизмов лихорадки на протяжении последних лет получен ряд данных, противоречащих существующим представлениям. Так, известная закономерность «чем выше организация животных, тем чувствительнее они к пирогенам» [12, с. 74] не подтверждается данными об отсутствии повышения температуры тела бабуинов в ответ на внутривенное введение ЛПС в дозе 100 мкг/кг, хотя этот же препарат в дозе, меньшей на 3 порядка, вызывал выраженную (1, 7°C) гипертермию у кроликов [16]. Описанное в настоящей работе, в работах [4—9] и в других исследованиях гипотермическое действие различных пирогенных веществ (бактериальных ЛПС, ЛП/ИЛ-1, ФНО, простагландинов группы E) входит в формальное противоречие с определением лихорадки [9] и с самим термином «пироген» [7].

Накопление данных о том, что реакция организма на пироген может проявляться гипотермией или отсутствием изменений температуры тела, инициировало поиск механизмов, общих для различных терморегуляторных проявлений. Как мы уже отмечали, одним из таких механизмов является диссоциация порогов холодовой и тепловой защиты, результатом которой могут быть различные по направленности изменения температуры тела или их отсутствие. «Отсюда следует, что те же самые центральные терморегуляторные процессы, которые в одних условиях ведут к развитию двухфазной лихорадки (гипертермии), в других случаях выражаются в развитии гипотермии» [9, с. 519]. В настоящей работе на примере температурной реакции хоря на бактериальный ЛПС описан один из возможных паттернов (гипотермия—гипертермия) ответа организма на пирогенные воздействия.

Список литературы

- [1] Веселкин П.Н. Лихорадка. М., 1963.
- [2] Morimoto A., Nakamori T., Watanabe T. et al. Pattern differences in experimental fevers induced by endotoxin, endogenous pyrogen, and prostaglandins // *Am. J. Physiol.* 1988. V. 254. P. R633—R640.
- [3] Янский Л., Выбирал С., Романовский А.А., Гурин В.Н. Механизм влияния нейрпептидов на терморегуляцию // *Нейропептиды и терморегуляция.* Минск, 1990. С. 9—31.

- [4] Романовский А.А. Экспериментальные модели лихорадки // Термофизиология: Информационный бюллетень. Минск, 1991, вып. 2. С. 24—33.
- [5] Bibby D.C., Grimble R.F. Leukotrienes and prostaglandins may be involved in the hypothermic effects of recombinant TNF in rats // Proc. Nutr. Soc. 1989. V. 48. N. 2. P. A112.
- [6] Hoffman-Goetz L., Kluger M.J. Protein deprivation: Its effects on fever and plasma iron during bacterial infection in rabbits // J. Physiol. (London). 1979. V. 295. P. 419—430.
- [7] Rips R., Bellemín J., Boschi G. Hypothermic effects of «pyrogens» in the mouse and interaction with lysine acetylsalicylate // Thermoregulation: Research and Clinical Applications / Eds. P.Lomax, E.Schonbaum. Basel: Karger, 1989. P. 153—155.
- [8] Kluger M.J. Fever: Its Biology, Evolution and Function. Princeton: Princeton Univ. Press, 1979.
- [9] Székely M., Szélényi Z. The pathophysiology of fever in the neonate // Pyretics and Antipyretics: Handbook of Experimental Pharmacology / Ed. A.S.Milton. Berlin: Springer-Verlag, 1982. V. 60. P. 25—71.
- [10] Sweet C., Bird R.A., Cavanagh D. et al. The local origin of the febrile response induced in ferrets during respiratory infection with a virulent influenza virus // Br. J. Exp. Pathol. 1979. V. 60. N. 3. P. 300—308.
- [11] Hussein R.H., Sweet C., Collie M.H., Smith H. Elevation of nasal viral levels by suppression of fever in ferrets infected with influenza viruses of different virulence // J. Infect. Dis. 1982. V. 145. P. 520—524.
- [12] Крылов Ю.Ф., Кивман Г.Я. Биологический контроль безопасности лекарственных средств. М., 1985.
- [13] Мгалобливицки Г.И., Романовский А.А. О роли бактериального пирогена в развитии антидиуреза при лихорадке // Патол. физиол. и exper. тер. 1986, вып. 6. С. 74—77.
- [14] O'Reilly B., Vander A.J., Kluger M.J. Effects of chronic infusion of lipopolysaccharide on food intake and body temperature of the rat // Physiol. Behav. 1988. V. 42. N. 3. P. 287—291.
- [15] Splawinski J.A., Zacny E., Corka Z. Fever in rats after intravenous E.coli endotoxin administration // Pflug. Arch. 1977. V. 365. P. 125—128.
- [16] Zurovsky Y., Laburn H., Mitchell D., MacPhail A.P. Responses of baboons to traditionally pyrogenic agents // Can. J. Physiol. Pharmacol. 1987. V. 65. N. 6. P. 1402—1406.

Поступила 25 VII 1991

FEVERISH REACTION TO BACTERIAL PYROGEN IN THE FERRET: HYPO- AND HYPERTHERMIC PHASES

A.A.Romanovskii, E.K.Karman, V.N.Gurin

Institute of Physiology, Belorussian Academy of Sciences, Minsk

SUMMARY

It has been demonstrated that the ferret (*Mustela putorius* × *Mustela putorius furo*) responds to intramuscular injection of *Salmonellae typhi* lipopolysaccharide (30 ng/kg—100 μg/kg) by biphasic change in the body temperature (T_b): the initial decrease in the latter is followed by hyperthermia. Maximum rise in T_b ($1.6 \pm 0.1^\circ\text{C}$) was observed after the injection of lipopolysaccharide in the highest dose. Rabbit leucocytic pyrogen/interleukin-1 (1 ml from $3.5 \cdot 10^7$ peritoneal phagocytes, 3 ml/kg) induces a pronounced ($1.1 \pm 0.3^\circ\text{C}$) decrease in T_b . Mechanisms of hypothermic effects of pyrogens are discussed. The described pattern (hypothermia-hyperthermia) of T_b response to lipopolysaccharide in the ferret presumably reflects the central thermoregulatory process which is the same for different changes in T_b during fever.