

УДК 612.53+577.15/.17

© 1992

ЦЕНТРАЛЬНОЕ ТЕРМОРЕГУЛЯТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ
ХОЛЕЦИСТОКИНИНА-8 И ПРОСТАГЛАНДИНА E₁

З. Селеньи, М. Сехели, А. А. Романовский

Кафедра патологической физиологии (зав. Ш. Ковач) Университета Печ;
Лаборатория физиологии функциональных систем (зав. В. Н. Гурин)
Института физиологии АН Беларуси, Минск

Ненаркотизированным крысам в термонеutralных (28 °C) условиях вводили через вживленную в боковой желудочек мозга канюлю холецистокинин-8 (ХЦК-8, 500 нг) и простагландин E₁ (ПГ E₁, 500 нг). ХЦК-8 вызывал повышение глубокой температуры тела (T_T), сходное по динамике с ПГ E₁-гипертермией. Исходная T_T, варьирующая в пределах 38.0—39.3 °C, не влияла на величину максимальной T_T, достигавшейся при обоих воздействиях, но была обратно пропорциональна величине прироста и скорости повышения T_T. При высокой исходной T_T в сочетании с периферической вазодилатацией ПГ E₁ и ХЦК-8 вызывали снижение кожной температуры (T_K), но не влияли на выделение углекислого газа. При низких значениях исходной T_T эффекторный паттерн гипертермической реакции включал в себя и периферическую вазоконстрикцию, и ускорение метаболизма. В фазе снижения T_T при гипертермии, вызванной как ПГ E₁, так и ХЦК-8, зарегистрированы координированные высокоамплитудные колебания T_T и T_K, являющиеся следствием снижения пороговой для инициации периферической вазоконстрикции T_T относительно порога периферической вазодилатации. Предполагается, что ПГ E₁ и ХЦК-8 могут вовлекаться в механизмы терморегуляции при лихорадке.

Ключевые слова: холецистокинин-8, простагландин E₁, гипертермия.

Простагландины (ПГ) группы E обладают выраженным гипертермическим действием при введении в мозг животным разных видов [9, 15] и рассматриваются в современной литературе как «медиаторы» ранней фазы лихорадочной реакции [16]. Простагландин-E-механизм является, вероятно, основным, но не единственным механизмом лихорадки. Данные о вовлечении соматостатина [14] и опиоидных пептидов [8] в механизмы лихорадочной реакции, о модуляции температурных ответов на пирогены и простагландины ингибиторами белкового синтеза и ингибиторами протеаз [6] свидетельствуют об участии пептидергических систем мозга в обеспечении терморегуляторных проявлений лихорадки. Известно также, что многим нейропептидам свойственно гипертермическое действие [2, 5], в том числе и холецистокинину [13, 20].

Целью работы является охарактеризовать центральное действие простагландина E₁ и холецистокинина-8 на регуляцию температуры тела крысы и сравнить характеристики терморегуляторных ответов на данные вещества.

МЕТОДИКА

Опыты проводили на содержащихся в индивидуальных клетках при свободном доступе к пище и воде крысах-самках линии Вистар массой 270±10 г с хронически канюлированным боковым желудочком мозга. Направляющую канюлю из нержавеющей стали имплантировали

под нембуталовым (60 мг/кг; внутривенно) наркозом в стереотаксическом приборе по координатам: 2—3 мм каудальнее коронарного шва; 2 мм латеральнее сагитального шва; 3—4 мм от поверхности кости. Введение канюли в желудочек контролировали во время операции по падению столба жидкости в оригинальной системе, соединенной с канюлей. Животных брали в эксперимент через неделю после операции.

Перед опытом обтуратор направляющей канюли заменяли инъекционной канюлей, соединенной через катетер с микрошприцем. Катетер, предварительно заполненный раствором фиксировали на коже животного 1—2 швами. Эти процедуры выполняли под ингаляционным эфирным наркозом; глубину наркоза подбирали так, чтобы время утраты произвольных движений составляло около 1 мин. Медноконстантановые термопары вводили в анальное отверстие (на глубину 10 см) и под кожу хвоста (на границе средней и нижней третей). Животное помещали в частично ограничивающую подвижность и не нарушающую теплообмена со средой цилиндрическую клетку, которую вставляли в метаболическую камеру открытого типа, а последнюю, в свою очередь помещали в водяной термостат (28 °С).

На протяжении опыта колониическую и кожную температуры, выделение углекислого газа (с помощью модифицированного газоанализатора Kipp-Nyons) и температуру воздуха в камере регистрировали на электрофизиологическом комплексе Beckman. Референтные спай термопар находились при температуре 38 °С.

По истечении 1 ч после стабилизации колониической температуры в боковой желудочек мозга вводили простагландин E₁ (Sigma, 500 нг, в 3.0 мкл этилового спирта — 16.7%, на физиологическом растворе), холецистокинин-8 (сульфатированная форма; Sigma, 50 нг, в 4.5 мкл физиологического раствора) и указанные растворители (4.5 мкл). Скорость введения растворов при всех инъекциях составляла 50—75 нл/с. В каждом опыте первое введение простагландина служило контролем положения канюли и функционального состояния животного. При отсутствии или недостаточной выраженности температурной реакции животное изымали из опыта.

Показателем температурной реакции на простагландин и холецистокинин считали максимальное значение колониической температуры, что обосновано в работах [3, 9]. Об изменении периферического кровотока в динамике температурного ответа судили по кожному вазомоторному индексу, вычислявшемуся как отношение разности между кожной температурой и температурой среды к разности между колониической температурой и температурой среды [17]. Показателем ускорения метаболизма считали относительное изменение выделения углекислого газа. Математическую, в том числе статическую, с использованием критериев *t*-Стьюдента и *F*-Фишера, обработку результатов проводили на ЭВМ HP 9845 и IBM PC/AT. В тексте и на рисунках результаты представлены в виде среднего арифметического ± стандартная ошибка.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Введение простагландина E₁ (500 нг) и холецистокинина-8 (500 нг) в боковой желудочек мозга крысы, находящейся в термонейтральных условиях при частичном ограничении подвижности, приводило к повышению колониической температуры с 38.53 ± 0.06 до 40.17 ± 0.04 °С (*p* < 0.001) и соответственно с 38.63 ± 0.09 до 39.96 ± 0.07 °С (*p* < 0.001). Усредненные показатели терморегуляторных ответов представлены на рис. 1.

Гипертермическая реакция, вызванная простагландином и холецистокинином, развивалась как за счет увеличения теплопродукции (рис. 1, б), так и ограничения теплоотдачи (рис. 1, в). Однако спектр эффекторов, вовлеченных в реакцию, не был постоянным и зависел от исходного состояния животного. В большинстве случаев в ответ на инъекцию субстратов наряду с увеличением выделения углекислого газа происходило резкое снижение кожной температуры (рис. 2, а). Введение веществ на фоне периферической вазоконстрикции вызывало ускорение метаболизма, но дальнейшего снижения кожной температуры в этих условиях, естественно, не наблюдалось (рис. 2, б). В случае исходных высокой колониической температуры и выраженной дилатации сосудов кожи гипертермический ответ на простагландин E₁ и холецистокинин-8 развивался преимущественно за счет периферической вазоконстрикции (рис. 2, в).

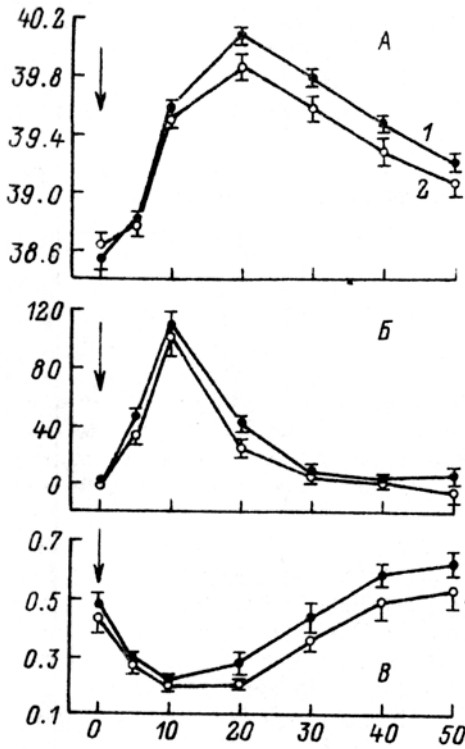


Рис. 1. Терморегуляторное действие простагландина E_1 (1) ($n = 29$) и холецистокинина-8 (2) ($n = 16$).

По оси абсцисс — время, мин; по оси ординат: на А — колони́ческая температура, °С; на В — изменение выделения углекислого газа, процент от исходного; В — кожный вазомоторный индекс. Стрелка — момент внутривенного введения простагландина (500 нг) или холецистокинина (500 нг).

Регуляция температуры тела при гипертермии, вызванной как простагландином E_1 , так и холецистокинином-8, характеризовалась повышением колони́ческой температуры до определенного уровня (рис. 3, б; 4, б), а не на определенную величину (рис. 3, а; 4, а): чем ниже была температура тела на момент внутривенного введения, тем выше был последующий ее прирост. Вне зависимости от величины прироста температуры гипертермическая реакция характеризовалась постоянными для каждого вещества латентным периодом (3.8 ± 0.2 мин для простагландина E_1 и 4.4 ± 0.2 мин для холецистокинина-8) и временем достижения максимальной колони́ческой температуры (18.6 ± 0.5 мин для простагландина E_1 и 16.9 ± 0.8 мин для холецистокинина-8; рис. 3, в; 4, в). При этом скорость повышения колони́ческой температуры была тем выше, чем ниже была исходная температура тела (и чем выше был ее прирост; рис. 3, г; 4, г).

Динамика терморегуляторных показателей при гипертермии, вызванной двумя разными субстратами, была сходной, но характер регуляции температуры тела в разные фазы ответа на данные вещества существенно различался (рис. 5). Высокая точность регуляции температуры тела в обычных условиях (до введения веществ) проявлялась в низкоамплитудных (несколько сотых °С) колебаниях температуры в минутном диапазоне на фоне более выраженных (амплитудой

Динамика терморегуляторных показателей при гипертермии, вызванной двумя разными субстратами, была сходной, но характер регуляции температуры тела в разные фазы ответа на данные вещества существенно различался (рис. 5). Высокая точность регуляции температуры тела в обычных условиях (до введения веществ) проявлялась в низкоамплитудных (несколько сотых °С) колебаниях температуры в минутном диапазоне на фоне более выраженных (амплитудой

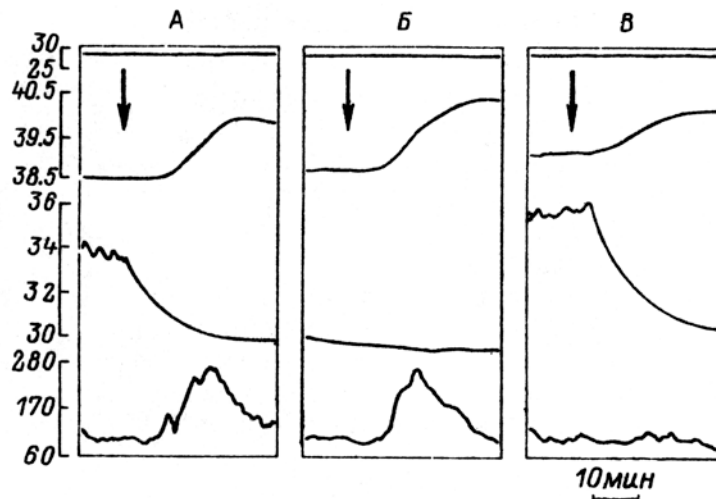


Рис. 2. Различные эффекторные паттерны (А—В) терморегуляторного ответа на внутривенное введение холецистокинина-8. (Фрагменты оригинальных записей).

На каждом фрагменте представлены (сверху вниз): температура воздуха в метаболической камере, °С; колони́ческая температура, °С; температура кожи хвоста, °С; выделение углекислого газа, процент от исходного. Стрелка — момент инъекции пептида (500 нг).

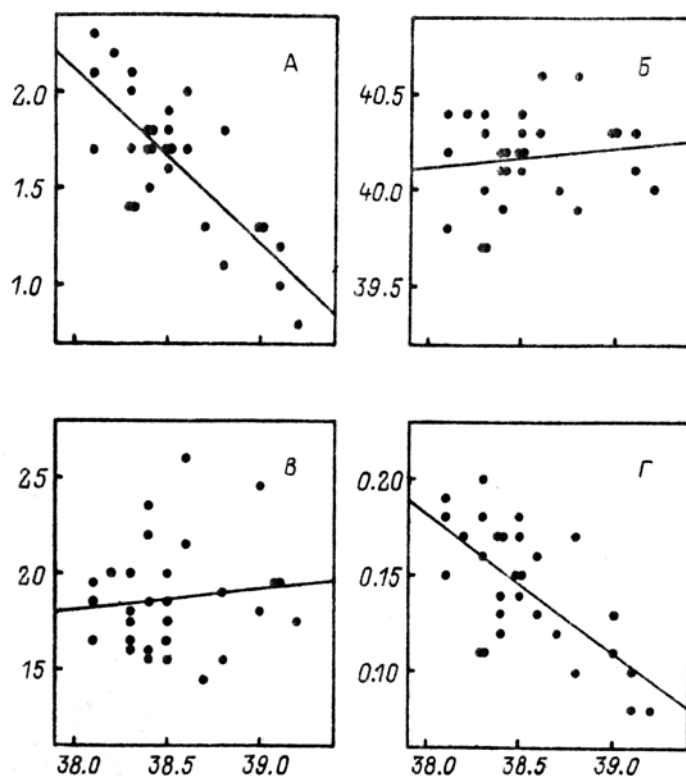


Рис. 3. Зависимость характеристик терморегуляторного ответа на внутривенное введение простагландина E_1 (500 нг) от исходной температуры тела ($n = 29$).

По оси абсцисс — исходная колоническая температура, °С; по оси ординат: на А — максимальный прирост колонической температуры, °С; на Б — максимальная колоническая температура, °С; на В — время достижения максимальной колонической температуры, мин; на Г — максимальная скорость повышения колонической температуры, °С/мин, рассчитанная по максимальному приросту температуры за скользящий 10-минутный интервал. Уравнения регрессии: А — $y = 36.3106 - 0.8998x$; $p < 0.01$; Б — $y = 36.3106 + 0.1002x$; $p > 0.05$; В — $y = 21.7731 + 1.0488x$; $p > 0.05$; Г — $y = 2.8803 - 0.0710x$; $p < 0.01$.

несколько десятых °С) декаминутных колебаний; при этом периферический вазомоторный тонус непрерывно менялся, что отражалось в быстрых колебаниях кожной температуры (рис. 5, а). Фаза повышения глубокой температуры тела характеризовалась ее плавным переходом на новый уровень в сочетании с экспоненциальным снижением температуры кожи, обусловленным быстрым развитием практически полной вазоконстрикции и последующим пассивным охлаждением кожи [18] (рис. 5, б). Отличительной чертой фазы снижения температуры тела явился сдвиг порога вазоконстрикции относительно порога вазодилатации; при этом наблюдались координированные высокоамплитудные (несколько десятых °С для колонической и несколько °С для кожной) колебания температур в минутном диапазоне (рис. 5, в).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работе показано, что гипертермия, вызванная простагландином E_1 (так же как и лихорадочная реакция [19]), не является следствием активации того или иного эффекторного механизма, а представляет собой координированный терморегуляторный ответ, характеризующийся вовлечением различных — в зависимости от состояния животного и внешних условий — эффекторов. Данная закономерность согласуется с представлениями о том, что простагландины группы Е являются «медиаторами» ранней фазы лихорадки [16].

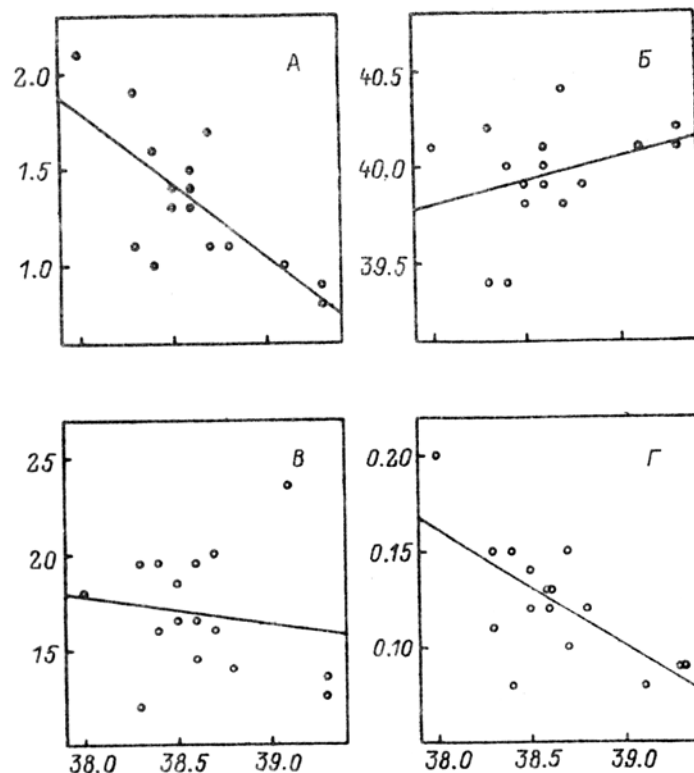


Рис. 4. Зависимость характеристик терморегуляторного ответа на внутрижелудочковое введение холецистокинина-8 (500 нг) от исходной температуры тела ($n = 16$).

Уравнения регрессии: А — $y = 30.0304 - 0.7431x$; $p < 0.01$; Б — $y = 30.0304 + 0.2569x$; $p > 0.05$; В — $y = 76.1525 - 1.5344x$; $p > 0.05$; Г — $y = 2.4684 - 0.0607x$; $p < 0.01$. Обозначения те же, что и на рис. 3.

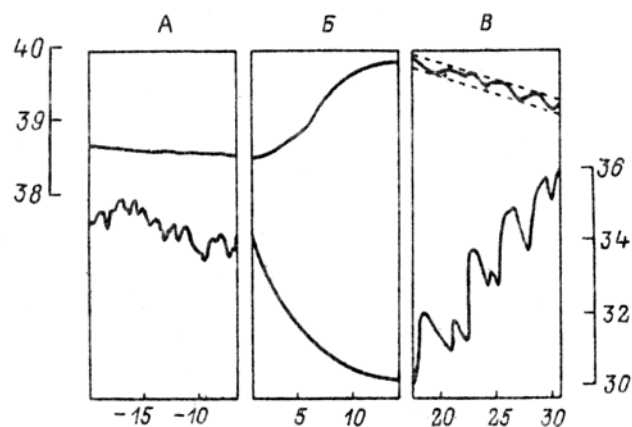


Рис. 5. Динамика колониической и кожной температур в разных фазах терморегуляторного ответа на внутрижелудочковое введение холецистокинина-8 (500 нг).

Фрагменты оригинальной записи. А — до введения, Б — во время повышения, В — в фазе снижения температуры тела. По оси абсцисс — время после инъекции холецистокинина-8, мин; по левой оси ординат, верхние кривые — колониическая температура, °С; по правой оси ординат, нижние кривые — температура кожи хвоста, °С. Верхней и нижней пунктирными линиями обозначены соответственно пороги вазодилатации и вазоконстрикции в фазе В.

Механизм повышения температуры тела в ранней фазе лихорадочной реакции и при гипертермии, вызванной простагландином E_1 , может быть описан как смещение вверх пороговой для активации терморегуляторных эффекторов глубокой температуры тела [5] или как повышение установочной точки терморегуляции [3].

До последнего времени оставалось неясным, повышается ли установочная точка регуляции температуры тела при указанной гипертермии до определенного уровня или на определенную величину. Ответ на этот вопрос получен в работах [9, 15]. Показано, что прирост глубокой температуры тела крысы в результате внутривенного введения простагландина E_1 в условиях уретанового наркоза обратно пропорционален исходной температуре тела, которую модулировали внешним обогревом [15]. Сходная закономерность выявлена и в экспериментах на крысах, которым в светлой и темной фазах суток вводили в боковой желудочек простагландин E_2 , что приводило к подъему температуры тела до одинакового (для каждой из использованных доз препарата) уровня, не зависящего от величины исходной температуры [9].

Наши данные не только подтверждают описанную закономерность, но и позволяют констатировать, что она не связана с такими факторами, как наркоз или внешнее нагревание, и не объясняется различием функционального состояния животного в разных фазах суток.

Мы попытались ответить на вопрос, достигается ли одинаковый уровень температуры тела при простагландиновой гипертермии, развивающейся при разной исходной температуре тела, за счет повышения температуры с одинаковой скоростью в течение различного времени или за счет роста температуры с разной скоростью на протяжении одного и того же временного отрезка. Полученные данные, показывающие, что скорость нарастания колонической температуры в ходе развития гипертермии, вызванной простагландином E_1 , обратно пропорциональна исходной температуре, а латентный период развития реакции и время достижения максимальной температуры не зависят от исходного состояния, представляются важными для построения адекватных моделей терморегуляции при лихорадке и указанной гипертермии.

Наиболее неожиданным результатом работы явился сдвиг порога кожной вазоконстрикции вниз по температурной шкале относительно порога кожной вазодилатации в фазе снижения температуры тела при простагландиновой гипертермии. Известно, что диссоциация порогов холодной и тепловой защиты является терморегуляторным проявлением не ранней, а поздней фазы лихорадки [3, 5]. Тот факт, что простагландин E_1 вызывает аналогичные терморегуляторные проявления, позволяет предположить, что простагландины группы E могут не только являться «медиаторами» первой фазы лихорадки, но и принимать участие в механизмах регуляции температуры тела во второй фазе лихорадочной реакции.

Отдельного обсуждения заслуживают результаты изучения терморегуляторного действия холецистокинина-8. Данный пептид долгое время считали веществом, вызывающим у животных разных видов снижение температуры тела [2]. В последние годы стало известно, что холецистокинин может оказывать и гипертермическое действие, по крайней мере в организме крысы [20] и морской свинки [13]. Если гипотермический эффект этого пептида является, вероятно, результатом его периферического действия, то гипертермическую реакцию на введение холецистокинина рассматривают как центральный терморегуляторный эффект [20].

Способность холецистокинина вызывать как снижение, так и повышение температуры тела отражает закономерность, общую для действия многих нейропептидов на терморегуляцию [2, 5]. Не исключено, что гипотермический и гипертермический эффекты холецистокинина реализуются через разные рецепторы, подобно тому как в развитии антипиретического и гиперпиретического эффектов аргинин-вазопрессина участвуют рецепторы V_1 - и V_2 -субтипов соответственно [5] и подобно тому как разные популяции рецепторов обеспечивают гипотермическое и гипертермическое действие морфина [10]. С данной гипотезой согласуется и тот факт, что периферическое введение холецистокинина-8 крысе по-разному влияет на развитие по различным механизмам терморегуляторных

эффектов морфина: пептид ослабляет морфиновую гипотермию, но не блокирует морфиновую гипертермию [11].

В предыдущей работе [20] мы обращали внимание на сходство терморегуляторных ответов крысы на внутрижелудочковое введение холецистокинина-8 и простагландина E₁. Настоящее исследование позволяет конкретизировать это положение. Гипертермия, вызванная данными субстратами, не только похожа по динамике температурного ответа, но и практически не различается по характеру зависимости реакции от исходной температуры тела, терморегуляторным проявлением в разных фазах ответа и паттерну активации эффекторов.

Одинаковый характер действия на механизмы терморегуляции холецистокинина-8 и простагландина E₁ — «медиатора» лихорадочной реакции — дополняется сходством симптоматики, характерной для лихорадки, с одной стороны, и развивающейся при введении в организм холецистокинина — с другой. Лихорадочная реакция сопровождается сонливостью, депрессией, уменьшением двигательной активности, подавлением аппетита, снижением потребления пищи и воды, гипергликемией и гиперинсулинемией [7]. Анализ данных литературы [2] показывает, что все перечисленные эффекты свойственны и холецистокинину.

Способность вызывать координированные реакции организма является еще одним свойством, общим для регуляторных пептидов. Примером роли пептидов в интеграции гомеостатических механизмов является антидиуретическое действие гормонального пула аргинин-вазопрессина при лихорадке [4], сочетающееся с антипиретическим действием центральных его пулов, а также с брадикардическим, гипотоническим и другими эффектами [12]. Поскольку холецистокинин также оказывает координированные влияния на физиологические функции, предполагается, что подобно аргинин-вазопрессину он может играть существенную роль в интеграции процессов гомеостаза [2].

Данные о модуляции температурных ответов на пирогены и простагландины ингибиторами белкового синтеза и ингибиторами протеаз [6] свидетельствуют об участии пептидергических систем мозга в обеспечении терморегуляторных проявлений лихорадочной реакции. В последние годы показано, что в механизмы лихорадки вовлечены соматостатин [14] и опиоидные пептиды [8]. Кроме того, лихорадка рассматривается сегодня как результат взаимодействия пирогенов и эндогенной антипиретической системы. «Медиаторами» последней также являются нейропептиды — аргинин-вазопрессин, адренкортикотропный гормон, α -меланостатин [5, 12].

Выявленное в настоящей работе глубокое сходство в действии простагландина E₁ и холецистокинина-8 на терморегуляцию крысы, а также сходство паттернов координированных ответов организма на пирогены и холецистокинин позволяют рассматривать холецистокининподобные пептиды и основной продукт их деградации в центральной нервной системе холецистокинин-8 [1] в качестве кандидатов на включение в список нейропептидов, принимающих участие в регуляции температуры тела при лихорадке.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[1] Докрей Г. Дж. Полипептиды в мозге и кишечнике: холецистокининподобные пептиды // Желудочно-кишечные гормоны и патология пищеварительной системы. М., 1981. С. 229—234.

[2] Ерошенко Т. М., Лукьянова Л. Л. Физиологические свойства регуляторных пептидов // Итоги науки и техники. Сер. Физиология человека и животных. 1989. Т. 51. С. 1—168.

[3] Романовский А. А. Экспериментальные модели лихорадки // Термофизиология: информационный бюллетень. Вып. 2. Минск, 1991. С. 24—33.

[4] Романовский А. А., Мгалоблишвили Г. И., Белявский Е. М., Сафонова Е. С. Антидиурез при лихорадке: возможная роль вазопрессина // Патол. физиол. и эксперим. терапия. 1986. Вып. 5. С. 68—71.

- [5] Янский Л., Выбирал С., Романовский А. А., Гурич В. Н. Механизм действия нейропептидов на терморегуляцию // *Нейропептиды и терморегуляция*. Минск, 1990. С. 9—31.
- [6] Barney C. C., Fregly M. J., Katovich M. J., Tyler P. E. On the central protein mediator of fever // *Fever*. New York, 1980. P. 111—122.
- [7] Blatteis C. M. The neurobiology of endogenous pyrogens // *Thermoreception and Temperature Regulation*. Berlin, 1989. P. 257—272.
- [8] Blatteis C. M., Xin L., Quan N. Neuromodulation of fever: Apparent involvement of opioids // *Brain Res. Bull.* 1991. Vol. 26. P. 219—223.
- [9] Feng J., Price M., Cohen J., Satinoff E. Prostaglandin fevers in rats: regulated change in body temperature or change in regulated body temperature? // *Amer. J. Physiol.* 1989. Vol. 257. P. R695—R699.
- [10] Geller E. B., Hawk C., Tallarida R. J., Adler M. W. Postulated thermoregulatory roles for different opiate receptors in rats // *Life Sci.* 1982. Vol. 31. P. 2241—2244.
- [11] Kapás L., Benedek G., Penke B. Cholecystokinin interferes with the thermoregulatory effect of exogenous and endogenous opioids // *Neuropeptides*. 1989. Vol. 14. P. 85—92.
- [12] Kasting N. W., Veale W. L., Cooper K. E., Lederis K. Vasopressin: a homeostatic effector in the febrile process // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1982. Vol. 6. P. 215—222.
- [13] Komáromi I. The effect of intraventricular cholecystokinin octapeptide on thermoregulation in the neonatal guinea-pig and rabbit // *Thermal Physiology*. Amsterdam, 1989. P. 105—109.
- [14] Lin M.-T., Uang W.-N., Ho L.-T. Hypothalamic somatostatin may mediate endotoxin-induced fever in the rat // *Arch. Pharmacol.* 1989. Vol. 339. P. 608—612.
- [15] Malkinson T. J., Cooper K. E., Veale W. L. Physiological changes during thermoregulation and fever in urethane-anesthetized rats // *Amer. J. Physiol.* 1988. Vol. 255. R73—R81.
- [16] Skarnes R. C., Brown S. K., Hull S. S., McCracken J. A. Role of prostaglandin E in the biphasic fever response to endotoxin // *J. Exp. Med.* 1981. Vol. 154. P. 1212—1224.
- [17] Székely M. Skin temperature—skin blood flow. Assessment of thermoregulatory changes // *Acta Physiol. Hung.* 1986. Vol. 68. P. 284.
- [18] Székely M., Szelényi Z. Endotoxin fever in the rat // *Acta Physiol. Hung.* 1979. Vol. 53. P. 265—277.
- [19] Szelényi Z. Current views on the pathogenesis of fever // *J. Therm. Biol.* 1983. Vol. 8. P. 185—190.
- [20] Szelényi Z., Barthó L. Can the hypothermia elicited by peripheral injection of CCK-8 in the rat be regarded as a centrally mediated thermoregulatory response? // *Thermal Physiology*. Amsterdam, 1989. P. 285—290.

Поступило 3 VII 1991

CENTRAL THERMOREGULATORY EFFECTS OF CHOLECYSTOKININ—
OCTAPEPTIDE AND PROSTAGLANDIN E₁

Z. Szelényi, M. Székely and A. A. Romanovsky

Pécs University Medical School, Pécs, Hungary, and Institute of Physiology of the Belarus.
Acad. Sci., Minsk

In unanesthetized rats, the effects of intracerebroventricular injections of prostaglandin E₁ (PGE₁) and cholecystokinin octapeptide (CCK-8) on body temperature (T_b) regulation were studied. Both PGE₁ and CCK-8 evoke hyperthermic responses of short latency and duration. Each substance raises the temperature, irrespective of initial temperature (T_{bi}). However, the maximal change in T_b and the rate of T_b rise depends on T_{bi}. A similarity of PGE₁ and CCK-8 central thermoregulatory effects and putative roles of these substances in the mechanisms of fever, are discussed.