

НЕФРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ГИДРОХЛОРТИАЗИДА И ГРАВИТАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬ- НОЙ ПОСТИШЕМИЧЕСКОЙ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТА- ТОЧНОСТИ

Зайцева Е.Н., Фролова Е.В., Чернова Н.В.

*ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России,
443099, Самара, ул. Чапаевская, д. 89, (846) 260-33-67, 13zen31@mail.ru*

Резюме. В экспериментах на белых крысах установлено, что гидрохлортиазид (в дозе 20 мг/кг, внутривенно) при ежедневном введении на фоне гравитационного воздействия (3g в направлении вектора центробежного ускорения к почкам животного) в условиях развития постишемической острой почечной недостаточности повышает скорость клубочковой фильтрации, креатининурию, понижает креатининемию, мочевую экскрецию белка, лактатдегидрогеназы, γ -глутамилтрансферазы, а также понижает доплеровский индекс резистентности почечных артерий в сравнении с нелеченым контролем.

Ключевые слова: гидрохлортиазид, гравитационное воздействие, диуретическая активность, экскреторная функция почек, острая почечная недостаточность, нефропротекторное действие, доплеровский индекс резистентности почечной артерии.

NEPHROPROTECTIVE PROPERTIES OF HYDROCHLOROTHIAZIDE AND THE GRAVITATIONAL EFFECTS IN EXPERIMENTAL POSTISCHEMIC ACUTE RENAL FAILURE

Zaitceva E.N., Frolova E.V., Chernova N.V.

State budgetary educational institution of higher professional education «Samara state medical University», Ministry of health of Russia, 443099, Samara, Chapaevskaya street, the house 89, (846) 260-33-67, 13zen31@mail.ru

Abstract. In experiments on white rats that hydrochlorothiazide (at a dose of 20 mg/kg, intragastric) on the background of gravitational effects (3g in the direction of the vector centrifugal acceleration to the kidneys animal) the daily exposure in the development of the postischemic acute renal failure increases speed glomerular filtration, reduces the level of creatinine in the blood, increases creatininuresis, reduces urinary excretion of protein, lactate dehydrogenase, γ - glutamyltransferase, and lowers the Doppler index resistance renal artery.

Keywords: hydrochlorothiazide, the gravitational influence, diuretic activity, excretory function of the kidneys, acute renal failure, nephroprotective action, the Doppler index resistance renal artery.

Введение

Поиск новых фармакологических и физиотерапевтических методов воздействия, обладающих нефропротекторными свойствами при острой почечной недостаточности (ОПН), является важной задачей современной фармакологии и нефрологии [1]. Наш выбор остановился на повышенном гравитационном воздействии и диуретиках. Естественная гравитация Земли сопровождает человека на протяжении всей его жизни, но неизвестно, как повлияет гипергравитация на течение ОПН. Диуретики – одна из наиболее часто и широко применяемых групп лекарственных средств, способствующих выведению излишнего количества воды, ионов, продуктов белкового обмена и токсических агентов из организма, однако интересно, как они себя проявят на фоне гипергравитации в условиях развития ОПН.

Эффективность лечения ОПН сегодня оценивают по ключевым маркерам повреждения почек, отражающим тяжесть поражения данного органа: скорость клубочковой фильтрации (СКФ) и повышенная протеинурия. СКФ чаще всего определяют по клиренсу эндогенного креатинина. Креатинин и мочевины являются продуктами белкового обмена в организме [2]. В настоящее время ряд биомаркеров, отражающих функциональное состояние почек, пополнен ферментами лактатдегидрогеназой (ЛДГ) и γ -глутамилтрансферазой (ГГТ), экскретируемыми с мочой и позволяющими дифференцировать нефрологические заболевания на ранних стадиях [3]. К функциональным методам исследования почечной гемодинамики также относят метод ультразвуковой доплерографии со спектральным анализом (УЗДГ), в частности наиболее часто используют уголнезависимый доплеровский индекс резистентности, характеризующий пульсовое наполнение отдельно взятого участка сосудистого русла [11].

Цель настоящего исследования – изучение и сравнительный анализ нефропротекторных свойств гидрохлортиазида, гравитационного фактора и совместного их применения методом оценки динамики СКФ, протеинурии, энзимурии, доплеровского индекса резистентности почечных артерий при развитии постишемической ОПН.

Материалы и методы

Эксперименты были проведены на 90 беспородных крысах альбиносах массой 200-

220 г, с соблюдением положений Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в научных целях (Страсбург, 02.01.1991 г). Лабораторные животные содержались в виварии на стандартном рационе при свободном доступе к воде. Всего было поставлено 5 серий экспериментов, в том числе 2 – по оригинальной методике, разработанной на кафедре фармакологии Самарского государственного медицинского университета, с использованием центрифуги ультракороткого радиуса [4, 5].

Возможные нефропротекторные свойства диуретика, гравитационного воздействия и их комбинации исследовались в хронических опытах с моделированием постишемической ОПН [6]. Ишемическая модель ОПН была создана путем удаления левой почки у наркотизированного животного с использованием специальных устройств, последующим пережатием сосудистой ножки единственной почки сосудистым зажимом на 1,5 часа, по истечении которых зажим с ножки удаляли, разрез ушивали послойно [7, 8].

Экспериментальные животные были разделены на пять групп. Интактным (интактная группа, n=10) и контрольным животным (нелеченая контрольная группа, n=20) в течение 7 дней эксперимента ежедневно вводили водную нагрузку в объеме 3% от массы тела животного при помощи внутрижелудочного зонда в строго определенное время [9]. Первая опытная группа (гравитационное лечение, n=20) получала водную нагрузку, размещалась на центрифуге ультракороткого радиуса и подвергалась гравитационному воздействию 3g в течение 10 мин в направлении вектора центробежного ускорения к почкам животного. Второй опытной группе (лечение гидрохлортиазидом, n=20) вводился внутрижелудочно гидрохлортиазид в дозе 20 мг/кг на фоне идентичной водной нагрузки. Третья опытная группа (комбинированное лечение, n=20) получала гидрохлортиазид в аналогичной дозе и подвергалась вышеуказанному гравитационному воздействию.

Животные помещались в обменные клетки на 24 ч, по истечении которых собранная моча и кровь подвергались исследованию. СКФ оценивали по клиренсу эндогенного креатинина. Концентрацию креатинина в моче и плазме крови регистрировали по конечной точке колориметрическим методом на автоматическом биохимическом анализаторе ILab 650. Белок в моче определяли фотометрическим методом в реакции с сульфосалициловой кислотой, ЛДГ и ГГТ в моче регистрировали кинетическим методом, мочевины мочи и плазмы крови – ферментативным (уреазным) методом на UniCel DxС 600 Synchron Clinical System. Необходимые показатели рассчитывали, используя общепринятые формулы.

Почечная гемодинамика изучалась методом ультразвуковой доплерографии со

спектральным анализом (УЗДГ) на портативном ультразвуковом сканере SonoScape S6Pro. На седьмые сутки эксперимента у животных всех экспериментальных групп под наркозом оценивалась максимальная систолическая скорость артериального потока в области устья правой почечной артерии. Для характеристики почечного сосудистого сопротивления автоматически рассчитывался индекс резистентности почечной артерии [10, 11]. Статистическую обработку полученных результатов экспериментов проводили с использованием стандартных методов вариационной статистики при помощи программ Microsoft Excel 2010 «Пакет анализа», Statistics 8,0 по критерию Манна-Уитни.

Результаты исследования

На третьи сутки послеоперационного периода выявленные экспериментальным путем изменения показателей количественной оценки функционального состояния почек подтверждали формирование постишемической острой почечной недостаточности [1]: у крыс контрольной группы (нелеченые животные) относительно интактных животных снижались показатели диуреза, повышалась концентрация креатинина в плазме крови и в моче, снижалась СКФ, повышался уровень мочевого экскреции ЛДГ и ГГТ, развивалась протеинурия. Возрастание уровня мочевого экскреции цитозольного фермента ЛДГ свидетельствовало о цитолизе клеток почечных канальцев, потому что данный фермент является маркером разрушения нефроцитов. Повышение мочевого экскреции мембраносвязанного фермента ГГТ, обнаруженного в наибольшем количестве в почечной ткани, было обусловлено экспериментальным повреждением мембран клеток почечных канальцев [2].

На седьмые сутки экспериментального периода для оценки функционального состояния почечного кровотока было проведено УЗДГ-исследование почек контрольных и интактных крыс, для характеристики почечного сосудистого сопротивления определяли индекс резистентности почечных артерий [11]. В результате было установлено, что у нелеченых животных в сравнении с интактными индекс резистентности достоверно повышался на 64%, что свидетельствовало о нарушении почечного кровотока.

В разгар ОПН, на третий день экспериментального периода, лечение крыс с острой нефропатией методом изолированного гравитационного воздействия привело к росту диуреза в данной группе на 80%, СКФ - на 61%, мочевиноуреза - на 19%, креатининурия - на 110%, снижению мочевого экскреции ЛДГ на 41%, белка - на 29%, снижению креатининемии на 36% по отношению к группе нелеченого контроля (рис. 1).

Следовательно, курсовое применение гравитационного фактора способствовало восстановлению почечной функции у крыс с постишемической ОПН.

В тоже время комбинированное лечение гидрохлортиазидом и гравитационным фактором способствовало росту диуреза на 40%, скорости клубочковой фильтрации на 41%, креатининуриза - на 50%, падению мочевой экскреции ЛДГ на 50%, снижению протеинурии на 59%. Таким образом, применение курсового комбинированного лечения, так же как и монотерапия гравитационным фактором, нормализует почечную гемодинамику и экскреторную функцию почек крыс с острой нефропатией.

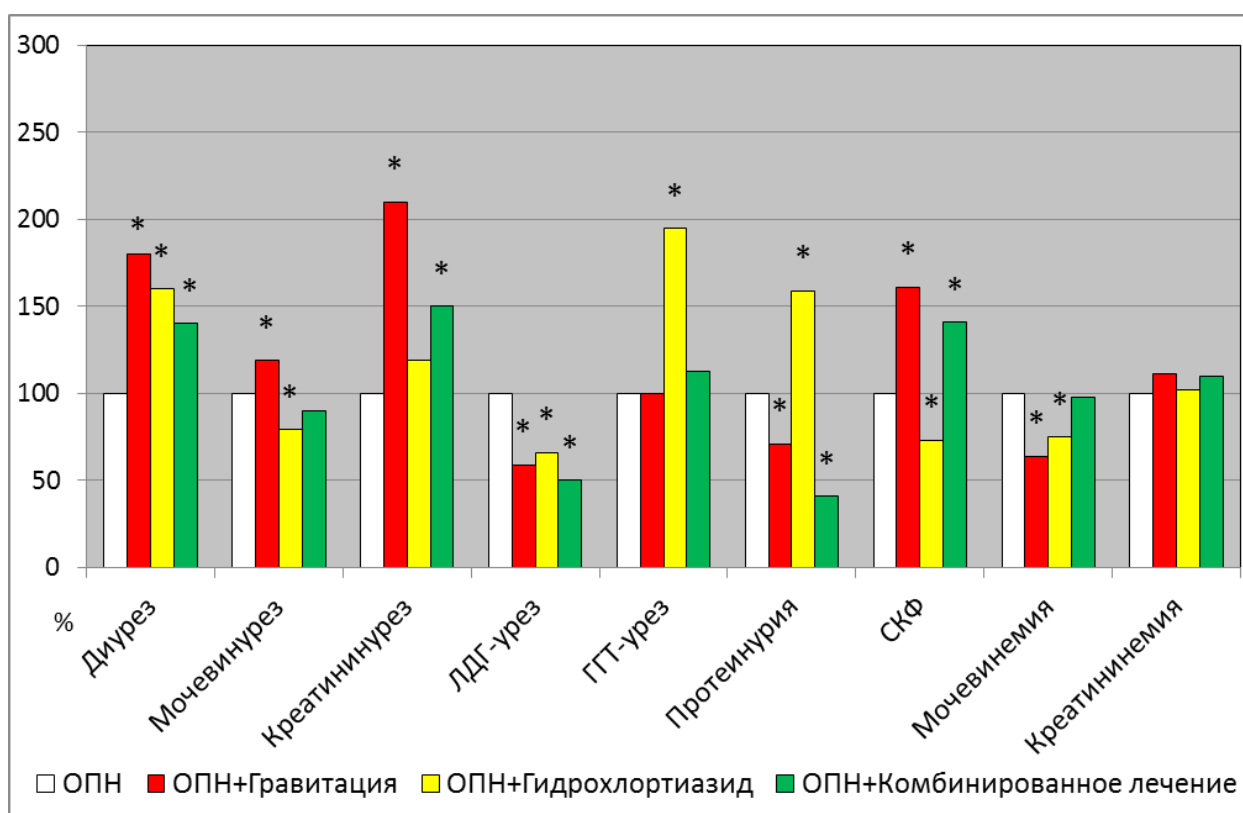


Рисунок 1. Влияние гравитационного воздействия, гидрохлортиазида и их комбинации на экскреторную функцию почек, СКФ и уровень азотемии у крыс на третьи сутки развития постишемической ОПН

Однако гидрохлортиазид достоверно повышал диурез на 60%, понижал мочевую экскрецию ЛДГ на 34%, уровень мочевины в крови - на 25%, при этом снижая скорость клубочковой фильтрации на 27%, мочевиноуриза - на 21%, повышая мочевую экскрецию ГГТ на 95% и белка - на 59% по сравнению с нелечеными крысами. Это свидетельствует о том, что курсовое лечение гидрохлортиазидом усугубляет течение ОПН, нарушая работу

почечного фильтра и способствуя потере белка организмом.

На седьмые сутки после операции, в период разрешения постишемической ОПН, во всех трех опытных группах отмечалось снижение диуретической реакции по отношению к группе нелеченого контроля, в которой отмечалась полиурическая стадия постишемической ОПН (рис. 2).

Оптимально быстро восстанавливалось функциональное состояние почек у животных, получавших комбинированную терапию гидрохлортиазидом и гравитационным воздействием, диурез у этих животных был достоверно снижен на 60%, СКФ возрастала на 150%, креатининурез продолжал оставаться повышенным на 30%, мочевиноурез возрастал на 76%, мочевая экскреция ГГТ снижалась на 54%, белка - на 62%, креатининемия снижалась на 15% в сравнении с контролем.

Животные, леченные гравитационным фактором, незначительно снижали почечную экскрецию воды на 30%, повышали СКФ на 286%, креатининурез - на 160%, мочевиноурез - на 89%, снижали мочевую экскрецию ЛДГ на 27%, ГГТ - на 39%, белка - на 19%, мочевинонемию - на 18%, креатининемию - на 21%.

У крыс, получавших монотерапию гидрохлортиазидом, отмечалось снижение диуреза на 40%, возрастание креатининуреза на 50%, мочевиноуреза - на 73%, снижение мочевой экскреции ГГТ на 36%, снижение креатининемии на 26%, в тоже время протеинурия оставалась повышенной на 34%.

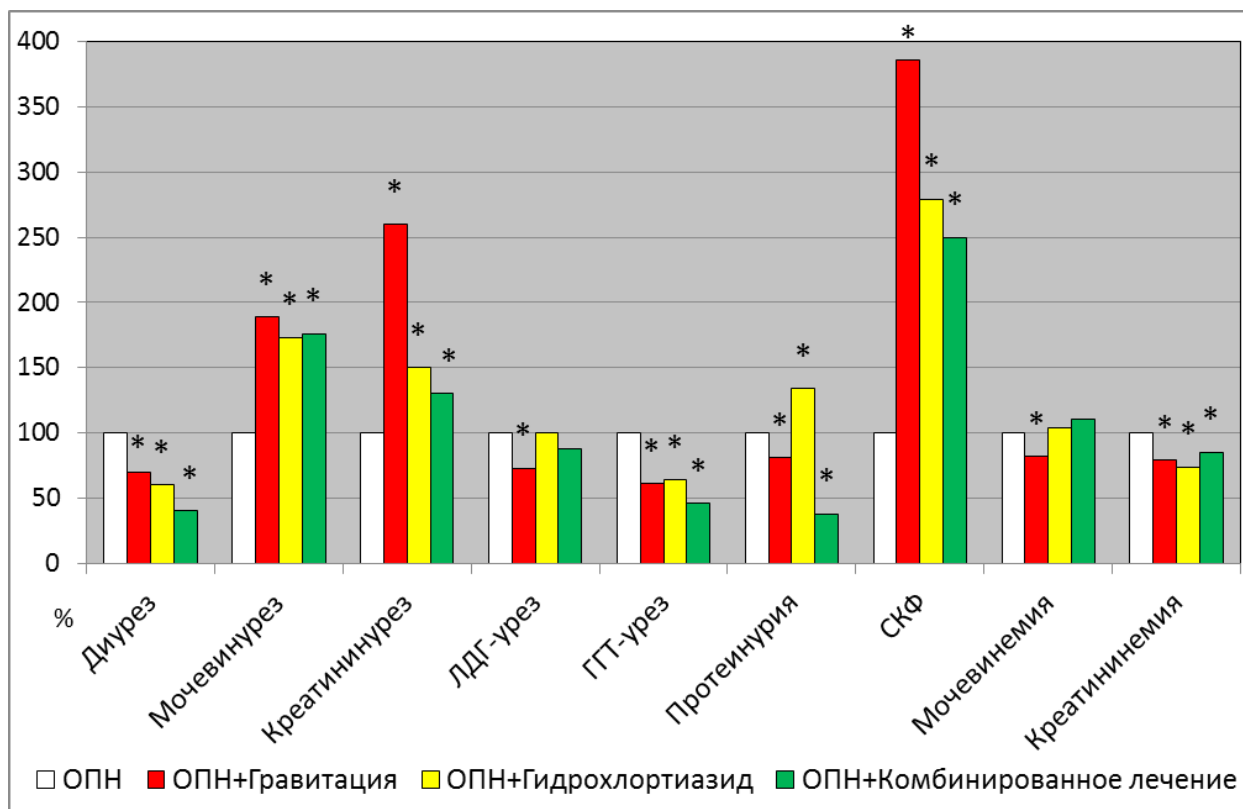


Рисунок 2. Влияние гравитационного воздействия, гидрохлортиазида и их комбинации на экскреторную функцию почек, СКФ и уровень азотемии у крыс на седьмые сутки развития постишемической ОПН

Доплеровский индекс резистентности у всех трех опытных групп в сравнении с группой нелеченого контроля на седьмые сутки эксперимента изменялся следующим образом: в группе, получавшей изолированное лечение гравитационным фактором, значения индекса резистентности были близки к контрольным значениям; в группе, получавшей комбинированную терапию – индекс резистентности достоверно снижался на 17%; в группе, получавшей монотерапию гидрохлортиазидом – индекс резистентности был недостоверно повышен.

Таким образом, наиболее эффективным методом нефропротекции при постишемической ОПН явилась комбинированная терапия диуретиком и гравитационным воздействием. Несколько уступало данному методу лечение изолированным гравитационным воздействием на организм животного, однако данный метод оказался самым эффективным с точки зрения стимуляции клубочковой фильтрации. Монотерапия гидрохлортиазидом была наименее эффективной.

Обсуждение

При изучении нефропротекторного действия гидрохлортиазида, гравитационного фактора и их комбинации на модели экспериментальной постишемической ОПН на протяжении семи дней экспериментального периода была выявлена определенная закономерность в эффективности данных методов. Комбинированная терапия оказалась наиболее эффективной, так как способствовала нормализации азотистого баланса в организме опытных животных, фильтрационной способности и экскреторной функции почек, снижению протеинурии. Аналогичным образом проявила себя монотерапия гравитационным воздействием, уступая по степени выраженности антипротеинуретического действия, но превосходя по интенсивности стимуляции клубочковой фильтрации. Однако монотерапия гидрохлортиазидом оказалась совершенно неэффективной в плане нефропротекции, снижала скорость клубочковой фильтрации в разгар ОПН, повышала уровень протеинурии и нарушала азотистый баланс организма опытных крыс.

Выводы

1. Комбинированная терапия гидрохлортиазидом и гравитационным воздействием при формировании экспериментальной постишемической острой почечной недостаточности повышает СКФ, уменьшает креатининемию, увеличивает экскрецию мочевины и креатинина с мочой, уменьшает протеинурию, снижает почечную экскрецию ЛДГ и ГГТ понижает доплеровский индекс резистентности почечных артерий.
2. Изолированная гравитационная терапия в аналогичных условиях оказывает статистически значимый, но менее выраженный, чем у комбинированной терапии, антипротеинуретический эффект, но более выраженный эффект стимуляции СКФ.
3. Монотерапия гидрохлортиазидом в идентичных условиях способствует росту протеинурии и снижению СКФ.

Список литературы

1. Хорошилов С.Е., Никулин А.В. Возможности медикаментозной нефропротекции и профилактики острой почечной недостаточности // Буковинский медицинский вестник. – 2012. – Т. 16, № 3 (63), Ч. 2. – С. 31-35.
2. Филипец Н.Д., Гоженко А.И. Сравнительная оценка нефропротекторных свойств модуляторов калиевых и кальциевых каналов при экспериментальном поражении

- почек // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т. 77, №1. – С. 10-12.
3. Батько А.Б., Осешнюк Р.А. Экспериментальный нефролитиаз: нефропротекторное действие антагонистов кальция // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – Т. 75, №12. – С. 25-26.
 4. Зайцева Е.Н., Зайцев А.Р., Дубищев А.В. Устройство для изучения влияния повышенных нагрузок на лабораторных животных: патент на полезную модель 93674 Рос. Федерация. № 2009149546/22; заявл. 30.12.09; опубл. 10.05.10, Бюл. № 13. 2 с.
 5. Зайцева, Е.Н. Способ получения диуреза у лабораторных животных: патент на изобретение 2494703 Рос. Федерация. №2012104057/13; заявл. 06.02.12; опубл. 10.10.13, Бюл. № 28. 11 с.
 6. Зайцева Е.Н., Дубищев А.В., Зайцев А.Р. Способ моделирования постишемической почечной недостаточности: патент на изобретение 2481646 Рос. Федерация. №2012104056/14; заявл. 06.02.12; опубл. 10.05.13, Бюл. №13. 6 с.
 7. Зайцева Е.Н., Зайцев А.Р., Дубищев А.В. Устройство для проведения хирургических операций на лабораторных животных: патент на полезную модель 112031 Рос. Федерация. №2011138635/13; заявл. 20.09.11; опубл. 10.01.12, Бюл. №1. 2 с.
 8. Зайцева Е.Н., Зайцев А.Р., Дубищев А.В., Горай Е.А. Устройство для фиксации краев операционных ран у лабораторных животных: патент на полезную модель 129805 Рос. Федерация. №2012145710/20; заявл. 25.10.12; опубл. 10.07.13, Бюл. №19. 2 с.
 9. Зайцева Е.Н., Зайцев А.Р., Дубищев А.В. Устройство для введения водной нагрузки лабораторным животным: патент на полезную модель 115651 Рос. Федерация. №2011138631/13; заявл. 20.09.11; опубл. 10.05.12, Бюл. № 13. 2 с.
 10. Назаренко Г.И., Хитрова А.Н., Краснова Т.В. Допплерографические исследования в уронефрологии. М.: Медицина, 2002. 152 с.
 11. Бегун И.В., Папкевич И.И. Индекс резистентности в диагностике заболеваний почек – возможности и ограничения // Нефрология. – 2009. – Т. 13, № 4. – С. 18-27.