

© А.И.Гоженко, А.С.Федорук, С.И.Доломатов, И.В.Погорелая, 2003
УДК [616.61-002-02:661.849.31-12]-08.001.5

А.И.Гоженко, А.С.Федорук, С.И.Доломатов, И.В.Погорелая

ВЛИЯНИЕ АРГИНИНА, ПРЕДУКТАЛА И СОРБИЛАКТА НА ФУНКЦИЮ ПОЧЕК КРЫС ПРИ СУЛЕМОВОЙ НЕФРОПАТИИ

A.I.Gozhenko, A.S.Fedoruk, S.I.Dolomatov, I.V.Pogorelaya

EFFECTS OF ARGININE, PREDUCTAL AND SORBILACT ON RENAL FUNCTION OF RATS WITH SUBLIMATE NEPHROPATHY

Кафедра общей и клинической патофизиологии Одесского государственного медицинского университета, Украина

РЕФЕРАТ

Цель работы – выяснение эффективности применения аргинина для коррекции острой почечной недостаточности (ОПН) при сулемовой нефропатии и определение оптимальных сочетаний с другими фармапрепаратами. Опыты проведены на 51 белых крысах-самцах линии Вистар. Животные содержались на низконатриевом рационе питания (содержание натрия до 50 мкмоль/сутки). Укрыс контрольной группы и четырех групп животных с ОПН, вызванной п/к введением сулемы (5 мг/кг массы тела на изотоническом растворе) через 24 часа после введения (период олигурии) изучена функция почек в условиях водного диуреза. Крысам четырех подопытных групп вводили сулему, аргинин хлорид; аргинин и предуктал 5 мг/кг внутривентально; аргинин хлорид и гиперосмолярный инфузионный раствор сорбилакт. Результаты исследований свидетельствуют, что предлагаемый подход к терапии почечных повреждений при сулемовой, а, скорее всего, и других токсических нефропатиях, является перспективным, т.к. он наиболее патогенетически обоснован. Выбор препарата, обладающего вазодилаторным действием – аргинина или сорбилакта, во многом зависит от характера нарушений водно-солевого обмена и гемодинамики, учитывая возможные системные эффекты этих фармапрепаратов.

Ключевые слова: белые крысы, сулемовая нефропатия, острая почечная недостаточность, фармакологическая коррекция.

ABSTRACT

The aim of the work was to follow the effectiveness of arginine for correction of acute renal insufficiency (ARI) at sublimate nephropathy and to determine the optimum combinations with other medicines. Experiments were carried out in 51 white male Wistar rats. The animals were kept on a low sodium diet (sodium content up to 50 mkmol/day). The function of the kidneys was investigated in rats of a control group and four groups of animals with ARI caused by subcutaneous injection of corrosive sublimate (5 mg/kg of body mass in isotonic solution) in 24 hours after injection (oliguria period) under conditions of water diuresis. Corrosive sublimate, arginine chloride, arginine and preductal were injected to the 4 groups of rats intraperitoneally (5 mg/kg); arginine chloride and hyperosmolar infusion solution sorbilact. It was shown that the proposed approach is perspective for treatment of kidneys affected by sublimate and most likely of all other toxic nephropathies since it is pathogenetically substantiated. Choice of the medicine possessing a vasodilatation effect - arginine or sorbilact - mainly depends on the character of disorders of the water-salt metabolism and hemodynamics.

Key words: white rats, sublimate nephropathy, pharmacological correction of ARI.

ВВЕДЕНИЕ

В патогенезе сулемовой нефропатии важная роль принадлежит первичному повреждению проксимальных канальцев с последующим снижением почечного кровотока и клубочковой фильтрации пропорциональными степени угнетения реабсорбции в канальцах и развитием в конечном итоге острой почечной недостаточности (ОПН) [1]. Разработка патогенетически обоснованной терапии ОПН строится, как правило, на основе восстановления, в первую очередь, почечного кровотока и фильтрации [2]. Соответственно, при этом снижается не только степень ретенционной азотемии, но и улучшается кислородное обеспечение почечной паренхимы. Однако этим не исчерпываются способы нормализации функционального состояния канальцев, в связи с чем применяют мембранопротекторы, энергопротекторы, антиоксиданты и ряд других препаратов. В после-

дние годы активно изучается роль оксида азота в регуляции тонуса сосудов, в том числе и почечных, где он выступает как один из основных сосудорасширяющих медиаторов [4]. Предполагают, что регуляция синтеза NO может способствовать восстановлению почечного кровотока, фильтрации при нефропатии и, в целом, гомеостатических почечных функций. Однако ранее нами показано, что при сулемовой нефропатии восстановление в почках кровотока и фильтрации при применении гиперосмолярного раствора сорбилакта не сопровождается адекватным улучшением канальцевых процессов и лишь только дополнительное введение энергопротектора предуктала значительно повышает реабсорбционные возможности канальцев [3]. Вместе с тем эти данные не позволяют утверждать, что описанные ренальные эффекты отражают принципиальную общую закономерность, а могут быть лишь отражением специфич-

Таблица 1

Схема эксперимента с использованием аргинина, предуктала и сорбилакта для лечения ОПН

Подопытные группы	Время введения препаратов, водной нагрузки и забоя животных		
	0 часов	+12 часов	+24 часа
Контрольная группа			Водная нагрузка, и забой через 2 часа
Аргинин, 1-я группа	Аргинин 300 мг/кг в/б, водная нагрузка, забой через 2 часа	-	-
Сулема+аргинин, 2-я группа	Сулема 5 мг/кг в/м		Аргинин 300 мг/кг в/б, водная нагрузка, забой через 2 часа
Сулема+аргинин через 24 часа+предуктал через 12 и 24 часа, 3-я группа	Сулема мг/кг в/м	Предуктал 5 мг/кг в/б	Аргинин 300 мг/кг+предуктал 5 мг/кг в/б, водная нагрузка, забой через 2 часа
Сулема+аргинин+сорбилакт через 12 и 24 часа, 4-я группа	Сулема 5 мг/кг в/м	Сорбилакт 5 мл/кг в/б	Аргинин 300 мг/кг+сорбилакт 5 мл/кг в/б, водная нагрузка, забой через 2 часа

ческих свойств используемых веществ. С целью уточнения наших предположений и выяснения возможности применения аргинина для коррекции ОПН при сулемовой нефропатии и определения оптимальных сочетаний с другими фармпрепаратами выполнена настоящая работа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Опыты проведены на 51 белой крысе-самце линии Вистар. Животные содержались на низконатриевом рационе питания (содержание натрия до 50 мкмоль/сутки). У крыс контрольной группы и четырех групп животных с ОПН, вызванной п/к введением сулемы (5 мг/кг массы тела на изотоническом растворе), через 24 часа после введения (период олигурии) изучена функция почек в условиях водного диуреза (5% от массы тела отстоявшейся водопроводной воды металлическим зондом вводили в желудок). Мочу собирали в обменных клетках в течение двух часов. Крысам четырех подопытных групп вводили сулему, аргинин хлорид, аргинин и предуктал 5 мг/кг внутривентриально, аргинин хлорид и сорбилакт (табл. 1). В опытах использовали L-аргинингидрохлорид (Clintec, Германия), предуктал (Servier, Франция), гиперосмолярный инфузионный раствор сорбилакта, в состав которого входит сорбитол (200 г/л), лактат натрия (281 г/л), натрия хлорид (6 г/л), кальция хлорид (0,1 г/л), магния хлорид (0,2 г/л), осмолярность — 1400 мосмоль/л (Львовский филиал Киевского НИИ гематологии и переливания крови, Украина). Определяли величину диуреза, осмолярность мочи криоскопически на осмометре 3D3, измеряли pH мочи. В моче определяли концентрации белка по реакции с сульфосалициловой кислотой, креатинина по реакции с пикриновой кислотой, аммония фотометрически на

СФ-46, натрия и калия методом фотометрии пламени на пламенном фотометре ФПА-2, а также концентрацию титруемых кислот, рассчитывали экскреции данных веществ. В плазме крови определяли концентрации креатинина, натрия и калия, рассчитывали клиренс указанных веществ, фильтрационный заряд и фракционную экскрецию натрия, реабсорбцию воды и натрия (абсолютную и относительную) и клиренс безнатриевой воды.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Введение сулемы через 24 часа приводит к развитию олигурического периода ОПН, о чем свидетельствует снижение диуреза во всех четырех группах, по сравнению с контролем, а также увеличение экскреций изучаемых веществ, особенно при перерасчете на 100 мкл/Ссг (табл. 2, 3). При этом ведущими звеньями патогенеза являются резкое снижение клубочковой фильтрации, судя по динамике клиренса креатинина с развитием ретенционной азотемии, о чем свидетельствует гиперкреатинемия. Вторым основным нарушением является повреждение канальцевого отдела нефрона (протеинурия) с угнетением реабсорбции натрия: увеличение концентрации и экскреции натрия на фоне пятикратного уменьшения фильтрационного заряда вследствие снижения особенно относительной реабсорбции этого катиона (см. табл.3). Введение аргинина здоровым крысам практически не влияло на функциональное состояние почек, но аргинин оказывал определенное влияние на функцию почек при сулемовой нефропатии, однако его действие, в первую очередь, связано с незначительным повышением клубочковой фильтрации до 120 ± 29 мкл/мин, следствием чего является снижение азотемии, судя по достоверному уменьшению концентрации креатинина в плазме крови до 156 ± 21 мкмоль/л. Следует отметить, что при этом уменьшалась протеинурия до $0,17 \pm 0,03$ мг/2, хотя выделение белка действующими нефронами по-прежнему оставалось значительно повышенным — $0,21 \pm 0,05$ мг/100 мкл фильтрата. При этом почечные потери натрия даже возросли: за

Таблица 2

Функция почек белых крыс через 24 часа после введения сулемы, сулемы с аргинином, предукталом и сорбилактом в условиях водного диуреза ($\bar{X} \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль n=14	Сулема 1-я группа, n=10	Сулема+аргинин, 2-я группа, n=9	Сулема+аргинин+пре- дуктал, 3-я группа, n=9	Сулема+аргинин+сор- билакт, 4-я группа, n=9
Диурез, мл/2 ч	4,13±0,13	1,40±0,16 p<0,001	1,49±0,12 p<0,001	2,27±0,20 p<0,001; p ₂ <0,01	1,59±0,12 p<0,001; p ₃ <0,02
Концентрация креатинина в плазме, мкмоль/л	65,14±1,35	262,14±14,13 p<0,001	155,70±20,51 p<0,001; p ₁ <0,05	96,17±10,52 p<0,05; p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	149,86±3,43 p<0,001; p ₁ <0,001 p ₃ <0,001
Концентрационный индекс креатинина, ед.	12,16±0,56	6,76±0,35 p<0,001	9,09±1,61	12,11±1,08	7,28±0,32 p<0,001; p ₃ <0,001
Клиренс креатинина, мкл/мин	415,88±14,97	78,75±10,58 p<0,001	120,01±29,16 p<0,05	233,92±37,12 p<0,001; p ₁ <0,01 p ₂ <0,05	95,54±5,94 p<0,001; p ₂ <0,01 p ₃ <0,05
Реабсорбция воды, %	91,67±0,39	84,96±0,82 p<0,001	86,51±1,70 p<0,01	91,39±0,79 p<0,001	86,13±0,57 p<0,001; p ₃ <0,02
Концентрация белка в моче, мг/л	0,034±0,002	0,44±0,04 p<0,001	0,12±0,02 p<0,001; p ₁ <0,001	0,06±0,008 p<0,001 p ₂ <0,001	0,13±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001; p ₃ <0,001
Экскреция белка, мг/2 ч	0,14±0,01	0,62±0,09 p<0,001	0,17±0,03 p ₁ <0,001	0,14±0,01 p ₁ <0,001	0,22±0,03 p ₁ <0,01; p ₃ <0,05
Экскреция белка, мг/100 мкл Ccr	0,034±0,003	0,78±0,06 p<0,001	0,21±0,05 p<0,01; p ₁ <0,01	0,07±0,01 p<0,01; p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,23±0,03 p<0,001; p ₁ <0,001 p ₃ <0,001
Концентрация калия в моче, ммоль/л	5,64±0,60	14,36±0,69 p<0,001	38,05±2,51 p<0,001 p ₁ <0,001	12,08±1,37 p<0,001; p ₂ <0,001	6,33±0,93 p ₁ <0,001; p ₂ <0,001 p ₃ <0,01
Экскреция калия, ммоль/л	23,25±2,61	20,54±3,32	57,24±6,56 p<0,001; p ₁ <0,001	26,49±1,95 p ₂ <0,001	25,93±3,97 p ₃ <0,001
Соотношение натрия и калия в моче, ед.	0,08±0,01	0,18±0,03 p<0,01	0,03±0,02 p<0,05 p ₁ <0,05	0,10±0,01 p ₁ <0,05 p ₂ <0,01	0,16±0,01 p<0,001; p ₂ <0,001 p ₃ <0,001

p – показатель достоверности отличий в сравнении с контролем; p_{1,3} – показатель достоверности отличий в сравнении с соответствующей группой; n – число наблюдений.

счет повышения фильтрационного заряда на фоне снижения относительной реабсорбции до 99,55±0,06%. Повышалось также выделение калия, в еще большей степени возрастало выделение кислот, аммиака. Полученные данные дают основание утверждать, что введение аргинина может индуцировать образование оксида азота в сосудах клубочка, вызывая их вазодилатацию и повышая клубочковую фильтрацию. Действие аргинина на канальцевые процессы практически отсутствует, за исключением уменьшения протеинурии. Возрастание потерь натрия и калия в этих условиях, скорее всего, есть результат функциональной перегрузки из-за увеличения фильтрационных зарядов натрия и калия. Следовательно, при сулемовой нефропатии L-аргинингидрохлорид, обладая определенными, скорее всего сосудистыми, позитивными эффектами, все же не может рассматриваться как препарат, пригодный для патогенетической монотерапии. В поисках препаратов и лекарственных средств, пригодных для использования в комплексной терапии экспериментальной нефротоксической ОПН совместно с аргинином, мы обратили внимание на гиперосмолярный препарат нового поколения, сорбилакт и мембранопротектор

предуктал, комбинация которых дает высокий терапевтический эффект [4]. В пятой серии изучено совместное влияние аргинина и сорбилакта на функцию почек в олигурический период ОПН при сулемовой нефропатии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Аргинин и сорбилакт обладают близким по эффекту механизмом воздействия на почки, в основе которого находится вазодилатация. Установлено, что при совместном применении они практически не усиливают действие друг друга – азотемия равна таковой при введении аргинина, фильтрация даже несколько снижается (см. табл.2). По большинству остальных показателей, особенно по транспорту натрия (см. табл. 3), данные идентичные, аналогично и по калийурезу (см. табл. 2, 3). Полученные результаты позволили нам высказать предположение о том, что при отсутствии канальцевой протекции дальнейшее увеличение фильтрации нецелесообразно и даже невозможно.

Совсем иная реакция почек при сулемовой нефропатии наблюдалась после совместного введения аргинина и предуктала. Последний обладает энергопротективным действием на уровне канальцев.

Таблица 3

Почечный транспорт у белых крыс через 24 часа после введения сулемы, сулемы с аргинином, предукталом и сорбилактом в условиях водного диуреза ($\bar{X} \pm m$)

Изучаемые показатели	Контроль n = 14	Сулема 1-я группа n = 10	Сулема+аргинин, 2-я группа, n = 9	Сулема+аргинин+пре- дуктал, 3-я группа, n = 9	Сулема+аргинин+сор- билакт, 4-я группа, n = 9
Концентрация натрия в моче, ммоль/л	0,41±0,05	2,47±0,37 p<0,001	4,24±0,20 p<0,001; p ₁ <0,001	1,14±0,07 p<0,001; p ₁ <0,01; p ₂ <0,001	3,96±0,49 p<0,001; p ₁ <0,01; p ₃ <0,01
Экскреция натрия мкмоль/2 ч	1,70±0,21	3,48±0,69 p<0,001	6,24±0,52 p<0,001; p ₁ <0,01	2,55±0,16 p<0,001	6,33±0,93 p<0,001; p ₃ <0,01
Экскреция натрия/100 мкл Ссг	0,42±0,07	4,53±0,76 p<0,001	6,83±0,89 p<0,001	1,17±0,11 p<0,001; p ₁ <0,001; p ₂ <0,001	6,47±0,73 p<0,001; p ₃ <0,001
Концентрация натрия в плазме, ммоль/л	143,57±1,96	129,64±0,65 p<0,001	126,25±2,56 p<0,01	136,25±1,78 p ₁ <0,01; p ₂ <0,01	128,93±1,20 p<0,001; p ₃ <0,01
Фильтрационный заряд натрия, мкмоль/мин	59,77±2,62	10,22±1,39 p<0,001	15,45±4,02 p<0,05	31,81±4,97 p<0,001; p ₁ <0,001	12,28±0,67 p<0,001; p ₁ <0,05
Экскретируемая фракция натрия, мкмоль/мин	0,014±0,002	0,03±0,005 p<0,05	0,05±0,004 p<0,001; p ₁ <0,01	0,02±0,001 p<0,05; p ₁ <0,001; p ₂ <0,001	0,05±0,008 p<0,001; p ₁ <0,001 p ₂ <0,001; p ₃ <0,01
Абсолютная реабсорбция натрия, мкмоль/мин	59,77±2,62	10,19±1,39 p<0,001	15,39±4,02 p<0,01	31,79±4,98 p<0,001; p ₁ <0,001	12,23±0,67 p<0,001; p ₁ <0,001
Относительная реабсорбция натрия, %	99,98±0,01	99,71±0,05 p<0,001	99,55±0,06 p<0,01; p ₁ <0,05	99,93±0,02 p<0,05; p ₁ <0,001; p ₂ <0,001	99,58±0,05 p<0,01; p ₂ <0,001
Клиренс натрия, мл/2 ч	0,012±0,001	0,03±0,005 p<0,02	0,05±0,004 p<0,001; p ₁ <0,01	0,02±0,001 p<0,05; p ₁ <0,01; p ₂ <0,001	0,05±0,008 p<0,001; p ₁ <0,05; p ₃ <0,05
Концентрационный индекс натрия, ед.	0,003±0,0004	0,02±0,002 p<0,001	0,03±0,001 p<0,001; p ₁ <0,001	0,008±0,001 p<0,001; p ₁ <0,001; p ₂ <0,001	0,03±0,004 p<0,001; p ₃ <0,01
Клиренс безнатриевой воды, мл/2 ч	4,11±0,13	1,37±0,16 p<0,001	1,44±0,11 p<0,01	2,26±0,20 p<0,001; p ₁ <0,01; p ₂ <0,05	1,54±0,11 p<0,001; p ₃ <0,05

p – показатель достоверности отличий в сравнении с контролем; p_{1,3} – показатель достоверности отличий в сравнении с соответствующей группой; n – число наблюдений.

Диурез достоверно возростал, по сравнению с остальными группами, хотя и не до нормы (см. табл. 2). В три раза повышалась фильтрация, а уровень креатинина в плазме крови снижался почти до нормы. Уменьшались протеинурия, экскреция натрия (см. табл. 3). Причем резкое уменьшение выделения натрия происходило на фоне трехкратного увеличения заряда этого катиона за счет увеличения как абсолютной, так и относительной реабсорбции. В результате этого уменьшается клиренс натрия, возрастает клиренс безнатриевой воды, нормализуется соотношение натрия и калия в моче (см. табл. 3). Таким образом, в основе значимого улучшения функции почек находились совместное увеличение фильтрации и нормализация канальцевого транспорта воды и натрия.

Следовательно, ранее обнаруженное явление наиболее благоприятного нефропротекторного действия при сулемовой нефропатии совместного применения вазодилаторов и энергопротекторов полностью подтвердилось при исследовании эффектов аргинина и предуктала. Важно отметить, что энергопротекция не только способствует нормализации канальцевого транспорта, но и повышает степень вазодилатации под действием аргинина. Это объясняется тем, что к прямому эффекту NO на приносящую артериолу присоединяется уменьшение канальцево-клубочковой

отрицательной обратной связи, реализуемой через внутрипочечную ренин-ангиотензиновую систему.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предлагаемый подход к терапии почечных повреждений при сулемовой, а скорее всего и других токсических видов нефропатии является перспективным, т. к. он наиболее патогенетически обоснован. Выбор препарата, обладающего вазодилаторным действием, – аргинина или сорбилакта – во многом зависит от характера нарушений водно-солевого обмена и гемодинамики, учитывая возможные системные эффекты этих фармпрепаратов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Гоженко А.И. Энергетическое обеспечение основных почечных функций и процессов в норме и при повреждении почек: Автореф. дис... д-ра мед. наук.-Киев, 1987.-38 с.
2. Гоженко А.И. Состояние кровотока в корковом веществе почек при нефротоксической форме острой почечной недостаточности// Кровообращение.-1986.-Т.19, №3.-С.57-59.
4. Гоженко А.И., Федорук А.С. Влияние предуктала на развитие и течение острой почечной недостаточности//Нефрология.-2000.-Т.4, №1.-С.67-71.
3. Freedman B.I., Yu H., Anderson P.J. et al. Genetic analysis of nitric oxide and endothelin in end-stage renal disease// Nephrol.Dial.Transplant.-2000.-Vol.15, N11.-P.1794-1800.

Поступила в редакцию 19.05.2002 г.