

© Ю.В.Наточин, А.В.Кутина, 2009
УДК 616.63:616.61

Ю.В. Наточин¹, А.В. Кутина¹

НОВЫЙ ПОДХОД К ИНТЕГРАТИВНОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ХАРАКТЕРИСТИКЕ ПОЧЕК ПРИ РАЗНЫХ ТИПАХ ДИУРЕЗА

Yu. V. Natochin, A. V. Kutina

NOVEL APPROACH TO INTEGRATIVE RENAL FUNCTIONAL CHARACTERISTICS IN VARIOUS TYPES OF DIURESIS

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

РЕФЕРАТ

Разработка метода и оценка влияния изменений функции канальцев нефрона на завершающий этап мочеобразования в собирательных трубках имеет важное теоретическое и практическое значение. В опытах на самках крыс линии Вистар исследованы особенности мочеобразования при водном диурезе (пероральная водная нагрузка 5 мл/100 г массы), при салурезе (фуросемид 1,0 мг/100 г веса в/м, 1-дезамино-аргинин-вазотонин (1д-АВТ) 0,05 мкг/100 г веса в/м) и осмотическом диурезе (в/в 0,75 мл/100 г массы 40% раствора полиэтиленгликоля-400 (ПЭГ)). В моче и сыворотке крови осмоляльность определяли криоскопическим методом, концентрацию ионов Na⁺ и K⁺ методом пламенной фотометрии, Mg²⁺ и Ca²⁺ – атомной абсорбционной спектрофотометрии. Во всех случаях, кроме водного диуреза, прирост мочеотделения был обусловлен увеличением экскреции осмотически активных веществ, а при введении ПЭГ и 1д-АВТ сопровождался ростом реабсорбции осмотически свободной воды. Расчет отношения клиренса осмотически свободной воды ($T_{H_2O}^c$) к клиренсу осмотически активных веществ (C_{Osm}) выявил сходство значений после введения 1д-АВТ и ПЭГ (0,55±0,09 и 0,49±0,09, соответственно), в отличие от введения фуросемида (-0,03±0,04), который снижал реабсорбцию осмотически свободной воды. Полученные результаты показали, что при салурезе и осмотическом диурезе объем реабсорбированной осмотически свободной воды зависит от скорости потока жидкости по собирательной трубке на фоне высокой осмотической проницаемости ее стенки, напротив, фуросемид снижает осмотическую проницаемость и реабсорбцию осмотически свободной воды. Таким образом, характеристика функции почек при различных формах диуреза с использованием нового подхода – расчета $T_{H_2O}^c/C_{Osm}$ – позволяет получить целостное представление о процессах, происходящих в мозговом веществе почки и зависимых от состояния системы осмотического концентрирования мочи.

Ключевые слова: водный диурез, салурез, осмотический диурез, антидиурез, клиренс осмотически активных веществ, осмотически свободная вода.

ABSTRACT

The elaboration of a method and evaluation of the influence of changes in the function of nephron on the final phase of urine formation in collecting ducts is of great theoretical and practical importance. In experiments performed in female Wistar rats the features of urine formation in water diuresis were studied (peroral water load of 5 ml/100 g body weight), in saluresis (furosemide 1.0 mg/100 g body weight i/m, 1-deamino-arginine vasotocin (1d-AVT) 0.05 µg/100 g body weight i/m), and in osmotic diuresis (i/v 0.75 ml/100 g body weight of 40% polyethylene glycol-400 (PEG) solution). Urine and blood serum osmolality was determined by cryoscopic method, Na⁺ and K⁺ concentration – by flame photometry, Mg²⁺ and Ca²⁺ concentration – by atomic absorption spectrometry. In all cases, except ones with water diuresis, polyuria was caused by increased excretion of osmotic-active substances and was accompanied by a rise of reabsorption of free water after PEG and 1d-AVT administration. Calculation of the ratio of the solute-free water clearance ($T_{H_2O}^c$) and osmotic clearance (C_{Osm}) has revealed the similarity of values following 1d-AVT and PEG administration (0.55±0.09 and 0.49±0.09, respectively), in contrast to furosemide injection (-0.03±0.04) that decreased free water reabsorption. The data obtained show that in saluresis and osmotic diuresis the volume of the reabsorbed free water depends on the rate of the fluid flow into the collecting duct against a background of high osmotic permeability of its wall. On the contrary, furosemide reduces osmotic permeability and free water reabsorption. Thus, characteristics of renal function in various forms of diuresis and the use of new approach in calculation of $T_{H_2O}^c/C_{Osm}$ allow to provide complete conception of the processes in renal medulla depending on the state of the system of urine osmotic concentration.

Key words: water diuresis, saluresis, osmotic diuresis, antidiuresis, solute clearance, solute-free water.

Увеличение мочеотделения во многом зависит не столько от изменения гломерулярной фильтрации, сколько от состояния систем реабсорбции [1]. У человека и млекопитающих животных обычно

клубочковая фильтрация стабилизирована [2], а объем выделяемой мочи определяется интенсивностью реабсорбции воды и ионов. В большинстве случаев всасывание воды регулируется осмотической проницаемостью стенки собирательных трубок, зависимой от вазопрессина [3]. Другим фак-

Наточин Ю.В. 194223 Санкт-Петербург, пр. М. Тореза, д.44, ИЭФБ РАН, р.т., факс (812) 552-30-86, E-mail: natochin@iephb.ru

тором, влияющим на объем выделяемой жидкости, служит количество экскретируемых осмотически активных веществ и связанной с ними воды. В условиях патологии увеличение мочеотделения может определяться повышением выделения глюкозы, аминокислот, ионов, а при ряде форм лекарственной терапии (прием диуретиков) за счет уменьшения реабсорбции ионов [4–6].

Физиологический анализ разных типов увеличения мочеотделения позволил предложить их новую классификацию, которая включает 4 формы: водный диурез, осмотический диурез, салурез и антидиурез [7]. В основе осмотического диуреза лежит снижение реабсорбции осмотически активных веществ в проксимальном сегменте нефрона. Механизм салуреза основан на уменьшении реабсорбции ионов в дистальном сегменте нефрона и собирательных трубках [8], антидиурез характеризуется интенсивной реабсорбцией осмотически свободной воды.

Увеличение мочеотделения при возрастании экскреции осмотически активных веществ (органических или неорганических) и воды может сопровождаться кажущимся парадоксом – усилением реабсорбции осмотически свободной воды [8]. Это обусловлено сочетанием ряда физиологических процессов – изменением 1) осмотической проницаемости стенки канальцев, 2) транспорта ионов, 3) работы противоточно-поворотной множительной системы. Объем реабсорбируемой в собирательных трубках воды, в конечном счете, будет определяться четырьмя факторами – объемом протекающей по ним жидкости, осмотическим градиентом между внутри- и околоканальцевой жидкостью, осмотической проницаемостью эпителия канальца, всасыванием мочевины и ионов. В состоянии салуреза и осмотического диуреза воду в просвете собирательной трубки удерживают осмотически активные вещества. Представляет интерес не только дать описание разных форм диуреза, его причин, но и количественно оценить соотношение между потоком жидкости с растворенными в ней веществами и всасыванием из нее воды в этой многокомпонентной и многофакторной системе. В связи с этим задача нашей работы заключалась в том, чтобы разработать критерии оценки и проанализировать соотношение между суммарной величиной поступающих в конечные отделы канальцев осмотически активных веществ и реабсорбцией воды в собирательных трубках.

Для достижения заявленной цели мы выполнили эксперименты на самках крыс линии Вистар с массой тела 150–220 г. Проведено 5 серий опытов: 1) пероральное введение ненаркотизированным

крысам через зонд в желудок 5 мл воды ($n=22$), 2) внутримышечная инъекция 0,1 мл 1% раствора фуросемида ($n=20$), 3) внутривенная инфузия 0,75 мл 40% раствора полиэтиленгликоля-400 (ПЭГ) крысам под нембуталовым наркозом (0,6 мл смеси 0,75% раствора нембутала и 0,37% раствора хлоралозы внутривенно) ($n=7$), 4) внутримышечная инъекция 0,05 мкг 1-дезамино-аргинин-вазотонина (1д-АВТ) ($n=20$) и 5) контроль (животные из вивария, $n=20$). Дозы вводимых препаратов приведены на 100 г массы тела животных. Крысы помещались в клетки-пеналы с проволочным полом и конусовидным сужением. Выделение мочи регистрировали в течение 4 ч при спонтанном мочеотделении. Кровь брали по окончании эксперимента из сонной артерии под эфирным наркозом. Протокол исследований на белых крысах одобрен этическим комитетом Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН.

Осмоляльность сыворотки крови и мочи определяли криоскопическим методом на микроосмометре 3300 (Advanced Instruments, Inc., США), концентрацию креатинина – кинетическим методом по реакции Яффе на автоматическом биохимическом анализаторе EOS Bravo W (Италия), концентрацию ионов магния и кальция – в воздушно-ацетиленовом пламени на атомном абсорбционном спектрофотометре Hitachi-508 (Япония), концентрацию ионов натрия и калия – на пламенном фотометре Corning-410 (Великобритания) в воздушно-пропановом пламени.

Статистическая обработка осуществлялась с использованием программы Statistica 6. Различия показателей по отношению к контролю оценивались по тесту ANOVA Крускала–Уоллиса и критерию Данна для множественных сравнений [9], различие $p<0,05$ рассматривалось как статистически значимое.

Синтез аналога вазотонина 1д-АВТ был выполнен ЗАО «Синтез пептидов» [10]. Использован ПЭГ (фирма Shuchardt, Германия) и фуросемид («Лазикс», Авентис Фарма, Индия). Для определения креатинина на автоматическом анализаторе применяли реактивы фирмы Randox, при фотометрии и спектрофотометрии применяли стандарты фирмы Aldrich Chemical Company Inc., США.

В контрольном периоде мочеотделение у крыс составило $3,0\pm 0,6$ мкл/мин/100 г массы тела. В условиях примененных воздействий отличалась динамика изменения диуреза и экскреции различных веществ. После введения в желудок воды мочеотделение увеличилось в 20,8 раза и максимальных значений достигло через 60–90 мин, а затем постепенно снизилось (рис. 1). В опытах с инъекцией 1,0 мг/100 г массы тела фуросемида мак-

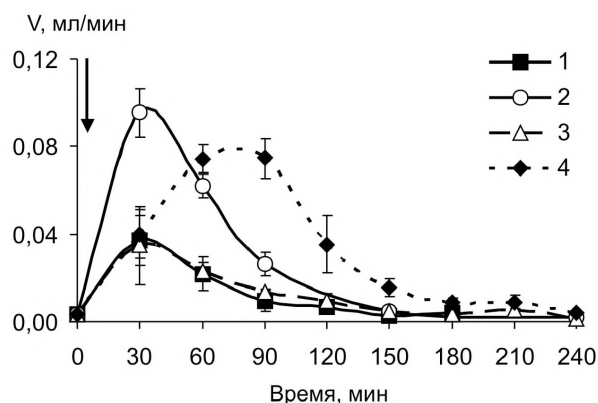


Рис. 1. Динамика диуреза (V) после введения крысам водной нагрузки, инъекции фуросемида, 1д-АВТ или инфузии ПЭГ.

На всех рисунках: (1) – в/в инфузия 40% раствора ПЭГ 0,75 мл/100 г массы, (2) – в/м инъекция фуросемида 1 мг/100 г массы, (3) – в/м инъекция 1д-АВТ 0,05 мкг/100 г массы, (4) – введение воды в объеме 5 мл/100 г массы в желудок. Стрелкой показан момент введения препаратов. Показатели функции почек рассчитаны на 100 г массы тела.

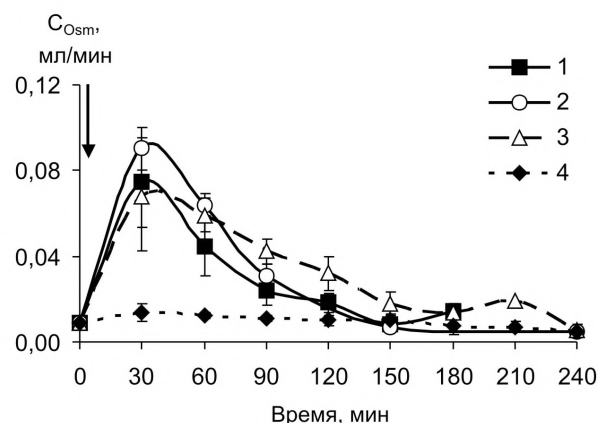


Рис. 2. Клиренс осмотически активных веществ ($C_{Осм}$) у крыс при разных типах диуреза.

симум диуреза отмечен через 30 мин, он превышал по значению скорость экскреции мочи при водном диурезе, но затем весьма быстро снижался (см. рис. 1). В течение первых 30 мин эксперимента выявлены наиболее высокие, весьма близкие значения пика диуреза после инъекции 1д-АВТ и ПЭГ, после чего мочеотделение снижалось, и вос-

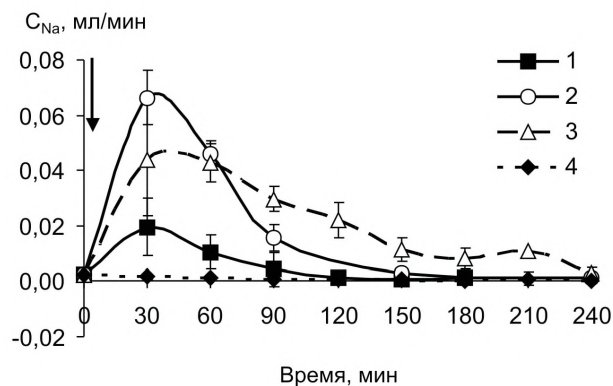


Рис. 3. Клиренс ионов натрия (C_{Na}) у крыс при разных типах диуреза.

становление исходных низких величин происходило через 90 мин после инъекции аналога гормона или инфузии осмотического диуретика (см. рис. 1).

Качественные и количественные отличия мочеотделения характерны для перечисленных типов диуреза. При водной нагрузке клиренс осмотически активных веществ оставался на исходном уровне, в остальных трех случаях прирост мочеотделения был обусловлен увеличением экскреции осмотически активных веществ и осмотически связанной с ними воды (рис. 2). Обращает внимание, что на пике диуреза в первые 30 мин во всех этих случаях были довольно близкие значения осмольного очищения (см. рис. 2), хотя они были вызваны приростом экскреции разных веществ с мочой (таблица). Клиренс ионов натрия не менялся при водном диурезе, резко возрастал после инъекции фуросемида, 1д-АВТ, и в меньшей степени увеличивался после инфузии ПЭГ (рис. 3).

Резко отличалась реабсорбция осмотически свободной воды при исследованных типах диуреза. Полиурия после введения водной нагрузки сопровождалась отрицательным значением реабсорбции осмотически свободной воды, при всех остальных типах диуреза суммарная реабсорбция осмотически свободной воды в той или иной степени росла (рис. 4). При этом реабсорбция осмотически свободной воды зависела от экскреции осмотически активных веществ при осмотическом диурезе и салурезе, вызванном 1д-АВТ (рис. 5).

Представляло интерес выяснить, в какой степени рост реабсорбции воды определяется повышением объема протекающей по собирательным трубкам жидкости. Для ответа на этот вопрос было сопоставлено изменение клиренса осмотически свободной

Экскреция катионов и клиренс креатинина при разных типах диуреза у крыс

Показатели	Контроль (n=20)	ПЭГ (n=7)	1д-АВТ (n=20)	Фуросемид (n=20)	Водная нагрузка (n=22)
$U_{Na} V^{2h}$, мкмоль	20±13	93±47*	405±101*	406±79*	15±9
$U_K V^{2h}$, мкмоль	25±15	30±15	136±27*	178±97*	42±16
$U_{Mg} V^{2h}$, мкмоль	1,9±1,7	4,7±0,4*	4,6±1,8*	9,2±1,5*	3,6±1,4
$U_{Ca} V^{2h}$, мкмоль	0,20±0,39	0,44±0,27	1,83±1,20*	3,69±0,82*	0,31±0,23
C_{Cr} , мл/мин	0,27±0,13	0,24±0,03	0,26±0,09	0,20±0,08	0,24±0,05

Примечание: $U_x V^{2h}$ – суммарная экскреция катионов (натрия, калия, магния или кальция) за 2 ч эксперимента, C_{Cr} – клиренс креатинина. Все показатели рассчитаны на 100 г массы тела животного; n – число животных в серии; данные представлены в виде среднее ± стандартное отклонение. * – значимость различий по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

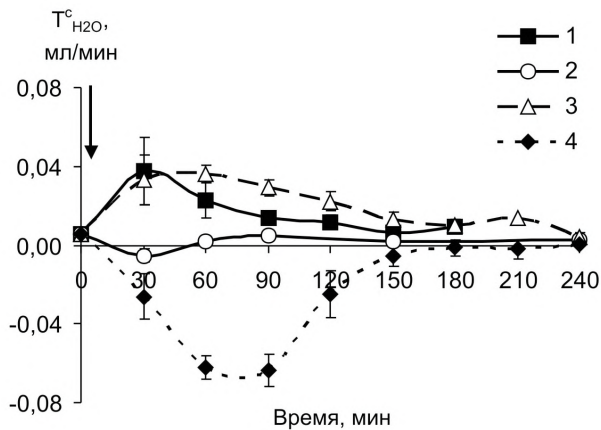


Рис. 4. Динамика реабсорбции осмотически свободной воды ($T^c_{H_2O}$) при разных типах диуреза.

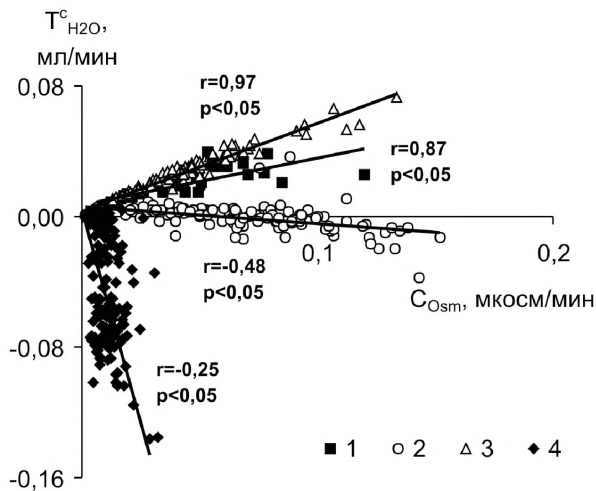


Рис. 5. Зависимость между реабсорбцией осмотически свободной воды ($T^c_{H_2O}$) и клиренсом осмотически активных веществ (C_{Osm}) при разных типах диуреза.

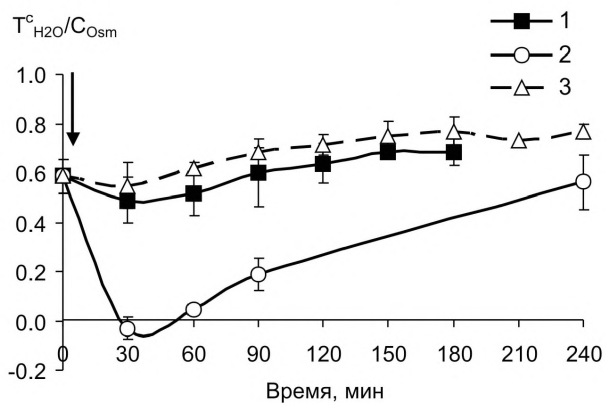


Рис. 6. Динамика реабсорбции осмотически свободной воды по отношению к клиренсу осмотически активных веществ ($T^c_{H_2O}/C_{Osm}$) при салурезе и осмотическом диурезе.

воды по отношению к клиренсу осмотически активных веществ – $T^c_{H_2O}/C_{Osm}$ (рис. 6). Полученные результаты показали, что имеется большое сходство этой величины после введения 1д-АВТ и ПЭГ, в опытах же с фуросемидом картина резко отличалась (см. рис. 6).

Оценка состояния почек при разных формах диуреза (водный, осмотический, салурез) включа-

ет динамику мочеотделения, суммарную экскрецию осмотически активных веществ, выделение отдельных ионов, реабсорбцию осмотически свободной воды. Для глубокого физиологического подхода к функциональной оценке состояния почек необходимо не только рассмотреть особенности каждого из перечисленных процессов, но и проанализировать соотношение между перечисленными выше одновременно происходящими процессами. Изменение функции почек характеризуется особенностями динамики экскреции ионов натрия, калия, других осмотически активных веществ, экскретируемой фракции этих ионов, реабсорбции осмотически свободной воды. Однако, если прирост диуреза связан не с уменьшением проницаемости для воды, а вызван увеличением клиренса осмотически активных веществ, то складываются разные условия в просвете различных отделов канальца при протекании по ним жидкости с характерным для данных условий составом. Скорость движения по канальцу первичной мочи, скорость кровотока по прямым сосудам, создание (и разрушение) градиента концентрации осмотически активных веществ в мозговом веществе почки будут проявляться по-разному в динамике различных типов диуреза. Использование существующих клиренсовых формул не позволяет дать ответ на вопрос о сути складывающейся в почке ситуации, поскольку одновременно меняются несколько параметров, не входящих в каждую из существующих формул. Поэтому в нашем исследовании предложена еще одна, новая форма расчета, при которой учитывается объем протекающей по канальцу жидкости с растворенными в ней осмотически активными веществами, скорость потока жидкости, градиент концентрации между внутриканальцевым содержимым и околоканальцевой жидкостью, проницаемость собирательных трубок для воды. Расчет основан на сопоставлении объема реабсорбированной осмотически свободной воды на единицу осмоляльного очищения: $T^c_{H_2O}/C_{Osm}$ в динамике диуреза, вызванного различными факторами. Этот подход был использован нами, чтобы дать оценку процессов, происходящих в мозговом и корковом веществе почки при движении жидкости по собирательным трубкам на заключительном этапе образования вторичной мочи.

Эти расчеты нашли наглядное воплощение в данных, приведенных на рис. 6, особенно при сопоставлении результатов исследований, представленных на рис. 1 и 6. В первом случае видны качественные и количественные отличия объема выделяемой мочи при разных формах диуреза, во втором случае, очевидно, что инъекция 1д-АВТ или

инфузия ПЭГ дает очень сходную картину. Иными словами, при салурезе и осмотическом диурезе объем реабсорбированной осмотически свободной воды зависит от скорости потока жидкости по собирательной трубке, когда стабильно поддерживается высокая осмотическая проницаемость ее стенки либо благодаря инъекции аналога антидиуретического гормона (1д-АВТ), либо при усилении секреции вазопрессина гипофизом из-за повышения осмоляльности крови в опытах с инфузией ПЭГ.

Принципиально иная картина наблюдается в опытах при введении водной нагрузки или инъекции фуросемида – отношение $T_{H_2O}^c/C_{Osm}$ резко снижается. Следует найти объяснение наблюдаемой реакции и ее временной динамики. После водной нагрузки сохраняется на стабильном уровне осмоляльное очищение, но падает секреция вазопрессина и возрастает экскреция осмотически свободной воды. После введения фуросемида по сравнению с другими формами опыта максимально высоких значений достигают диурез (см. рис. 1), очищение от осмотически активных веществ (см. рис. 2) и клиренс натрия (см. рис. 3), следовательно, возрастают объем изоосмотической жидкости и количество осмотически активных веществ, поступающих в собирательные трубки. По меньшей мере, их количество не ниже, чем в опытах с 1д-АВТ или ПЭГ. Тем самым снижение частного в формуле $T_{H_2O}^c/C_{Osm}$ определяется не изменением знаменателя, а резким уменьшением величины числителя. Это позволяет предположить, что в опытах с введением фуросемида наблюдаются качественные изменения в состоянии почки по реабсорбции осмотически свободной воды. Применение предлагаемой новой формулы, нового способа расчета может иметь значение для клинического анализа ситуаций с предполагаемым изменением этих процессов в почке в условиях конкретных форм патологии и поиска адекватных вариантов коррекции и терапии.

Возникает вопрос о клиническом значении соотношения осмотического диуреза (или салуреза) и реабсорбции осмотически свободной воды на фоне высокой концентрации антидиуретического гормона в крови. Очевидно, что такого рода расчеты позволяют дать оценку взаимозависимости способности мозгового вещества почек к созданию осмотического градиента (известно, что оно нарушается при склерозировании почек, амилоидозе), способности клеток толстого восходящего отдела петли Генле и собирательных трубок реагировать на вазопрессин накоплением ионов и мочевины в мозговом веществе и увеличением осмотической проницаемости стенки канальца, адек-

ватным кровоснабжением мозгового слоя почки. Дефектность любого из перечисленных компонентов находит отражение в изменении картины в почке и сдвиге соотношения $T_{H_2O}^c/C_{Osm}$, а специфичность такой зависимости может определяться формой патологии почки и состоянием этих пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Раздельная характеристика функции почек при всех формах диуреза показала, что использование нового подхода с оценкой величины реабсорбции осмотически свободной воды ($T_{H_2O}^c$) в зависимости от значения осмоляльного очищения (C_{Osm}) – $T_{H_2O}^c/C_{Osm}$ – позволяет судить о процессах, происходящих в мозговом веществе почки и их зависимости от одновременного участия ряда систем почки. К ним относятся эффективность действия вазопрессина, состояние системы осмотического концентрирования мочи, уровень кровообращения в мозговом веществе почки. С помощью этого нового метода оценки были выявлены качественные отличия в состоянии почек в условиях осмотического диуреза и салуреза, вызванного фуросемидом, но не 1д-АВТ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 08-04-00610), программы «Ведущие научные школы» (проект НШ-4414.2008.4) и программы ОБН РАН.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Наточин ЮВ. Физиология почки. В: *Физиология водно-солевого обмена и почки (Основы современной физиологии)*. Наука, СПб., 1993; 202-416
2. Smith HW, ed. *The Kidney: Structure and function in health and disease*. Oxford University Press, New York, 1951; 1050
3. Лот К. *Основы физиологии почки*. Научный мир, М., 2005; 292
4. Brown D, Nielsen S. Cell biology of vasopressin action. In: *Brenner and Rector's The Kidney, 8th ed.* Saunders, Elsevier, Philadelphia, 2008; 1: 280-307
5. Ellison DH, Wilcox CS. Diuretics. In: *Brenner and Rector's The Kidney, 8th ed.* Saunders, Elsevier, Philadelphia, 2008; 2: 1646-1678
6. Okusa MD, Ellison DH. Physiology and pathophysiology of diuretic action. In: *Seldin and Giebisch's The Kidney. Physiology and pathophysiology*. Elsevier, Amsterdam, 2008; 1: 1051-1094
7. Боголепова АЕ, Наточин ЮВ. Физиологический анализ функций почки при различных типах диуреза. *Нефрология* 2005; 9 (2): 9-15
8. Наточин ЮВ. Клиническая физиология: роль в разработке фундаментальных проблем регуляции функции почек у человека. *Физиология человека* 2005; 31 (5): 80-87
9. Гланц С. *Медико-биологическая статистика*. Практика, М., 1999; 350-354
10. Наточин ЮВ, Канашкина ТА, Мордвинцев ДЮ, Шахматов ЕИ. Рецепторы вазопрессина: структура и стимуляция 1-дезамино-аргинин-вазотоцином у крыс. *Рос физиол журн* 2007; 93 (6): 625-634

Поступила в редакцию 24.06.2009 г.

Принята в печать 13.07.2009 г.