

УДК 615.32:616.61:615.5

КОРРЕКЦИЯ ЭКСКРЕТОРНОЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВОМ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ФОНЕ ГИПЕРГРАВИТАЦИИ

© 2014 Е.Н. Зайцева, А.В. Дубищев, Н.П. Аввакумова, М.Н. Глубокова

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 07.10.2104

В экспериментах на белых крысах установлено, что гумат магния (в дозе 5 мг/кг, подкожно) при ежедневном введении на фоне 3% водной нагрузки параллельно с гравитационным воздействием (3g в направлении вектора центробежного ускорения к почкам животного) в условиях развития ишемической острой почечной недостаточности повышает скорость клубочковой фильтрации, креатининурия, мочевиноурез, понижает уровень креатининемии, мочевиноемии, мочевой экскреции белка, γ -глутамилтрансферазы в сравнении с нелеченым контролем.

Ключевые слова: *гумат магния, гравитационное воздействие, диуретическая активность, экскреторная функция, почки, острая почечная недостаточность, нефропротекторное действие*

Поиск новых комбинированных методов воздействия, обладающих нефропротекторными свойствами при острой почечной недостаточности (ОПН), является важной задачей современной фармакологии и нефрологии [8]. Наш выбор остановился на повышенном гравитационном воздействии и лекарственных средствах природного происхождения, обладающих диуретическими свойствами. Естественная гравитация Земли сопровождает человека на протяжении всей его жизни, однако неизвестно, как повлияет повышенная гравитация на течение ОПН. Природные диуретики – одна из наиболее часто и широко применяемых сегодня групп лекарственных средств, способствующих выведению излишнего количества воды, ионов, продуктов белкового обмена и токсических агентов из организма, но остается загадкой, как они себя поведут 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 и повышенная протеинурия. Скорость клубочковой фильтрации часто определяют по клиренсу эндогенного креатинина. Креатинин и мочевина – это продукты белкового обмена в организме [9]. 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 [1].

Цель исследования: изучение и сравнительный анализ нефропротекторных свойств гумата магния, гравитационного фактора и совместного их применения методом оценки динамики скорости клубочковой фильтрации, протеинурии, энзимии при развитии ишемической ОПН.

Материалы и методы исследования. Опыты 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 крысы содержались в виварии на стандартном рационе при свободном доступе к воде. Всего было выполнено 5 серий экспериментов, 2 из них – по оригинальной методике, разработанной на кафедре фармакологии Самарского государственного медицинского университета, с использованием центрифуги ультракороткого радиуса [2, 5].

Возможные нефропротекторные свойства гумата магния, гравитационного воздействия и их комбинации исследовались в хронических опытах с моделированием ишемической ОПН [3]. Данная модель ОПН была получена путем удаления левой почки у наркотизированного животного с использованием специальных устройств, последующим пережатием сосудистой ножки единственной почки сосудистым зажимом на 1,5 часа, удалением зажима и послойным ушиванием раны [6, 7]. Экспериментальные животные были разделены на 5 групп. Интактным животным (интактная группа, n=10) и контрольным животным (нелеченая контрольная группа с ишемической ОПН, n=20) в течение 7 дней опытного периода ежедневно вводили

Зайцева Елена Николаевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии. E-mail: 13zen31@mail.ru

Дубищев Алексей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии

Аввакумова Надежда Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой общей, бионеорганической и биоорганической химии

Глубокова Мария Николаевна, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии

водную нагрузку в объеме 3% от массы тела животного при помощи внутрижелудочного зонда в строго определенное время [4]. Первая опытная группа (гравитационное лечение, n=20) получала водную нагрузку, размещалась на центрифуге ультракороткого радиуса и подвергалась гравитационному воздействию 3g в течение 10 минут в направлении вектора центробежного ускорения к почкам животного. Второй опытной группе (лечение гуматом магния, n=20) вводился подкожно гумат магния в дозе 5 мг/кг на фоне идентичной водной нагрузки. Третья опытная группа (комбинированное лечение, n=20) получала гумат магния в вышеуказанной дозе и подвергалась аналогичному гравитационному воздействию.

По окончании всех манипуляций животные рассаживались в обменные клетки на 24 часа, по истечении которых собранная моча и кровь подвергались исследованию. Скорость клубочковой фильтрации рассчитывали 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, лактатдегидрогеназу и γ -глутамилтрансферазу 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. Статистическую обработку полученных результатов экспериментов проводили с использованием стандартных методов вариаци-

онной статистики при помощи программ Microsoft Excel 2010 «Пакет анализа», Statistics 8,0 по критерию Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. На третьи сутки послеоперационного периода выявленные экспериментальным путем изменения показателей количественной оценки функционального состояния почек подтверждали формирование ишемической острой почечной недостаточности [8]: у животных контрольной группы (нелеченые крысы) относительно интактных животных снижались показатели диуреза, повышалась концентрация креатинина в плазме крови и в моче, снижалась скорость клубочковой фильтрации, повышался уровень мочевой экскреции ЛДГ и ГТТ, развивалась протеинурия. Рост уровня мочевой экскреции цитоплазматического фермента ЛДГ свидетельствовал о цитоллизе клеток почечных канальцев, так как этот фермент является маркером деструкции нефроцитов. Повышение мочевой экскреции мембраносвязанного фермента ГТТ, обнаруженного в наибольшем количестве в почечной ткани, было обусловлено экспериментальным повреждением мембран клеток почечных канальцев [9]. На третий день экспериментального периода, в разгар ОПН, лечение крыс методом изолированного гравитационного воздействия привело к росту диуреза в данной группе на 75%, скорости клубочковой фильтрации – на 65%, мочевиноуреза – на 22%, креатининуреза – на 95%, снижению мочевой экскреции ЛДГ на 37%, белка – на 26%, снижению креатининемии на 29% по отношению к группе нелеченого контроля, $p < 0,05$ (рис. 1).

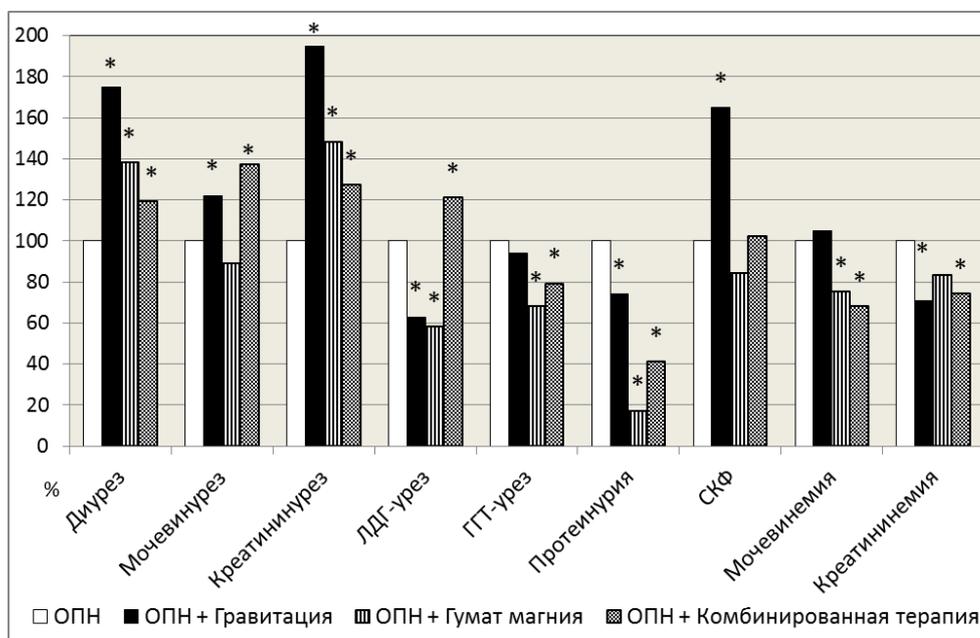


Рис. 1. Влияние гравитационного воздействия, гумата магния и их комбинации на экскреторную функцию почек, скорость клубочковой фильтрации (СКФ) и уровень азотемии у крыс на третьи сутки развития ишемической ОПН

Таким образом, курсовое лечение гравитационным воздействием способствовало восстановлению почечной функции у крыс с ишемической

ОПН. Однако гумат магния достоверно повышал диурез на 38%, креатининурез – на 48%, понижал мочевую экскрецию ЛДГ на 42%, ГТТ – на 32%,

протеинурию – на 83%, уровень мочевины в крови – на 25%, $p < 0,05$, при этом не вызывая достоверных изменений скорости клубочковой фильтрации по сравнению с нелечеными крысами. Это свидетельствует о том, что курсовое лечение гуматом магния способствует нормализации экскреторной функции почек опытных крыс, но фильтрационную функцию почек восстанавливает медленно.

В тоже время комбинированное лечение гуматом магния и гравитационным фактором способствовало росту диуреза всего на 19%, креатининурия – на 27%, мочевиноуреза – на 37%, падению мочевого экскреции ГГТ – на 21%, снижению протеинурии – на 59%, мочевинемии – на 32%,

креатининемии – на 26%. Однако уровень ЛДГ в моче опытной группы возрастал на 21%, $p < 0,05$. Следовательно, применение курсового комбинированного лечения нормализует почечную гемодинамику и экскреторную функцию почек крыс с острой нефропатией, но не устраняет полностью последствия ишемии.

На седьмые сутки после операции в момент выздоровления у животных всех трех опытных групп отмечалось снижение диуретической реакции по отношению к группе нелеченого контроля, в которой развилась полиурическая стадия ишемической ОПН (рис. 2).

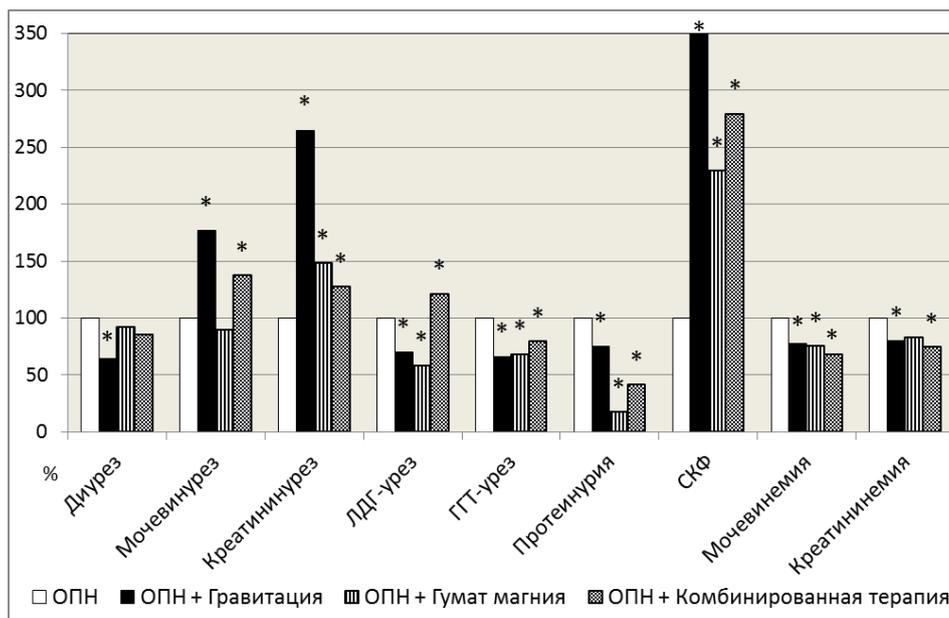


Рис. 2. Влияние гравитационного воздействия, гумата магния и их комбинации на экскреторную функцию почек, СКФ и уровень азотемии у крыс на седьмые сутки развития ишемической ОПН

Оптимально быстро восстанавливалось функциональное состояние почек у животных, получавших монотерапию гравитационным воздействием, диурез у этих животных был снижен на 36%, СКФ повышена на 250%, креатининурия – на 165%, мочевиноурез – на 77%, мочевого экскреции ЛДГ снижена на 30%, ГГТ – на 34%, белка – на 25%, мочевинемии – на 22%, креатининемии – на 20%, $p < 0,05$. У крыс, леченных комбинированной терапией гуматом магния и гравитационным воздействием, отмечалось повышение СКФ на 179%, креатининурия на 27%, мочевиноуреза – на 37%, снижение мочевого экскреции ГГТ на 21%, белка – на 59%, креатининемии – на 26%, мочевинемии – на 32% в сравнении с контролем. Уровень ЛДГ в моче опытной группы продолжал оставаться повышенным на 21%, $p < 0,05$. Животные, получавшие монотерапию гуматом магния, имели повышенные показатели скорости клубочковой фильтрации – на 129%, креатининурия – на 48%, и пониженные показатели мочевого экскреции ЛДГ – на 42%, ГГТ – на 32%, протеинурии – на 83%, мочевинемии на 25%, $p < 0,05$.

Выводы: при изучении нефропротекторного действия гумата магния, гравитационного фактора и их комбинации на модели экспериментальной ишемической ОПН на протяжении 7 дней экспериментального периода было выявлено: монотерапия гравитационным воздействием оказалась наиболее эффективной, так как способствовала нормализации азотистого баланса в организме опытных животных, фильтрационной способности и экскреторной функции почек, снижению протеинурии; комбинированная терапия уступала по нормализации диуреза и интенсивности стимуляции клубочковой фильтрации, но превосходила по интенсивности антипротеинурического действия; изолированная терапия гуматом магния оказалась наиболее эффективной в плане нефропротекции (гипопротеинурии), но не устраняла полиурию у опытных крыс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Батько, А.Б. Экспериментальный нефролитиаз: нефропротекторное действие антагонистов кальция / А.Б. Батько, Р.А. Осешнюк // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2012. Т. 75, №12. С. 25-26.

2. 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.
3. Зайцева, Е.Н. Способ моделирования пост-ишемической почечной недостаточности: патент на изобретение 2481646 Рос. Федерация. №2012104056 /14 / Е.Н. Зайцева, А.В. Дубищев, А.Р. Зайцев //; заявл. 06.02.12; опубл. 10.05.13, Бюл. №13. 6 с.
4. Зайцева, Е.Н. Устройство для введения водной нагрузки лабораторным животным: патент на полезную модель 115651 Рос. Федерация. №2011138631/13/ Е.Н. Зайцева, А.Р. Зайцев, А.В. Дубищев // заявл. 20.09.11; опубл. 10.05.12, Бюл. № 13. 2 с.
5. Зайцева, Е.Н. Устройство для изучения влияния повышенных нагрузок на лабораторных животных: патент на полезную модель 93674 Рос. Федерация. № 2009149546/22/ Е.Н. Зайцева, А.Р. Зайцев, А.В. Дубищев // заявл. 30.12.09; опубл. 10.05.10, Бюл. № 13. 2 с.
6. Зайцева, Е.Н. Устройство для проведения хирургических операций на лабораторных животных: патент на полезную модель 112031 Рос. Федерация. №2011138635/13/ Е.Н. Зайцева, А.Р. Зайцев, А.В. Дубищев // заявл. 20.09.11; опубл. 10.01.12, Бюл. №1. 2 с.
7. Зайцева, Е.Н. Устройство для фиксации краев операционных ран у лабораторных животных: патент на полезную модель 129805 Рос. Федерация. №2012145710/20 / Е.Н. Зайцева, А.Р. Зайцев, А.В. Дубищев, Е.А. Горай // заявл. 25.10.12; опубл. 10.07.13, Бюл. №19. 2 с.
8. Филипец, Н.Д. Сравнительная оценка нефропротекторных свойств модуляторов калиевых и кальциевых каналов при экспериментальном поражении почек / Н.Д. Филипец, А.И. Гоженко // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2014. Т. 77, №1. С. 10-12.
9. Хорошилов, С.Е. Возможности медикаментозной нефропротекции и профилактики острой почечной недостаточности / С.Е. Хорошилов, А.В. Никулин // Буковинский медицинский вестник. 2012. Т. 16, № 3 (63), Ч. 2. С. 31-35.

CORRECTION OF KIDNEYS EXCRETORY FUNCTION AT THE EXPERIMENTAL ACUTE RENAL FAILURE BY NATURAL ORIGIN DRUGS AGAINST HYPERGRAVITATION

© 2014 E.N. Zaytseva, A.V. Dubishchev, N.P. Avvakumova, M.N. Glubokova

Samara State Medical University

In experiments on white rats that humate of magnesium (at a dose of 5 mg/kg, subcutaneously) daily introduction on the background of 3% of the water load in parallel with the gravitational influence (3g in the direction of the vector of the centrifugal acceleration to the kidneys of the animal) in the development of ischemic acute renal failure increases the glomerular filtration rate, creatinine, lowers the level of creatinemia, mochevinemia, urinary excretion of protein, γ -glutamyltransferase in comparison with untreated control.

Key words: *humate of magnesium, gravitational effects, diuretic activity, excretory renal function, acute renal failure, nephroprotective effect*

*Elena Zaytseva, Candidate of Medicine, Associate
Professor at the Pharmacology Department. E-mail:
13zen31@mail.ru*

*Aleksey Dubishchev, Doctor of Medicine, Professor,
Head of the Pharmacology Department
Nadezhda Avvakumova, Doctor of Biology, Professor,
Head of the Common, Bionorganic and Bioorganic
Chemistry Department*

*Maria Glubokova, Candidate of Pharmacy, Senior Lecturer
at the Common, Bionorganic and Bioorganic Chemistry
Department*