

МЕХАНИЗМЫ БИОХИМИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ВОДНО-ЭЛЕКТРОЛИТНОГО ОБМЕНА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ХИНОКАРБОМ

Воронина Ю.В., Набока О.И.

Национальный фармацевтический университет,
кафедра биологии г. Харьков

Ключевые слова: водно-электролитный обмен, экспериментально гипертензивные крысы, хинолин-2-карбоновые кислоты, хинокарб.

Резюме: в исследовании показана возможность фармакологической коррекции нарушений водно-электролитного обмена при помощи хинокарба – нового производного хинолин-2-карбоновой кислоты. Механизмы реализации антигипертензивного эффекта хинокарба базируются на снижении концентрации в крови экспериментально гипертензивных крыс основных электролитов и активации азотвыделительной функции почек.

Resume: Study shows the possibility of pharmacological correction of violations of water-electrolyte metabolism using quinocarb – new derivative of quinoline-2-carboxylic acid. Mechanisms of implementation of antihypertensive effect of quinocarb is based on the decrease of concentration in the blood of the experimentally hypertensive rats of basic electrolytes and activation of nitrogen-releasing kidney function.

Актуальность. Артериальная гипертензия (АГ) сопровождается серьезными метаболическими нарушениями водно-электролитного обмена [6]. Одним из наиболее важных биохимических показателей, которые характеризуют нарушения электролитного гомеостаза являются изменения обмена ионов K^+ , Na^+ и Cl^- и состояния небелковых (креатинин, мочевины) азотистых веществ и общего белка. Креатинин и мочевины являются ранними и наиболее информативными маркерами нарушения функционального состояния почек при АГ, а их уровень характеризует состояние азотвыделительной функции почек [3, 4].

Цель настоящего исследования – изучить механизмы биохимических нарушений водно-электролитного обмена у экспериментально гипертензивных крыс (ЭГК) и перспективы их коррекции хинокарбом – новым производным хинолин-2-карбоновой кислоты.

Задачи: изучить влияние хинокарба на электролитный состав и биохимические показатели крови у ЭГК при 7-дневном его введении per os.

Материал и методы исследования. Исследования проведены на нелинейных крысах обоего пола массой 200-250 г. На протяжении эксперимента животные находились в виварии при 20-25⁰С, влажности не более 50 %, природном световом режиме «день-ночь», в стандартных пластиковых клетках, на стандартном пищевом рационе [1]. АГ у животных воспроизводили путем хронического введения (на протяжении 6 недель) индометацина в условиях солевой загрузки. Влияние на электролитный состав крови и состояние реноваскулярной системы хинокарб исследовали при его 7-дневном введении у крыс, определяя в крови концентрацию ионов калия, натрия и хлора, а также содержание креатинина, мочевины и уровень общего белка. Препаратами сравнения были гранулы Гипотиозида, которые содержат 25 мг

гидрохлортиазида («Хиноин», Венгрия) и гранулы Берлиприла, которые содержат 5 мг эналаприла малеата («Берлин-Хеми АГ», Германия). Доза хинокарба и гидрохлортиазида 10 мг/кг (по действующей субстанции). Доза эналаприла 5 мг/кг отвечает диапазону суточных доз для человека с учетом коэффициента пересчета на крыс [4]. Препараты вводили 1 раз в день в течение 7 суток. Артериальное давление (АД) у крыс регистрировали в хвостовой артерии неинвазивным методом при помощи регистратора АД BP Recorder («Ugo Basile», Италия). На 7 день с момента начала эксперимента сразу же после регистрации АД проводили эвтаназию животных методом декапитации [9], в крови определяли содержание креатинина и мочевины при помощи тест-наборов («Pliva-Lachema Diagnostika», Чехия) и уровень общего белка с помощью тест-набора («Филисит-Диагностика», Украина). Содержание в крови концентрации ионов K^+ , Na^+ и Cl^- определяли с помощью анализатора Na/K/Cl «Easylyte» («Medica», США) с использованием проточных ионселективных электродов. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистического анализа электронных таблиц Excel [5].

Результаты исследования и их обсуждение. По окончании 7-дневного эксперимента в крови контрольных нелеченных ЭГК концентрация ионов калия, натрия и хлора составляла соответственно 6,90 ммоль/л, 142,2 ммоль/л и 106 ммоль/л (табл. 1), при физиологической норме этих показателей у нормотензивных нелинейных крыс соответственно 4,5-7,4 ммоль/л, 144,0-157,7 ммоль/л и 103-114 ммоль/л [3]. Следует отметить, что в сравнении с нормотензивными линейными крысами (Wistar) для ЭГК показано незначительное, но статистически значимое повышение в крови уровня ионов натрия и хлора и, наоборот, снижение концентрации ионов калия. По мнению специалистов, такие нарушения электролитного баланса крови, например у спонтанно гипертензивных крыс (SHR), обусловлены патологическим влиянием повышенного АД [10].

Как видно из табл. 2, у этих же контрольных животных содержание сывороточного креатинина, мочевины и общего белка составляло в среднем соответственно 80,9 мкмоль/л, 6,8 ммоль/л и 63 г/л при физической норме этих показателей у нормотензивных нелинейных крыс соответственно 62,48-77,44 мкмоль/л, 2,9-10,7 ммоль/л и 69-76 г/л. Таким образом, содержание только одного из показателей – мочевины – способствовало уровню нормы у здоровых нелинейных крыс [3]. Повышенное содержание креатинина на фоне несколько сниженного содержания общего белка позволяет предположить наличие у ЭГК прогрессирующей почечной недостаточности как патогенетически взаимосвязанного компонента кардиоренального континуума, который возникает в результате системного повышения АД. Как известно, гиперкреатинемия, вместе с микроальбуминурией – это ранний и наиболее информативный маркер нарушения функции почек при АГ [4]. Исходя из этого, можно обоснованно предположить, что гипопротейнемия, которая наблюдалась у нелеченных ЭГК, отражала нарастающую микроальбуминурию, что является постоянным и патогенетически важным компонентом нефротического синдрома [3, 4].

Вместе с тем, данные сравнительных исследований метаболического профиля крови SHR и нормотензивных линейных крыс достаточно противоречивы [10]. По мнению специалистов, это объясняется значительными колебаниями уровня сыво-

роточного белка и небелковых азотсодержащих веществ в зависимости от пола и возраста животных [7]. В группе крыс, которые получали хинокарб, в целом не было зарегистрировано существенно значимых изменений электролитного состава крови по отношению к K^+ , Na^+ и Cl^- , концентрации которых подвергались лишь незначительным колебаниям относительно нелеченного контроля (табл. 1). В то же время, у 6 из 10 крыс, которые стали чувствительными к антигипертензивному действию хинокарба, наблюдалось достоверное повышение (на 18 %) концентрации ионов калия. Полученные результаты и данные литературы о профиле калия в крови SHR дают основание предположить, что в реализации антигипертензивного действия хинокарба ведущую роль играет снижение экскреции калия почками [8].

Таблица 1. Влияние хинокарба на электролитный состав крови у ЭГК при 7-дневном внутрижелудочного введения

| Препараты | n | K^+ , ммоль/л | Na^+ , ммоль/л | Cl^- , ммоль/л |
|----------------------------|-------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Контроль, нелеченные крысы | 10 | 6,90±0,210 | 142,2±1,40 | 106,0±1,10 |
| ЭГК + хинокарб | всего – 10 | 7,91±0,320 ^{2,3} (115 %) | 137,3±3,29 (97 %) | 101,4±3,01 (96 %) |
| | чувств. – 6 | 8,17±0,458 ¹ (118 %) | 135,8±4,30 (96 %) | 102,9±4,48 (97 %) |
| ЭГК + гидрохлортиазид | всего – 10 | 6,95±0,208 (100,7 %) | 136,8±2,33 ¹ (96 %) | 99,0±1,75 ¹ (93 %) |
| | чувств. – 4 | 7,10±0,355 (103 %) | 137,4±1,64 ¹ (97 %) | 99,8±2,14 ¹ (94 %) |
| ЭГК +эналаприл | 10 | 6,67±0,111 (97 %) | 138,4±2,32 (97 %) | 100,7±1,74 ¹ (95 %) |

Примечания:

1. n – количество животных, которые используются при расчете средней величины;
2. ¹ – $P \leq 0,05$ относительно нелеченного контроля;
3. ² – $P \leq 0,05$ относительно группы гидрохлортиазида;
4. ³ – $P \leq 0,05$ относительно группы эналаприла;
5. В скобках – уровень относительно нелеченного контроля в %.

В этой же группе внутрижелудочное введение хинокарба не оказывало статистически значимого влияния на содержание креатинина, мочевины и общего белка, что составляло соответственно 76,9 мкмоль/л, 3,7 ммоль/л и 64,8 г/л (табл. 2). Вместе с тем, следует отметить, что направленность изменений креатинина и общего белка в крови ЭГК имеет позитивный характер в результате тенденции к восстановлению данных показателей до уровня физиологической нормы у здоровых нормотензивных крыс [2]. Что касается изменений уровня мочевины в крови, то, как видно из представленных данных, несмотря на то, что ее снижение на 46 % не было статистически достоверным, эту динамику следует считать как положительную в плане активации азотвыделительной функции почек. Вместе с тем, колебания показателя сывороточной мочевины в широких пределах может быть обусловлено высокой пластичностью и вариабельностью данного показателя, уровень которого, как известно, динамично реагирует даже на небольшие изменения функционального состояния организма [3].

В группе животных, которые получали гидрохлортиазид, внутрижелудочное введение препарата в дозе 10 мг/кг вызывало у всех животных, как чувствительных,

так и резистентных к его действию, достоверное снижение концентрации Na^+ и Cl^- в крови в сравнении с нелеченным контролем. Исходя из известных данных о механизме антигипертензивного действия гидрохлортиазида, его влияние на электролитный состав крови обоснованно можно считать результатом угнетения реабсорбции Na^+ и Cl^- в начальном отделе дистальных канальцев нефронов [8].

Таблица 2. Содержание креатинина, мочевины и общего белка в крови у ЭГК и влияние на эти показатели хинокарба при 7-дневном внутрижелудочном его введении

| Препараты | n | Креатинин, мкмоль/л | Мочевина, ммоль/л | Общий белок, г/л |
|----------------------------|-------------|-------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| Контроль, нелеченные крысы | 6 | 80,9±3,48 | 6,8±1,42 | 63,0±3,17 |
| ЭГК + хинокарб | всего – 10 | 76,9±2,18 ² (95 %) | 3,7±0,67 ² (54 %) | 64,8±4,11 ² (103 %) |
| | чувств. – 6 | 77,0±2,22 ² (95 %) | 3,8±0,65 (56 %) | 68,0±5,72 (108 %) |
| ЭГК + гидрохлортиазид | всего – 10 | 77,0±7,88 (95 %) | 4,9±1,52 (72 %) | 62,6±2,50 ³ (99 %) |
| | чувств. – 4 | 88,0±7,55 (109 %) | 6,9±2,33 (101 %) | 65,0±2,52 ³ (103 %) |
| ЭГК + эналаприл | 10 | 98,0±7,15 (121 %) | 8,8±2,37 (129 %) | 97,9±12,63 ¹ (155 %) |

Примечания:

1. n – количество животных, которые используются при расчете средней величины;
2. ¹ – $P \leq 0,05$ относительно нелеченного контроля;
3. ² – $P \leq 0,05$ относительно группы эналаприла;
4. ³ – $P \leq 0,05$ относительно группы гидрохлортиазида;
5. В скобках – относительно нелеченного контроля в %.

У этих же животных, гидрохлортиазид не вызывал достоверных изменений содержания креатинина, мочевины и общего белка в крови в сравнении с нелеченным контролем. Следует отметить, что у крыс, чувствительных к антигипертензивному действию гидрохлортиазида, отмечена тенденция к повышению уровня креатинина в крови до 109 % относительно нелеченных контрольных животных. Как известно, гиперкреатинемия является характерным для тиазидных диуретиков побочным нефротоксическим эффектом, выраженность которого повышается с увеличением дозы и длительности применения препарата [8].

В группе ЭГК, которые получали эналаприл, 7-дневное лечение не оказывало влияния на содержание ионов калия и натрия, однако приводило к достоверному снижению уровня хлора в крови. Эналаприл-индуцированное уменьшение концентрации Cl^- можно рассматривать как позитивный эффект, направленный на нормализацию электролитного баланса крови у ЭГК. У этих же животных, внутрижелудочное введение эналаприла вызывало тенденцию к повышению в 1,21 раза содержания креатинина, в 1,29 – уровня мочевины и статистически значимое увеличение в 1,55 раз содержания общего белка в крови. Подобные эффекты (нарастание креатинина, мочевины и гиперпротеинемия), которые расцениваются как побочные, обусловлены особенностями антигипертензивного действия эналаприла. Известно, что антигипертензивные средства, механизм действия которых связан с ингибиро-

ванием АПФ, вызывают снижение продукции ангиотензина-II, резко уменьшают контролируемую ангиотензином скорость клубочковой фильтрации и внутриклубочковое давление в почках, и, как следствие, вызывают транзиторное повышение креатинина и мочевины в крови [7]. Как видно из табл. 2, в сравнении с референтным препаратом – эналаприлом исследуемая субстанция хинокарб не оказывала отрицательного влияния на фильтрационную способность почек, о чем свидетельствовали статистически значимые отличия между соответствующими исследуемыми группами относительно уровня белка и небелковых азотсодержащих соединений крови (креатинин, мочевина).

Выводы:

1. У ЭГК развивались нарушения водно-электролитного гомеостаза, что отражалось в повышении концентрации ионов калия, натрия, хлора, креатинина плазмы и общего белка. Показатели мочевины не изменялись.

2. Механизмы биохимических нарушений электролитного обмена у ЭГК можно объяснить ранней гиперкреатинемией наряду с микроальбуминурией, которые приводят к нарушениям функции почек при АГ.

3. Механизмы реализации антигипертензивного эффекта хинокарба базируются на снижении концентрации в крови ЭГК основных электролитов и активации азотвыделительной функции почек.

Литература

1. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів. Методичні рекомендації / Коваленко В.М., Стефанов А.В., Максимов Ю.М., Трахтенберг І.М. // В зб.: Доклінічні дослідження лікарських засобів. Ред. О.В. Стефанов. – К.: МОЗ України, Державний фармакологічний центр, 2001. – С.74-97.

2. Западнюк В.И. Лабораторные животные. – К.: Вища школа, 1996. – 382 с.

3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической диагностике. – Минск: Беларусь, 2000. – Т.1. – 494 с.

4. Кобалова Ж.Д., Котовская Ю.В. Артериальная гипертензия: ключи к диагностике и лечению – Москва, 2007. – 432 с.

5. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: «МОРИОН», 2000. – 320 с.

6. Мальцев В.И., Казимирко В.К. Гомеостаз натрия и калия в организме, его нарушения // Здоров'я України. – 2004. – №4. – С.27.

7. Марчук Е.Ю., Воеводина И.В. Современные представления об использовании ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента для лечения артериальной гипертензии // РМЖ. – 2005. – Т.13.

8. Рациональная фармакотерапия сердечно-сосудистых заболеваний / Под ред. Е.И. Чазова, Ю.Н. Беленкова. – М.: Литтерра, 2005. – С.810.

9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.

10. Yang H.Y., Yang S.H., Chen S.I. et al. Soyabean protein hydrolysate prevents the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats // British Journal of Nutrition, 2004. – N92. – P. 507-512.