

ВЛИЯНИЕ МИЛДРОНАТА НА ФУНКЦИЮ ПОЧЕК ПРИ ДОКСОРУБИЦИНОВОЙ НЕФРОПАТИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Штефанеса Ч.Г., Гаина Ж.М.

научный руководитель, к.фарм.н., Гаина Ж.М.

*Буковинский государственный медицинский университет,
кафедра фармацевтической ботаники и фармакогнозии
г. Черновцы*

Ключевые слова: милдронат, доксорубициновая нефропатия, крысы

Резюме. Проведено 3 серии опытов на белых нелинейных крысах-самцах массой 150-170 г. Под влиянием доксорубицина нарушилась функция почек животных. Курсовое применение милдроната совместно с введением доксорубицина предупредило нефротоксические эффекты доксорубицина. Проведенные гистологические исследования почек подтвердили нефропротекторные свойства милдроната.

Resume. 3 series of experiments were made on white non-linear male rats weighing 150-170gr. Under the influence of doxorubicin disrupt the function of the kidneys of animals. Usage of mildronate together with doxorubicin in the injection course prevents nephrotoxic effects of doxorubicin. The findings of histologic studies of the kidneys corroborated nephroprotective properties of mildronate.

Актуальность. Милдронат (мельдоний) широко известный кардиопротектор, который способствует улучшению метаболических процессов в клетках и уменьшению чувствительности тканей к гипоксии, за счет блокады окисления жирных кислот и включения альтернативной системы образования энергии – окисление глюкозы [1]. Применение препарата доксорубицина (цитостатик, антибиотик антрациклинового ряда) в комплексной терапии онкологических заболеваний может привести к нарушению функции сердца [3] и почек [6]. Доказано, что доксорубицин повреждает структуру почечного фильтра, и в первую очередь базальной мембраны [8].

Цель: исследовать возможный нефропротекторный эффект кардиопротектора – милдроната, учитывая выше изложенное и результаты исследований последних лет о взаимосвязи между нарушением функции почек и сердца, так называемые кардиоренальный [7] и ренокардиальный синдромы [2].

Задачи: Изучение предполагаемых нефропротекторных свойств милдроната.

Материалы и методы. Для реализации рабочей гипотезы было проведено 3 серии опытов на белых нелинейных крысах-самцах массой 150-170г. В первой – вводили доксорубицин (Украина, «Киевмедпрепарат», 5 мг/кг, в/м, 1 раз в 7 дней, четырежды); во второй – на фоне введения доксорубицина вводили милдронат (Латвия, «Grindex», 50мг/кг, интраабдоминально, 28 дней); контрольной – вводили воду для инъекций.

Функцию почек исследовали через 30 мин после последнего введения препаратов на фоне водной загрузки (5% от массы тела животных). Затем животных

помещали в индивидуальные клетки и в течение 2 часов собирали мочу, в которой определяли содержание ионов натрия, калия, белка, креатинина и рассчитывали показатели функции почек [5].

При работе с животными соблюдали требования Европейской конвенции по защите животных (Страсбург, 1986) и методические рекомендации ГФЦ МЗ Украины.

Полученный цифровой материал обрабатывали методами статистического анализа. Вероятность разницы средних арифметических значений (p) определяли параметрическим методом с определением t -критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Длительное применение доксорубина вызвало изменения в показателях экскреторной, ионорегулирующей и кислоторегулирующей функций почек. Возможно, базальная мембрана значительно повреждается, поэтому на этой модели исследуют нефропротекторные средства с мембранопротекторными свойствами [4].

Под влиянием доксорубина (5 мг / кг 4 раза в месяц) на 14-е сутки диурез уменьшился в 1,3 раза ($p < 0,001$), экскреция ионов натрия и калия снизилась в 1,8 раза ($p < 0,001$) и в 2,5 раза ($p < 0,001$) соответственно, увеличились концентрация и экскреция белка с мочой в 10 раз ($p < 0,001$). Экскреция креатинина снизилась в 1,2 раза ($p < 0,05$), что может свидетельствовать о снижении скорости клубочковой фильтрации. Под действием милдроната (ежедневное введение в дозе 50 мг / кг) наблюдали нормализацию диуреза, значительное повышение экскреции ионов натрия и калия, а также креатинина. Протеинурия уменьшилась почти до уровня показателей контроля.

На двадцать восьмой день эксперимента летальность в группе контрольной патологии составила 46,7%. Наблюдалась тенденция к снижению диуреза, скорость клубочковой фильтрации уменьшилась в 1,4 раза ($p < 0,05$) (табл.). Концентрация креатинина в плазме крови возросла в 1,6 раза ($p < 0,001$), концентрация и экскреция белка увеличилась в 10 раз ($p < 0,001$). Экскреция ионов натрия уменьшилась в 1,8 раза ($p < 0,001$). Концентрация ионов натрия в плазме крови уменьшилась (с $128,6 \pm 1,68$ ммоль / л до $114,0 \pm 1,39$ ммоль / л, $p < 0,001$), концентрация ионов калия в плазме крови уменьшилась в 1,4 раза ($p < 0,01$).

По сравнению с показателями контрольных животных увеличилась экскреция аммиака и произошел сдвиг pH мочи в щелочную сторону (табл.). Доксорубиновую протеинурию и другие проявления мочевого синдрома связывают с уменьшением в базальных мембранах клеток почечного эпителия макромолекул гликозамингликанов и гликопротеинов особенно гепарансульфата, который является фактором почечной проницаемости [6,8].

Таблица 1. Влияние милдроната (50мг/кг) на функцию почек крыс при доксорубициновой нефропатии ($\bar{x} \pm Sx$, n=7)

Показатели	Контроль	Доксорубицин	Доксорубицин + милдронат
Диурез, мл/2 часа, 100,0	3,6±0,3	3,5±0,3	3,7±0,2
Концентрация ионов натрия в моче, ммоль/л	0,42± 0,191	0,25±0,012 p<0,001	0,66±0,054 p<0,01 p1<0,01
Экскреция ионов натрия с мочой, мкмоль/2 часа/100,0	1,51± 0,173	0,85±0,033 p<0,001	2,43±0,093 p<0,001 p1<0,01
Концентрация ионов калия в моче, ммоль/л	5,14± 0,571	3,16±0,277 p<0,001	7,78±0,377 p<0,05 p1<0,01
Экскреция ионов калия с мочой, мкмоль/2 часа/100,0	18,46± 1,45	10,66±0,244 p<0,001	29,67±1,686 p<0,001 p1<0,001
Клубочковая фильтрация, мкл/мин	439,21 ± 40,52	304,27± 25,57 p<0,05	327,37±48,24 p<0,01
Концентрация креатинина в моче, ммоль/л	0,93± 0,01	1,08± 0,034 p<0,01	0,94± 0,006 p1<0,01
Концентрация креатинина в плазме крови, мкмоль/л	64,57± 1,959	103,33±1,44 p<0,001	73,6± 1,64 p<0,05 p1<0,001
Концентрация белка в моче мг/л	0,003 ± 0,0003	0,03± 0,004 p<0,001	0,003± 0,0005 p1<0,001
Экскреция белка с мочой, мг/2 часа/100,0	0,011± 0,0003	0,11± 0,009 p<0,001	0,012± 0,0019 p1<0,001
pH мочи, ед.	6,78± 0,079	7,77± 0,055 p<0,001	6,93±0,031 p1<0,001

Примечание: p – достоверность изменений относительно контроля, p1 – достоверность изменений относительно доксорубицина.

Защитное действие милдроната (ежедневное введение до 28 суток включительно, 50 мг / кг) характеризуется тенденцией снижения летальности животных до 30%.

Экскреция ионов натрия увеличилась в 2,9 раза (p <0,01), ионов калия – в 2,8 раза (p<0,001), что превысило соответствующие показатели у контрольных животных в 1,6 раза (p<0,001). Преобладало свойственное милдронату салуретическое действие. Нормализовалась и экскреция белка с мочой. Концентрация креатинина в плазме крови уменьшилась в 1,4 раза (p<0,05), однако оставалась еще в 1,14 раза выше (p<0,05) контрольного показателя. С возрастанием экскреции ионов водовода pH мочи уменьшилась до показателя контрольных животных.

Проведенные гистологические исследования структуры почек животных, получавших доксорубицин, выявили изменения в извитых канальцах почек без нарушений структуры клубочкового аппарата. При этом в отличие от группы контрольных животных (рис.1) под влиянием доксорубицина у 18% эпителиальных клеток извитых канальцев наблюдались признаки гидропического набухания (рис.2). О способности доксорубицина вызывать деструктивные изменения в почках свидетельствуют и данные литературы [8].

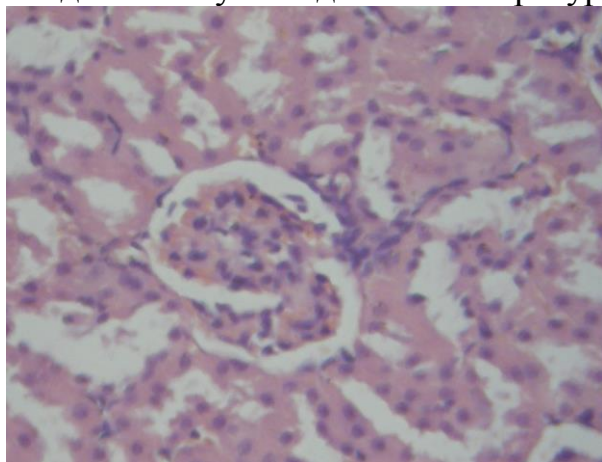


Рисунок 1 - Почка крысы (контроль).
Окраска гематоксилин-эозином. Об. 10^x,
Ок. 10^x

Гистоструктура ткани почки на уровне извитого канальца без видимых изменений. Отдельные эпителиальные клетки извитых канальцев с признаками гидропического набухания (менее 1%).

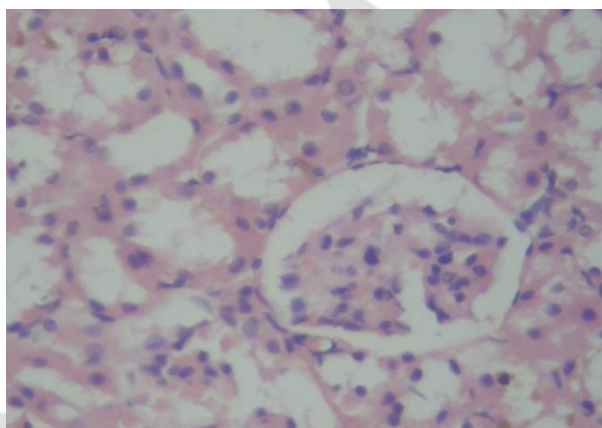


Рис. 2 - Почка крысы (модель доксорубициновой нефропатии).
Окраска гематоксилин-эозином.
Об. 10^x, Ок. 10^x

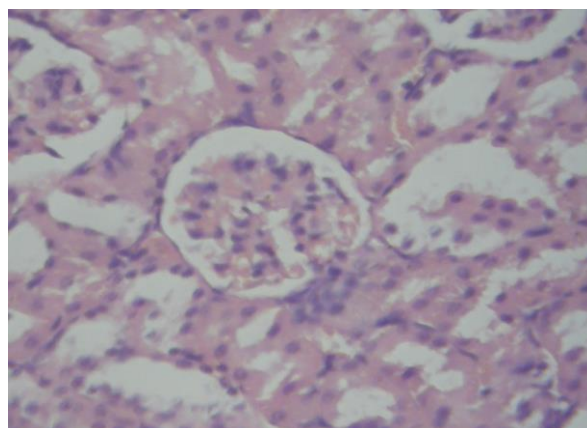


Рис. 3 - Почка крысы (модель доксорубициновой нефропатии+ милдронат).
Окраска гематоксилин-эозином.
Об. 10^x, Ок. 10^x

Под влиянием милдроната количество эпителиальных клеток с признаками гидропического набухания в канальцах уменьшилось на 6% (рис.3), что свидетельствует о защитном действии препарата на почки и служит морфологическим подтверждением корригирующего влияния милдроната на функциональное состояние почек при токсическом действии доксорубицина.

Выводы:

1. Таким образом, совместное применение доксорубина с милдронатом значительно уменьшило и предупредило токсические проявления доксорубина на почки.

2. Результаты проведенных морфофункциональных исследований состояния почек животных свидетельствуют о том, что милдронат оказывает защитное действие на почки при доксорубиновой нефропатии и могут служить экспериментальным обоснованием целесообразности применения милдроната в качестве нефропротекторного средства в клинической практике.

Литература

1. Калвинш И.Я. Милдронат – механизм действия и перспективы его применения. – Рига: изд-во ПАО «Гриндекс», 2001. –122с.

2. Каражанова Л. К. Диагностика и лечение почечной дисфункции при хронической сердечной недостаточности / Л. К. Каражанова, А. Т. Масалимова, С. Б. Мусабекова // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2008. – № 7(6) (Приложение 1). – С. 168.

3. Матяш М.Г. Индуцированная антрациклинами кардиотоксичность: механизмы развития и клинические проявления / М.Г. Матяш, Т.Л. Кравчук, В.В. Высоцкая [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2008. – №6 (30). – С. 67 – 74.

4. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень. Методичні рекомендації / С.Ю. Штриголь, В.М. Лісовий, І.А. Зупанець [та ін.]. – Київ. – 2009. – 48с.

5. Рябов С.И. Функциональная нефрология / С.И. Рябов, Ю.В. Наточин. – Спб.: Лань,1997. – 304с.

6. Саенко Ю.В. К механизму токсического действия доксорубина на почки / Ю.В. Саенко, А.М. Шутин, Р.Х. Мусина // Нефрология. – 2006. – Т.10, №4. – С.72-76.

7. Cardiorenal syndrome: biomarkers linking kidney damage with heart failure / S. Soni, Y. Fahuan, C. Ronco, D. N. Cruz // Biomarkers Med. – 2009. – Vol. 3, № 5. –P. 549-560.

8. Xiaozhong L. Adriamycin increases podocyte permeability: evidence and molecular mechanism / L. Xiaozhong, Y. Haitao, Z. Xueguang // Chin. Med. J. - 2003. - Vol. 116, № 12. - P. 1831-1835.