

УДК 615.243.2.57.089.5.00.5

О.І. НАВОКА, Т.С. САХАРОВА

Національний фармацевтичний університет

РЕЗУЛЬТАТИ ВИВЧЕННЯ БІОХІМІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ВОДНО-ЕЛЕКТРОЛІТНОГО ОБМІНУ У SHR ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ КАРБОРЕНОМ

Представлені результати вивчення біохімічних порушень водно-електролітного обміну у SHR. Показано, що основними механізмами порушень водно-електролітного гомеостазу у SHR є підвищення концентрації іонів калію, натрію, хлору, креатиніну плазми та загального білка. Показники сечовини не змінюються. Механізми біохімічних порушень електролітного обміну у SHR можна пояснити ранньою гіперкреатинемією поряд з мікроальбумінурією, які призводять до порушення функції нирок при артеріальній гіпертензії. Показана можливість фармакологічної корекції порушень водно-електролітного обміну за допомогою карборену — нового похідного хінолін-карбонової кислоти. Механізми реалізації антигіпертензивного ефекту карборену базуються на зниженні концентрації в крові SHR основних електролітів і активації азотовидільної функції нирок.

Ключові слова: водно-електролітний обмін; SHR; хінолін-карбонові кислоти; карборен

ВСТУП

За останні роки дослідниками вивчені спеціальні трансгенні лінії щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією (SHR), що є адекватною моделлю даного захворювання у людей. З цієї патологією тварини народжуються, що розширило можливість експериментального вивчення як патогенетичних механізмів розвитку артеріальної гіпертензії, так і можливості її фармакокорекції [15, 16, 17]. Артеріальна гіпертензія супроводжується і значними метаболічними порушеннями водно-електролітного обміну [7]. Одним з найважливіших біохімічних показників, які характеризують порушення електролітного гомеостазу, є зміни обміну іонів K^+ , Na^+ і Cl^- та стану небілкових (креатинін, сечовина) азотистих речовин та загального білка. Креатинін та сечовина є ранніми і найбільш інформативними маркерами порушення функціонального стану нирок при артеріальній гіпертензії, а їх рівень характеризує стан азотовидільної функції нирок [3].

У зв'язку з цим метою даного дослідження стало вивчення механізмів біохімічних порушень водно-електролітного обміну у гіпертензивних щурів та перспективи їх корекції карбореном — новим похідним хінолін-карбонової кислоти.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведені на 24 спонтанно гіпертензивних щурах-самцях масою 248,0–431,0 г (розплідник лабораторних тварин «Біомодельсервіс», м. Київ). У період акліматизації після перевезення з розплідника (2 тижні) та протягом експерименту щури знаходилися у віварії при 20–25°C, вологості не більше 50%, природному світловому режимі «день-ніч» у стандартних пластикових клітках на стандартному харчовому раціоні [1].

Вплив на електролітний склад крові та стан реноваскулярної системи карборену досліджували при його 7-денному введенні, визначаючи в крові концентрацію іонів калію, натрію та хлору, а також вміст креатиніну, сечовини та рівень загального білка. Препаратами порівняння були пігулки гіпотіазиду, які містять 25 мг гідрохлортіазиду («Хіноін», Угорщина, серія 0627) та пігулки берліприл, які містять 5 мг еналаприлу малеату («Берлін-Хемі АГ», Німеччина, серія 71002).

Доза карборену і гідрохлортіазиду 10,7 мг/кг (за діючою субстанцією) є максимально ефективною діуретичною дозою, як було встановлено у проведених раніше експериментах [11]. Доза еналаприлу 5 мг/кг відповідає діапазону добових доз для людини з розрахунком коефіцієнта перерозрахунку на щурів, а також коливається в діапазоні його фармакологічно активних доз в експерименті [5].

© О.І. Набока, Т.С. Сахарова, 2011

Препарати, які порівнюються, вводили 1 раз на день протягом 7 днів. Контрольній групі нелікованих щурів щоденно внутрішньошлунково вводили 0,9% розчин натрію хлориду в еквівалентному об'ємі (0,2 мл/200 г). Евтаназію тварин проводили методом декапітації, в крові визначали вміст креатиніну та сечовини за допомогою тест-наборів («Pliva-Lachema Diagnostika», Чехія) та рівень загального білка за допомогою тест-набору («Філісіт-Діагностика», Україна). Вміст у крові концентрації іонів K^+ , Na^+ і Cl^- визначали за допомогою аналізатора $Na/K/Cl$ «Easylyte» («Medica», США) з використанням проточних іоноселективних електродів.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням пакету статистичного аналізу електронних таблиць Excel [6]. Розраховували середні значення показників (\bar{x}) та стандартну помилку ($S\bar{x}$). Вірогідність різниць між середніми визначали за критерієм Стьюдента. Вірогідність отриманих результатів оцінювали на рівні значущості не менше 95% ($P \leq 0,05$) [13].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Після завершення 7-денного експерименту в крові контрольних нелікованих тварин SHR концентрація іонів калію, натрію і хлору складала відповідно 6,82 ммоль/л, 141,8 ммоль/л і 106 ммоль/л (табл. 1) при фізіологічній нормі цих показників у нормотензивних нелінійних щурів відповідно 4,5–7,4 ммоль/л, 144,0–157,7 ммоль/л і 103–114 ммоль/л [3]. Слід відмітити, що у порівнянні з нормотензивними лінійними щурами (Wistar) для SHR показано незначне, але статистично значуще підвищення в крові рівня іонів натрію і хлору і, навпаки, зниження концентрації іонів калію. На думку спеціалістів, такі порушення електролітного балансу крові у SHR зумовлені пато-

логічним впливом підвищеного артеріального тиску [20].

Як видно з табл. 2, у цих же контрольних тварин вміст сироваткового креатиніну, сечовини та загального білка складав у середньому відповідно 81,5 мкмоль/л, 6,8 ммоль/л і 63 г/л при фізичній нормі цих показників у нормотензивних нелінійних щурів відповідно 62,48–77,44 мкмоль/л, 2,9–10,7 ммоль/л і 69–76 г/л. Таким чином, вміст тільки одного з показників — сечовини відповідав рівню норми у здорових нелінійних щурів [3]. Підвищений вміст креатиніну на фоні декілька зниженого вмісту загального білка дозволяв припустити наявність у SHR прогресуючої ниркової недостатності як патогенетично взаємопов'язаного компонента кардіоренального континууму, який виникає внаслідок системного підвищення артеріального тиску. Як відомо, гіперкреатинемія поряд з мікроальбумінурією — це ранній і найбільш інформативний маркер порушення функції нирок при артеріальній гіпертензії [4]. Зменшення загальної кількості білка у крові виникало, як правило, за рахунок зниження кількості альбумінів [3]. Виходячи з цього, можна обґрунтовано припустити, що гіпопротеїнемія, яка спостерігається у нелікованих SHR, відбивала зростаючу мікроальбумінурію, що є постійним і патогенетично важливим компонентом нефротичного синдрому [3, 4].

Разом з цим дані порівнювальних досліджень метаболічного профілю крові SHR і нормотензивних лінійних щурів досить суперечливі [19, 20]. На думку спеціалістів, це пояснюється значними коливаннями рівня сироваткового білка та небілкових азотовмісних речовин залежно від статі та віку тварин [19].

У групі щурів, які отримували карборен, у цілому не зареєстровано суттєво значущих змін електролітного складу крові, зокрема K^+ ,

Таблиця 1

ВПЛИВ КАРБОРЕНУ НА ЕЛЕКТРОЛІТНИЙ СКЛАД КРОВІ У SHR ПРИ ЙОГО 7-ДЕННОМУ ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОМУ ВВЕДЕННІ

Препарати	n	K^+ , ммоль/л	Na^+ , ммоль/л	Cl^- , ммоль/л
Контроль, неліковані щури	6	6,82±0,203	141,8±1,37	106,0±1,11
SHR + карборен	всього — 6	7,72±0,314 ^{2,3} (113%)	136,1±3,25 (96%)	101,6±3,07 (96%)
	чутливих — 4	7,90±0,446 ¹ (116%)	134,2±4,35 (95%)	102,4±6,56 (97%)
SHR + гідрохлортіазид	всього — 6	6,83±0,172 (100%)	136,2±1,53 ¹ (96%)	98,8±1,58 ¹ (93%)
	чутливих — 4	6,98±0,344 (102%)	137,0±1,08 ¹ (97%)	100,1±2,29 ¹ (94%)
SHR + еналаприл	6	6,58±0,109 (96%)	137,5±2,19 (97%)	100,8±1,41 ¹ (95%)

Примітки:

n — кількість тварин, які використовуються при розрахунку середньої величини;

¹ — $p \leq 0,05$ відносно нелікованого контролю;

² — $p \leq 0,05$ відносно групи гідрохлортіазиду;

³ — $p \leq 0,05$ відносно групи еналаприлу;

У дужках — рівень відносно нелікованого контролю у %.

Na⁺ і Cl⁻, концентрації яких підлягали лише незначним коливанням відносно нелікованого контролю (табл. 1). Разом з тим у 4 з 6 щурів, які стали чутливими до антигіпертензивної дії карборену, спостерігалось вірогідне підвищення (на 16%) концентрації іонів калію. Отримані результати і дані літератури щодо профілю калію в крові SHR дає підставу припустити, що в реалізації антигіпертензивної активності карборену певну роль відіграє зниження екскреції калію нирками [12].

У цій же групі внутрішньошлункове введення карборену не чинило статистично значущого впливу на вміст креатиніну, сечовини та загального білка, що складало відповідно 77,8 мкмоль/л, 3,5 ммоль/л і 65,1 г/л (табл. 2). Разом з тим, слід відмітити, що спрямованість змін креатиніну та загального білка в крові SHR носить позитивний характер внаслідок тенденції до відновлення даних показників до рівня фізіологічної норми у здорових нормотензивних щурів [2]. Щодо змін рівня сечовини в крові, то як видно з представлених даних (табл. 2), хоча її зниження на 49% не стало статистично вірогідним, цю динаміку слід розглядати як позитивну в плані активації азотовидільної функції нирок. Поряд з цим коливання показника сироваткової сечовини в широких межах може бути обумовлено високою пластичністю та варіабельністю даного показника, рівень якого, як відомо, динамічно реагує навіть на невеликі зміни функціонального стану організму [3].

У групі щурів, які отримували гідрохлортіазид, внутрішньошлункове введення препарату в дозі 10,7 мг/кг викликало у всіх щурів як чутливих, так і резистентних до його дії вірогідне зниження концентрації натрію і хлору у крові в порівнянні з нелікованим контролем (табл. 1). Виходячи з відомих даних про механізм антигіпертензивної дії гідрохлортіазиду, його вплив на

електролітний склад крові обґрунтовано можна вважати наслідком пригнічення реабсорбції Na⁺ і Cl⁻ в початковій частині дистальних каналців нирок [12].

У цих же тварин гідрохлортіазид не викликав вірогідних змін вмісту креатиніну, сечовини та загального білка у крові в порівнянні з нелікованим контролем (табл. 2). Слід відмітити, що у щурів, чутливих до антигіпертензивної дії гідрохлортіазиду, відмічена тенденція до зростання рівня креатиніну в крові до 109% відносно нелікованих контрольних тварин. Відомо, що гіперкреатинемія є характерним для тіазидних діуретиків побічним нефротоксичним ефектом, виразність якого зростає зі збільшенням дози та тривалості застосування препарату [12].

У групі тварин SHR, які отримували еналаприл, 7-денне лікування не чинило впливу на вміст іонів калію і натрію, але вірогідно знижувало рівень хлору в крові (табл. 1). Еналаприл-індуковане зменшення концентрації Cl⁻ можна розглядати як позитивний ефект, спрямований на нормалізацію електролітного балансу крові у SHR. У цих же тварин внутрішньошлункове введення еналаприлу викликало тенденцію до підвищення в 1,2 рази вмісту креатиніну, в 1,3 рази — рівня сечовини та статистично значуще зростання в 1,6 рази кількості загального білка в крові (табл. 2). Подібні ефекти (зростання креатиніну, сечовини та гіперпротеїнемія), які розцінюються як побічні, зумовлені особливостями антигіпертензивної дії еналаприлу. Відомо, що антигіпертензивні засоби, механізм дії яких пов'язаний з інгібуванням ангіотензинперетворюючого ферменту, викликають зниження продукції ангіотензину-II, різко зменшують контролюючу ангіотензином швидкість клубочкової фільтрації та внутрішньоклубочковий тиск у нирках і, як наслідок, викликають транзитор-

Таблиця 2

ВПЛИВ КАРБОРЕНУ НА ВМІСТ КРЕАТИНІНУ, СЕЧОВИНИ ТА ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА В КРОВІ У SHR ПРИ ЙОГО 7-ДЕННОМУ ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОМУ ВВЕДЕННІ

Препарати	n	Креатинін, мкмоль/л	Сечовина, ммоль/л	Загальний білок, г/л
Контроль, неліковані щури	6	81,5±3,41	6,8±1,49	63,0±3,19
SHR + карборен	всього — 6	77,8±2,03 ² (95%)	3,5±0,63 ² (51%)	65,1±4,02 ² (103%)
	чутливих — 4	77,8±2,27 ² (95%)	3,8±0,75 ² (56%)	67,5±5,85 (107%)
SHR + гідрохлортіазид	всього — 6	77,8±8,87 (95%)	4,8±1,50 (71%)	62,7±2,62 ³ (100%)
	чутливих — 4	88,9±8,49 (109%)	7,0±2,50 (103%)	65,7±2,62 ³ (104%)
SHR + еналаприл	6	98,2±7,12 (120%)	9,1±2,05 (134%)	100,3±13,78 ¹ (159%)

Примітки:

n — кількість тварин, які використовуються при розрахунку середньої величини;

¹ — p ≤ 0,05 відносно нелікованого контролю;

² — p ≤ 0,05 відносно групи еналаприлу;

³ — p ≤ 0,05 відносно групи гідрохлортіазиду;

У дужках — рівень відносно нелікованого контролю у %.

не підвищення креатиніну і сечовини в крові [8, 10]. Як видно з табл. 2, у порівнянні з референтним препаратом еналаприлом досліджувана субстанція карборен не чинила негативного впливу на фільтраційну здатність нирок, про що свідчили статистично значущі відмінності між відповідними дослідними групами відносно рівня білка і небілкових азотовмістних речовин крові (креатиніну, сечовини).

ВИСНОВКИ

1. У спонтанно гіпертензивних щурів розвиваються порушення водно-електролітного гомеостазу, що відбивається на підвищенні концентрації іонів калію, натрію, хлору, креатиніну плазми та загального білка. Показники сечовини у SHR не змінюються.
2. Механізми біохімічних порушень електролітного обміну у SHR можна пояснити ранньою гіперкреатинемією поряд з мікроальбумінурією, які призводять до порушення функції нирок при артеріальній гіпертензії.
3. Механізми реалізації антигіпертензивного ефекту карборену базуються на зниженні концентрації в крові SHR основних електролітів і активації азотовидільної функції нирок.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів: [метод. рекомендації] / В.М. Коваленко, А.В. Стефанов, Ю.М. Максимов, І.М. Трахтенберг // У 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 / В.И. Западнюк — К.: Вища шк., 1996. — 382 с.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической диагностике / В.С. Камышников — Мн.: Беларусь, 2000. — Т.1. — 494 с.
4. Кобалова Ж.Д., Котовская Ю.В. Артериальная гипертензия: ключи к диагностике и лечению / Ж.Д. Кобалова, Ю.В. Котовская — М., 2007. — 432 с.
5. Компендиум 2005 — лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: МОРИОН, 2005. — 1920 с.
6. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич — К.: «МОРИОН», 2000. — 320 с.
7. Мальцев В.И. Гомеостаз натрия и калия в организме, его нарушения / В.И. Мальцев, В.К. Казимирко // Здоров'я України. — 2004. — №4. — С.27.
8. Марчук Е.Ю. Современные представления об использовании ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента для лечения артериальной гипертензии / Е.Ю. Марчук, И.В. Воеводина // РМЖ. — 2005. — Т.13.
9. Машковский М.Д. Лекарственные средства. 15-е изд., перераб. испр. и доп. — М.: ООО Изд-во «Новая волна». — 2007. — 1200 с.
10. Метелица В.И. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых лекарственных средств / В.И. Метелица — 2-е изд. — М.: Изд-во БИНОМ; СПб: Невский диалект, 2002. — 926 с.
11. Набока О.І. Визначення ефективної дози і гострої токсичності карборену / О.І. Набока // Запорозький мед. журн. — 2007. — №3(41). — С.154–156.
12. Рациональная фармакотерапия сердечно-сосудистых заболеваний / Под ред. Е.И. Чазова, Ю.Н. Беленкова. — М.: Литтерра, 2005. — С. 810.
13. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура — М., 2000. — С. 318–320.
14. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: [справ.] — М.: Астра-ФармСервис, 2007. — 1632 с.
15. Тарасова К.В. Комплексный вплив активаторів і блокаторів мембранних каналів на показники гемодинаміки щурів з нормальним артеріальним тиском та зі спонтанною гіпертензією / К.В. Тарасова, І.М. Карвацький, В.Г. Шевчук // Фізіол. журн. — 2004. — Т.50, №4. — С. 117–122.
16. Чекман І.С. Спонтанна артеріальна гіпертензія у щурів: патогенетичні механізми розвитку / І.С. Чекман, Я.М. Корнійкова, Р.С. Довгань // Ліки — 2007. — №1-2. — С. 10–15.
17. Doug M.S., Scott B., Rebecca R. // J. Hypertens. — 2005. — Vol. 23, №12. — P. 2229–2236.
18. Firbas U., Michlits V., Aharineyad S. // Discoveries in Molecular and Evolutionary Biology — 2005. — Vol. 284A, №2. — P. 537–543.
19. Fukuda S. Age-related in blood pressure, hematological values, concentrations of serum biochemical constituents and weights of organs in the SHR/Izm, SHRSP/Izm and WKY/Izm / S. Fukuda, S. Tsuchikura, H. Iida // Exp. Anim. — 2004. — Vol. 53, №1. — P. 67–72.
20. Yang H.Y. Soyabean protein hydrolysate prevents the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats / H.Y. Yang, S.H. Yang, S.I. Chen et al. // British J. of Nutrition — 2004. — N92. — P. 507–512.

УДК 615.243.2.57.089.5.00.5**О.И. Набока, Т.С. Сахарова****РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ВОДНО-ЭЛЕКТРОЛИТНОГО ОБМЕНА У SHR И ИХ КОРРЕКЦИЯ КАРБОРЕНОМ**

Представлены результаты изучения биохимических нарушений водно-электролитного обмена у SHR. Показано, что основными механизмами нарушений водно-электролитного гомеостаза у SHR являются повышение концентрации ионов калия, натрия, хлора, креатинина плазмы и общего белка. Показатели мочевины не изменяются. Механизмы биохимических нарушений электролитного обмена у SHR можно объяснить ранней гиперкреатинемией наряду с микроальбуминурией, которые приводят к нарушениям функции почек при артериальной гипертензии. Показана возможность фармакологической коррекции нарушений водно-электролитного обмена при помощи карборена — нового производного хинолин-карбоновой кислоты. Механизмы реализации антигипертензивного эффекта карборена базируются на снижении концентрации в крови SHR основных электролитов и активации азотвыделительной функции почек.

Ключевые слова: водно-электролитный обмен; SHR; хинолин-карбоновые кислоты; карборен

UDC 615.243.2.57.089.5.00.5**O.I. Naboka, T.S. Saharova****RESULTS OF STUDY OF BIOCHEMICAL DISORDERS OF WATER-ELECTROLYTE EXCHANGE METABOLISM IN SHR AND THEIR CORRECTION WITH CARBORANE**

The results of biochemical disorders studying of water-electrolytic exchange in SHR have been presented. It has been shown that the main mechanisms of water-electrolytic homeostasis at SHR are the potassium, sodium, chlorine ions and plasma creatinine and general protein concentration increasing. The urine indexes do not change. The mechanisms of biochemical disorders of electrolytic exchange at SHR can be explained by early hypercreatinemy together with microalbuminory which lead to kidney function disorders by arterial hypertension. The possibility of pharmacological correction of water electrolytic disorders by means of carborene — new hynolin-carbonic acid derivative has been shown. The mechanisms of antihypertensive effect of carborene are based on reducing of main electrolytes concentration in the blood of SHR and activation of nitrogen-eliminating kidney function.

Key words: water-electrolytic exchange; SHR; hinolin-carbonic acids; carborane

Адреса для листування:

Надійшла до редакції: