

УДК 616-092.9; 612.084; 612.018.2

ВЛИЯНИЕ ДОФАМИНА НА ВОДОВЫДЕЛИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ПОЧЕК КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ АУТОИММУННЫМ НЕФРИТОМ

¹Джиоев И.Г., ²Клочков Д.А., ¹Кабоева Б.Н., ^{1,3}Батагова Ф.Э., ¹Бедоева З.Р.

¹Северо-Осетинская государственная медицинская академия, Владикавказ, e-mail: inal44@mail.ru;

²Филиал №3 ФГКУ «1602 Военно-клинический госпиталь», Владикавказ;

³Институт биомедицинских исследований Владикавказского научного центра РАН и Правительства Республики Северная Осетия-Алания, Владикавказ

Однократное подкожное ведение 36-и половозрелым крысам линии Вистар, выведенных от близкородственных скрещиваний, равнодолевой смеси гомогената коркового вещества почек и полного адьюванта Фрейнда (по 0,2 мл в подмышечные и паховые области, внутрибрюшинно) вызывает аутоиммунный нефрит Хеймана с протеинурией и гиперкреатининемией, торможением канальцевой реабсорбции воды и повышением водного диуреза, которое через два месяца сменяется снижением в результате уменьшения скорости клубочковой фильтрации вследствие ослабления почечного кровотока. Четырехкратное в течение одного часа внутрибрюшинное введение иммунизированным крысам дофамина в дозе 3,75 мкг/100г на фоне водной нагрузки ускоряет почечный кровоток и клубочковую фильтрацию, увеличивает диурез, что при аутоиммунном поражении почек, очевидно связано с сохранением в клубочковом аппарате D1-подобных дофаминовых рецепторов, тормозящих образование ангиотензина II, суживающего мезангиальные клетки, а также деполаризацией подоцитов.

Ключевые слова: аутоиммунный нефрит Хеймана, полный адьювант Фрейнда, дофамин, водовыделительная функция почек, почечный кровоток, протеинурия

EFFECT OF DOPAMINE TO EXCRETION OF AT RATS WITH EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE NEPHRITIS

¹Dzhioev I.G., ²Klochkov D.A., ¹Kaboeva B.N., ^{1,3}Batagova F.E., ¹Bedoeva Z.R.

¹North Ossetian State Medical Academy, Vladikavkaz, e-mail: inal44@mail.ru;

²Branch №3 of Federal public commercial institution «1602 Military and clinical hospital», Vladikavkaz;

³Institute of Biomedical Research of Vladikavkaz scientific center of the Russian Academy of Sciences and Government of the Republic of North Ossetia -Alania, Vladikavkaz

A single subcutaneous injection of equal-share renal cortex homogenate and complete Freund's adjuvant (0.2 ml in the axillary and inguinal region, ip) mixture performed in 36 adult Wistar rats. , bred by inbreeding, causes Heymann nephritis with proteinuria and abnormally elevated creatinine, also braking tubular reabsorption of water and increased water diuresis, which is followed by a decrease after two months due to a decrease in glomerular filtration rate because of the weakening of renal blood flow. Fourfold (in one hour) intraperitoneal administration of dopamine to immunized rats at a dose of 3.75 mg / 100g during water intake accelerates renal blood flow, glomerular filtration and urine output. The diuretic effect of dopamine in the autoimmune kidney disease is apparently associated with the persistence of D1-like dopamine receptors in the glomerular apparatus, which inhibit the formation of angiotensin II, which is snugging mesangial cells, and also with podocytes depolarization.

Keywords: experimental autoimmune Heyman's nephrosis, complete Freund's adjuvant, dopamine, urinary excretion, renal blood flow, proteinuria

Несмотря на улучшение диагностики и лечения нефрологических больных, их количество растет с каждым годом, что связано и со способностью многих заболеваний (гипертоническая болезнь, сахарный диабет, туберкулез и др.), а в ряде случаев и беременность, вызывать различные почечные осложнения [1,5,6,8]. Поэтому изучение и вскрытие механизмов, лежащие в основе патологии почек, несомненно имеет важное, не только научное, но и практическое, значение, а выяснение влияния дофаминергической системы почек (наряду с симпатической и ренин-ангиотензин-альдостероновой, контролирующих постоянно водно-солевого обмена и артериальное давление), способной оказывать сосудорас-

ширяющее и натрийуретическое действие, а также активировать антиоксидантную и противовоспалительную системы, может иметь важное значение, особенно при нарушении синтеза дофамина и чувствительности рецепторов [9,10]. Вследствие чего более углубленное изучение влияния этого катехоламина при различных нефропатологических состояниях, позволит вскрыть ранее неизвестные механизмы его действия, что возможно, найдет свое применение в практическом здравоохранении.

Целью работы являлось выяснение влияния дофамина на диурез и основные процессы мочеобразования у крыс с экспериментальным аутоиммунным нефритом Хеймана.

Материалы и методы исследований

Для решения поставленной цели на 48-и половозрелых крысах линии Wistar в возрасте 6-9 месяцев и с весом 160-200 г были поставлены опыты. Животных разделили следующим образом: 12 интактных крыс, 36 крыс с аутоиммунным нефритом Хеймана, половина из которых получала дофамин. Модель аутоиммунного нефрита создавали путём однократного инъекционного введения крысам в пяти местах (подмышечные и паховые области, внутрибрюшинно) по 0,2 мл равнодолевой смеси гомогената коркового вещества почки (из пропорции на 100,0 мг ткани 1,0 мл физраствора) с полным адьювантом Фрейнда.

С целью максимального приближения к аутоиммунному состоянию при создании модели нефрита все крысы лабораторного вивария были собраны из пяти пометов (8, 10, 9, 7 и 7, всего 41 крыс), в которых был один и тот же самец. При этом из каждого помёта забивали одну крысу и гомогенат его коркового вещества вводили только крысам этого помёта.

Доза вводимого крысам дофамина в 2,5 мкг/кг/мин (почечная доза) была аналогично применяемой в клинике (внутривенно, капельно с 200–400 мл физиологического раствора или глюкозой). Хотя имеются данные, где дофамин вводят в другой дозе и другим способом (однократно 1 мг/кг, п/к наркотизированным крысам) [4]. В наших опытах мы сначала животным через зонд в желудок вводили водопроводную воду в объёме 5% массы тела, а затем через один час, то есть на высоте водной нагрузки, начинали инсулиновым шприцем делать внутрибрюшинно инъекции дофамина. При этом мы исходили из того, что в организме период полураспада дофамина равен 3–4 минутам, а времена всасывания жидкости из брюшной полости в среднем составляет 10-12 минут, поэтому через каждые 15 минут в течение одного часа четыре раза на 100 г веса крыс вводили 3,75 мкг препарата (2,5 мкг/кг/мин умножить на 15 мин = 37,5 мкг/кг или 3,75 мкг/100г) с физиологическим раствором в общем объёме 0,4 мл. Контрольным крысам с аутоиммунным нефритом вводили физиологический раствор.

Мочу для исследований собирали отдельно за три часа. В собранной моче и плазме крови спектрофотометрически определяли содержание эндогенного креатинина (метод Поппера), и общего белка (метод Лоури в моче и биуретовый в плазме крови), рассчитывали диурез, скорость клубочковой фильтрации и объём канальцевой реабсорбции воды [7]. После завершения двухнедельных, месячных и двухмесячных экспериментов у животных в состоянии обезболивания внутрибрюшинным введением анестетика общего действия золетила в дозе 0,1 мл/100 г инвазивным способом определяли объёмную скорость кровотока с помощью ультразвукового флоуметра Transonic HT 313 (США). Полученные результаты статистически обрабатывались с применением параметрического метода сравнения средних величин ($M \pm m$) контрольных и опытных значений, а степень достоверности оценивалась по *t*-критерию Стьюдента. Содержание крыс, уход, постановка опытов и вывод их из эксперимента, с последующей утилизацией, осуществлялись в соответствии с приказом Минздравсоцразвития России № 708н от 23 августа 2010 г. «Об утверждении Правил лабораторной практики». Первые опыты были поставлены через две недели после иммунизации, затем в конце первого месяца и третий раз – спустя месяц.

Результаты исследования и их обсуждение

Ранее [2], при исследовании у крыс с аутоиммунным нефритом водовыделительной функции почек и чувствительности канальцев почек к антидиуретическому гормону были выявлены гиперкреатининемия и протеинурия, приводящая к гипопропротеинемии, а также повышение водного диуреза за счет снижения канальцевой реабсорбции воды (через месяц после иммунизации), а затем снижение диуреза в результате уменьшения клубочковой фильтрации и объёмной скорости почечного кровотока (в конце второго месяца). Морфологически отмечались неравномерность сосудистой сети, разнокалиберность клубочков, лимфо- и лейкоцитарные инфильтраты, участки кровоизлияний и дистрофические изменений канальцев со скоплениями в них белковых масс. А при изучении влияния дофамина на водовыделительную функцию почек при экспериментальной острой почечной недостаточности [3], была показана его способность к повышению водного диуреза вследствие ускорения клубочковой фильтрации и увеличения почечного кровотока.

Рассмотрим водовыделительную функцию почек у крыс с аутоиммунным нефритом и влияние, оказываемое дофамином в этом случае. Через две недели после иммунизации крыс отмечалось статистически значимое повышение водного диуреза, когда суммарный трехчасовой диурез, равный $5,35 \pm 0,42$ мл/3часа/100г превосходил контроль на 38,6% ($p < 0,01$), что было обусловлено снижением канальцевой реабсорбции воды, несмотря на 24,5% ($p < 0,02$) снижение скорости клубочковой фильтрации. При этом максимальное повышение диуреза (на 47,8%) было на втором часе, когда одновременно отмечалось и наибольшее торможение обратного всасывания воды в канальцах почек ($p < 0,001$). Одновременно с изменением диуреза и основных процессов мочеобразования увеличилась в 1,6 раза степень протеинурии (табл. 1), но уровень общего белка плазмы крови оставался в пределах статистических колебаний ($61,27 \pm 2,46$ г/л – контроль, $57,28 \pm 2,68$ г/л – опыт), а креатинина – увеличился ($73,25 \pm 2,63$ мкмоль/л – контроль, $82,46 \pm 3,21$ мкмоль/л – опыт, $p < 0,05$). Четырёхкратное внутрибрюшинное ведение крысам дофамина через каждые 15 минут со второго часа после водной нагрузки вызвало повышение диуреза с $2,35 \pm 0,19$ мл/ч/100 г до $2,98 \pm 0,21$ мл/ч/100 г ($p < 0,05$) в результате ускорения клубочковой фильтрации. При этом как диурез (на 54,9%), так и фильтрация (на 63,0%) остались повышенными и на третьем часе. Ка-

нальцевая реабсорбция воды, степень протеинурии (табл. 1) и уровень креатинина в плазме крови ($81,92 \pm 3,85$ мкмоль/л) за это время не изменились.

Через месяц после введения крысам аутоиммунной смеси содержание креатинина в плазме крови стало $87,55 \pm 4,34$ мкмоль/л, а степень протеинурии за три часа увеличилась в 2,7 раза, а диурез за первые два часа, несмотря на снижение скорости клубочковой фильтрации, но в результате торможения канальцевой реабсорбции воды, оставался больше контроля (таблица). При этом за третий час количество выделившейся мочи почти верну-

лось к норме. Введение же дофамина также, как и в двухнедельных опытах способствовало ускорению клубочковой фильтрации, в результате чего достоверно повысился диурез не только за второй час ($p < 0,01$), но и за третий ($p < 0,05$), то есть дофамин, несмотря на то, что быстро распадается, очевидно запускает процессы способные продлевать его диуретический эффект. Канальцевая реабсорбция оставалась сниженной, особо не отличаясь от двухнедельных данных. Не изменилась, по сравнению с данными аутоиммунных крыс, и степень протеинурии, хотя она была значительно больше контроля (таблица).

Водный диурез, основные процессы мочеобразования и степень протеинурии у крыс интактных, с аутоиммунным нефритом и на его фоне с введением дофамина

	Стат. показат.	Диурез (мл/ч/100 г)	Фильтрация (мл/ч/100 г)	Реабсорбция воды (%)	Протеинурия (мкг/мл)
Интактные крысы					
1 ч	M±m	1,49±0,12	16,35±1,25	90,88±0,46	4,87±0,39
2 ч	M±m	1,59±0,11	18,06±1,36	91,19±0,53	4,31±0,57
3 ч	M±m	0,78±0,06	12,75±1,03	93,87±0,39	6,25±0,56
С аутоиммунным нефритом через две недели					
1 ч	M±m	1,92±0,16 *	12,39±1,17 *	84,52±0,76 *	7,64±0,52 *
2 ч	M±m	2,35±0,19 *	13,86±1,38 *	83,06±0,84 *	8,15±0,62 *
3 ч	M±m	1,02±0,07 *	9,37±0,92 *	91,37±0,60 *	9,05±0,70 *
С аутоиммунным нефритом через две недели + Дофамин					
2 ч	M±m	2,98±0,21 *	20,34±1,46 #	85,35±1,05 *	7,91±0,58 *
3 ч	M±m	1,58±0,13 * / #	15,28±1,28 #	90,04±0,72 *	8,64±0,65 *
С аутоиммунным нефритом через 1 месяц					
1 ч	M±m	2,05±0,15 *	11,43±0,86 *	82,06±1,12 *	16,41±1,27 *
2 ч	M±m	2,13±0,18 *	12,92±1,02 *	83,51±1,34 *	15,64±1,09 *
3 ч	M±m	0,89±0,06	10,21±0,82	91,28±0,77 *	18,15±1,31 *
С аутоиммунным нефритом через 1 месяц + Дофамин					
2 ч	M±m	2,83±0,22 * / #	18,74±1,63 #	84,82±0,99 *	14,15±0,82 *
3 ч	M±m	1,24±0,10 * / #	14,39±1,14 #	91,38±0,65 *	19,44±1,65 *
С аутоиммунным нефритом через 2 месяца					
1 ч	M±m	0,73±0,12 *	10,09±0,95 *	92,76±0,96	20,25±1,76 *
2 ч	M±m	0,95±0,10 *	10,57±1,31 *	91,01±0,76	18,64±1,23 *
3 ч	M±m	0,46±0,04 *	8,73±0,92 *	94,73±0,88	18,02±1,46 *
С аутоиммунным нефритом через 2 месяца + Дофамин					
2 ч	M±m	1,62±0,15 #	16,84±1,32 #	90,38±0,92	16,35±1,50 *
3 ч	M±m	0,81±0,06 #	14,53±1,18 #	94,42±0,75	15,72±1,29 *

Статистически значимые ($p < 0,05$ – $p < 0,001$) отличия к результатам крыс: * – интактных; # – с аутоиммунным нефритом

Спустя два месяца после иммунизации увеличились степень протеинурии (в 3,08 раза) и содержание креатинина в плазме крови ($92,36 \pm 5,12$ мкмоль/л), а наблюдаемая полиурия за первый час снизилась в два раза, а за второй и третий часы – в 1,7 раза, что, по сравнению с контролем, было обусловлено снижением клубочковой фильтрации, а при сопоставлении с данными, которые были получены в месячных опытах, снижение диуреза было еще значительней – в 2,4 раза. Введение дофамина аутоиммунным животным повысило у них диурез, сохранив последствие и на третьем часе в результате ускорения гломерулярной фильтрации, которая достигла контрольного уровня за второй и третий часы (табл. 1). О сохранении диуретического эффекта дофамина, и его максимуме через 30-40 минут после введения, отмечают и другие авторы [4]. Степень протеинурии и содержание креатинина в плазме крови ($91,85 \pm 4,73$ мкмоль/л) не изменились.

Исследование объемной скорости почечного кровотока, способного оказывать влияние на клубочковую фильтрацию, показало, что у контрольных крыс она была $11,86 \pm 0,65$ мл/мин, у аутоиммунных через две недели – $10,94 \pm 0,59$ мл/мин, один месяц – $9,52 \pm 0,84$ мл/мин ($p < 0,05$) и $8,96 \pm 0,72$ мл/мин ($p < 0,02$) через два. Введение же дофамина статистически значимо ускорило почечный кровоток до $14,34 \pm 0,70$ мл/мин, $12,76 \pm 0,84$ мл/мин и $11,35 \pm 0,91$ мл/мин соответственно в те же сроки постановки опытов. То есть аутоиммунный нефрит вызывал торможение объемной скорости почечного кровотока, а введение дофамин, наоборот, ее ускорение, что, очевидно и способствовало повышению клубочковой фильтрации, которое отмечалось не только во время введения дофамина, но и сохранялось и в следующий час, что, очевидно, связано с тем, что эффекты, связанные с дофаминовыми рецепторами, обладают метаболитным действием. Диуретический эффект дофамина в условиях созданного нами экспериментального аутоиммунного поражения почек, очевидно обусловлен возможным сохранением в клубочковом аппарате D1-подобных дофаминовых рецепторов, способных через аденилатциклазу тормозить образование ангиотензина II, суживающего мезангиальные клетки, и вызывать деполяризацию подоцитов, что ускоряет клубочковую фильтрацию и увеличит диурез [9, 11].

Выводы

Однократное подкожное введение крысам линии Вистар равнодолевой смеси гомогената коркового вещества почек и пол-

ного адьюванта Фрейнда (по 0,2 мл в пяти местах) способствует созданию аутоиммунного нефрита Хеймана, характеризующегося протеинурией и гиперкреатининемией, а также в течение месяца после иммунизации торможением канальцевой реабсорбции воды, что вызывает повышение водного диуреза, которое через два месяца сменяется снижением в результате уменьшения скорости клубочковой фильтрации, обусловленного ослаблением почечного кровотока.

Четырехкратное в течение одного часа внутрибрюшинное введение крысам линии Вистар с аутоиммунным нефритом дофамина в дозе $3,75$ мкг/100 г на фоне водной нагрузки способствует повышению почечного кровотока, скорости клубочковой фильтрации и водного диуреза, но не оказывает влияние на канальцевую реабсорбцию воды, содержание креатинина и степень протеинурии. Диуретический эффект дофамина при аутоиммунном поражении почек, очевидно обусловлен возможным сохранением в клубочковом аппарате D1-подобных дофаминовых рецепторов, тормозящих образование ангиотензина II, суживающего мезангиальные клетки, а также деполяризацией подоцитов.

Список литературы

1. Григорьева О.П., Савенкова Н.Д., Лозовская М.Э. Патология почек у детей с туберкулезной инфекцией // *Нефрология*. – 2013. – Т.17, №6. – С.55-70.
2. Джиоев И.Г., Клочков Д.А., Кабоева Б.Н., Батагова Ф.Э. Водовыделительная функция и чувствительность почек к антидиуретическому гормону у крыс с аутоиммунным нефритом // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – № 10, ч. 6 – С. 1098-1102.
3. Джиоев И.Г., Хубулов И.Г., Батагова Ф.Э., Клочков Д.А. Влияние дофамина на водовыделительную функцию почек при экспериментальной острой почечной недостаточности // *Современные проблемы науки и образования*. – 2014. – №1. URL: www.science-education.ru/115-11858.
4. Кузьмин О.Б., Ландарь Л.Н., Бучнева Н.В. Влияние ингибиторов ренин-ангиотензиновой системы на эффекты дофамина в почке крысы // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2014. – Т. 77, № 7. – С.16-19.
5. Меркушева Л.И., Козловская Н.Л. Современные представления о патогенезе поражения почек при преэклампсии // *Акушерство и гинекология*. – 2015. – № 8. – С. 12-17.
6. Мухин Н.А., Тареева И.Е., Шилов Е.М. Диагностика и лечение болезней почек. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 384 с.
7. Рябов С.И., Наточин Ю.В. Функциональная диагностика. – СПб.: Лань, 1997. – 304 с.
8. Смирнов А.В., Добронравов В.А., Кисина А.А. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению диабетической нефропатии // *Нефрология*. – 2015. – Т.19, №1. – С.77-85.
9. Choi M.R., Konyoumdazian N.M., Pukavina Mikusic N.L. et al. Renal dopaminergic system. Pathophysiological implications and clinical perspectives // *World J. Nephrol.* – 2015. – Vol. 4, № 2. – P. 196-212.
10. Zhang M.Z., Harris R.C. Antihypertensive mechanisms of intrarenal dopamine // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* – 2015. – Vol. 24, № 2. – P. 117-122.