

УДК 616-092.9; 615.035.9

ВЛИЯНИЕ ДОФАМИНА НА ВОДОВЫДЕЛИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ПОЧЕК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

¹Джиоев И.Г., ¹Хубулов И.Г., ²Клочков Д.А., ¹Батагова Ф.Э.

¹Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Владикавказ, Россия (362019, Владикавказ, ул. Пушкинская, 40), e-mail: inal44@mail.ru

²Филиал № 3 Федерального государственного коммерческого учреждения «1602 Военно-клинический госпиталь» Министерства обороны Российской Федерации. Владикавказ, Россия (362000, Владикавказ, ул. Церетели, 6)

Несмотря на разные мнения о целесообразности использования дофамина при почечной патологии целью настоящей работы было экспериментальное изучение его эффектов при острой почечной недостаточности, создаваемой на крысах линии Вистар в/м однократным введением глицерина в дозе 0,8 мл/100 г, и вызывающего экссудативную гломерулопатию и дистрофическо-некротические изменения канальцев почек, протеинурию, снижение диуреза в результате угнетения почечного кровотока и скорости клубочковой фильтрации, повышение содержания креатинина в плазме крови. Четырехкратное в течение одного часа внутрибрюшинное введение крысам дофамина в дозе 2,5 мкг/кг/мин повышает объем почечного кровотока, скорость клубочковой фильтрации и водный диурез, но не влияет на канальцевую реабсорбцию воды, содержание креатинина, мочевины и общего белка в плазме крови и их выделение с мочой. Введение на фоне острой почечной недостаточности дофамина уменьшает функциональные проявления патологии, но не оказывает влияния на морфологические изменения почек.

Ключевые слова: дофамин, глицерин, почечная недостаточность, почечный кровоток, клубочковая фильтрация, диурез, экскреция, протеинурия, деструктивные изменения почек.

THE INFLUENCE OF DOPAMINE ON WATER SECRETORY FUNCTION OF KIDNEYS AT EXPERIMENTAL RAPID KIDNEY INSUFFICIENCY

¹Dzhioev I.G., ¹Hubulov I.G., ¹Batagova F.E., ²Klochkov D.A.

¹North Ossetian State Medical Academy, Vladikavkaz, Russia (362019, Vladikavkaz, street Pushkinskaya, 40)

²Branch № 3 of Federal public commercial institution "1602 Military and clinical hospital" Ministries of Defence of Russia (362000, Vladikavkaz, street Tsereteli, 6)

Despite the different opinions on appropriateness of use of dopamine at renal pathology the purpose of the real work was the experimental studying of its effects at the sharp kidney insufficiency created on the Vistar rats by single introduction of glycerin in a dose of 0,8 ml/100 g, both causing an exudative glomerulopathy and dystrophic and necrotic changes of tubules of kidneys, a proteinuria, decrease of diuresis as a result of suppression of renal blood flow and speed of a glomerular filtration, increase of the content of creatinine in blood plasma. Quadruple intraperitoneal introduction of dopamine within one hour to rats in a dose of 2,5 mkg/kg/min. increases the volume of renal blood flow, speed of a glomerular filtration and water diuresis, but doesn't influence on tubular reabsorption of water, the content of creatinine, urea and general protein in blood plasma and their excretion with urine. Introduction against sharp kidney insufficiency of dopamine reduces functional manifestations of pathology, but has no impact on morphological changes of kidneys.

Keywords: dopamine, glycerin, kidney insufficiency, renal blood flow, glomerular filtration, diuresis, excretion, proteinuria, destructive changes in the kidneys.

Введение

В настоящее время, несмотря на совершенствование диагностики и лечения, повсеместно продолжают расти заболевания почек, от которых в России страдает около 3,5–4 % населения, а по данным ВОЗ – от 6 % и более. Рост заболеваний почек в определенной степени обусловлен улучшением диагностики, но чаще это связано с тем, что развитие болезней протекает бессимптомно, переходя в прогностически неблагоприятное хроническое состоя-

ние, особенно у пациентов в развивающихся странах, при ухудшении качества жизни и неблагоприятной экологической обстановке.

Острая почечная недостаточность – состояние, при котором происходит быстрое снижение функции почек, сопровождающееся уменьшением или даже полным отсутствием образования мочи и приводящее к накоплению в крови продуктов азотистого метаболизма, хоть и может закончиться полным выздоровлением, но может переходить в необратимую хроническую почечную недостаточность с гибелью нефронов. Однако это можно предотвратить грамотным лечением на ранних этапах развития заболевания. И одним из препаратов, способного при анурии, особенно тогда, когда в результате падения скорости клубочковой фильтрации диуретики не оказывают должного эффекта, можно использовать дофамин, который в результате специфического связывания с дофаминовыми рецепторами почек, и в отличие от других катехоламинов, оказывающих противоположный эффект, уменьшает сопротивление почечных сосудов, увеличивает в них кровоток и фильтрацию [2, 8], а также стимулирует, в результате ингибирования синтеза альдостерона, натрийурез [10]. Но при этом надо исходить из того, что дофамин в низких дозах (0.5–3 мкг/кг/мин) оказывает стимулирующее влияние на постсинаптические дофаминовые рецепторы в гладкой мускулатуре сосудов и почках. В малых и средних дозах (2–10 мкг/кг/мин), так называемой коронарной, дофамин возбуждает β 1-адренорецепторы, что увеличивает коронарный кровоток и потребление кислорода миокардом, вызывая положительный инотропный эффект с увеличением минутного объёма крови [5, 9]. При применении больших доз (10 мкг/кг/мин и больше) преобладает стимуляция α 1-адренорецепторов, с повышением общего периферического сосудистого сопротивления и частоты сердечных сокращений, а также сужением почечных сосудов и снижением почечного кровотока, клубочковой фильтрации и образования мочи [6, 7].

Исходя из всего этого, **целью** настоящего исследования являлось изучение влияния дофамина на водовыделительную функцию почек крыс при экспериментальной острой почечной недостаточности.

Материалы и методы исследований. Для решения поставленной цели было необходимо провести следующее: изучить водовыделительную функцию почек в условиях спонтанного диуреза (контроль на 20-и интактных крысах); изучить влияния дофамина на водовыделительную функцию почек; создать экспериментальную модель острой почечной недостаточности и исследовать водовыделительную функцию почек; создать модель острой почечной недостаточности и выяснить влияние дофамина на водовыделительную функцию почек в этом случае.

Острую почечную недостаточность или токсическую глицериновую почечную недостаточность по G. Greven создавали на 30 крысах-самцах линии Вистар путем однократного

внутримышечного введения 0,8 мл/100г 50,0 % глицерина (с предварительным лишением животных пищи в течение суток и введением половина дозы глицерина в правую заднюю лапу, а другую половину – в левую, что уменьшало возможность жировой эмболии и гибели животных) [1].

С учетом того, что дофамин в клинике вводится только внутривенно капельно и длительное время, что нельзя осуществить на крысах без наркоза, а в случае их наркотизации нельзя будет собрать спонтанно выделяющуюся мочу, то мы решили вводить крысам дофамин внутрибрюшинно. При этом исследования проходили в условиях водного диуреза, которую создавали введением 15-и крысам через зонд в желудок водопроводной воды в объеме 5 % веса животных, а затем на высоте водной нагрузки, которая наступает через 50–60 минут (мы исходили из 60-и минут), внутрибрюшинно вводили дофамин в низкой дозе по 2,5 мкг/кг/мин, как общепринятой в клинике у ренальных больных, и затем с интервалами в 15 минут повторяли введение дофамина 4 раза и собирали мочу в течение одного часа. Это позволяло обходиться без наркотизирования животных и поддерживать постоянно относительную одинаковую концентрацию дофамина в крови, с учётом периода его полураспада (около 8 минут) и времени всасывания из брюшной полости (до 10 минут). Доза дофамина в 2,5 мкг/кг/мин рассчитывалась в зависимости от времени последующего введения (15 минут) и была равно 3,75 мкг на 100 г веса крыс, а общий объем, с физиологическим раствором, составляла 0,4 мл, что с учетом веса крыс от 140 до 180 г был 0,6–0,8 мл. Контрольным крысам в аналогичных условиях и в таком же объеме внутрибрюшинно вводили физраствор.

Ранее мы проводили исследования водовыделительной функции почек у крыс при их острой недостаточности в условиях спонтанного диуреза, но так как в клинике введение дофамина осуществляется внутривенно капельно со значительным количеством физиологического раствора, то для максимального приближения к условиям клиники все наши исследования мы проводили при водной нагрузке, а для того чтобы не пришлось много раз делать внутрибрюшинные инъекции, исследовали только второй час после нагрузки.

Для исследования водовыделительной функции почек в плазме крови и моче методом Поппера определяли содержание эндогенного креатинина [3] для последующего расчета скорости клубочковой фильтрации и канальцевой реабсорбции воды как основных процессов мочеобразования [4]. Уровень мочевины в плазме крови и в моче определяли тиоземикарбазидным методом наборами фирмы «Лакхема». О степени протеинурии судили по методу Лоури, а по содержанию общего белка в крови – по биуретовой реакции [3]. Объемную скорость почечного кровотока определяли инвазивным способом с помощью ультразвукового флуометра Transonic NT 313 (США).

О морфологической характеристике почек судили после их фиксации, изготовления мазков (толщина срезов 7–8 мкм, окраска гематоксилин-эозином) и световой микроскопии (увеличение в 600 и 1500 раз) с фотографированием препаратов.

Опыты проводили в соответствии с приказом Минздравсоцразвития России № 708н от 23 августа 2010 г. «Об утверждении Правил лабораторной практики» в условиях водного баланса, то есть крысы не были ни обезвожены, ни гипергидротированы. Полученные результаты статистически обрабатывались с помощью компьютерной программы «GraphPad Prism 5.03», степень достоверности параметрического метода сравнения средних величин оценивалась по t-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Проведенные морфологические исследования почек контрольных крыс, получавших физиологический раствор, так и животных, которым вводили дофамин, не выявили изменений как в структурах нефрона (в гломерулах, в канальцах и собирательных трубочках), так и в сосудах микроциркуляции. В канальцах и коркового, и мозгового веществ отсутствовала как рыхлость, так и сжатость, но эпителиоциты были плотно упакованы, перикарионы компактны, ядра мономорфные, а просветы узкие и свободны. Забой крыс проходил в спонтанном состоянии без водной нагрузки, но после 4-х кратного внутрибрюшинного введения физиологического раствора в объеме, аналогичной дофамину.

Через две недели после введения экспериментальным крысам глицерина проведенная световая микроскопия почек выявила застой в микроциркуляции венозного сектора интерстиции с очагами мелких кровоизлияний и многочисленными лимфоцитарно-гистиоцитарными инфильтратами, разнокалиберность клубочков – от сморщенных до увеличенных, с наличием в них эритроцитарных стазов и мелких кровоизлияний. Мезангиальные клетки в большинстве клубочков набухшие, а некоторых из них на фоне распада отдельных капиллярных сегментов отмечались зияния и пустоты. Эндотелий капсулы набухший, но просвет большинства свободен. В извитых канальцах коркового вещества отмечались дистрофические изменения с набуханием эпителиоцитов и наличием деструктивно-зернистых перикарионов. Эпителий канальцев мозгового вещества стал уплощен с уплотнением перикарионов, сужением просветов и наличием в них белковых слепков. В отдельных препаратах наблюдались эксудативная гломерулопатия и острый канальцевый некроз, то есть картина острой почечной недостаточности, что было обусловлено введением глицерина.

Изучение функционального состояния почек крыс, получавших дофамин, показало, что внутрибрюшинное введение этого катехоламина на высоте водной нагрузки способствовало достоверному ($p < 0,001$) повышению на 53,5 % диуреза, который за второй час у контрольных крыс был $1,72 \pm 0,11$ мл/час/100г, а дофаминовых $2,64 \pm 0,14$ мл/час/100г. При этом

диурез оставался повышенным на 26,8 % и за следующий час ($0,67 \pm 0,05$ мл/час/100г – контроль, $0,85 \pm 0,07$ мл/час/100г – дофамин, $p < 0,05$).

Расчет основных процессов мочеобразования показал, что повышение диуреза было обусловлено ускорением клубочковой фильтрации ($p < 0,001$), в то время как канальцевая реабсорбция воды осталась без изменений (табл.1). При этом увеличение диуреза и клубочковой фильтрации были соразмерными – на 53,5 % и 52,8 % соответственно.

Усиление клубочковой фильтрации было вызвано изменением объема почечного кровотока, которую мы исследовали инвазивно с помощью ультразвукового флуометра после четвертого внутрибрюшинного введения дофамина. У контрольных крыс этот показатель был равен $9,85 \pm 0,64$ мл/мин, а у опытных – $14,69 \pm 1,12$ мл/мин ($p < 0,001$).

Так как при почечной недостаточности содержание белка в моче – один из основных показателей патологии, то прежде чем изучать влияние дофамина при острой почечной недостаточности на степень протеинурии, логично посмотреть его эффект на содержание белка в моче. Исследование влияния дофамина на обмен и обработку белка в почках показало, что если судить о степени протеинурии, то она стала меньше, чем у контрольных крыс ($0,076 \pm 0,006$ мг/мл – контроль, $0,052 \pm 0,004$ мг/мл, $p < 0,01$), но если рассчитывать экскрецию белка, то никаких отличий по сравнению с контролем не отмечалось (табл.1).

В плазме крови уровни общего белка ($62,86 \pm 2,25$ г/л – контроль, $63,32 \pm 3,45$ г/л – опыт), креатинина ($70,88 \pm 2,92$ мкмоль/л – контроль, $69,85 \pm 3,75$ мкмоль/л – опыт) и мочевины ($4,56 \pm 0,28$ ммоль/л – контроль, $4,83 \pm 0,37$ ммоль/л – опыт) не изменились после введения дофамина, который не оказал влияния и на экскрецию с мочой креатинина и мочевины.

Таким образом, внутрибрюшинное введение у крыс линии Вистар дофамина в дозе 2,5 мкг/кг/мин в течение одного часа повышает объём почечного кровотока, скорость клубочковой фильтрации и водный диурез, но не влияет на канальцевую реабсорбцию воды, содержание креатинина, мочевины и общего белка в плазме крови и их выделение с мочой.

Исследования у крыс после введения им глицерина начали через три дня, а затем повторили в конце первой и второй недели, то есть проводили в период острого поражения. В результате чего было выявлено, что на третий день водный диурез за второй час снизился на 18,4 % и это имело достоверно отличие от контроля (табл.1). Через неделю количество выделенной мочи стало еще меньше – на 27,4 % ($p < 0,002$), и к концу второй недели, по сравнению с контролем, снижение диуреза было почти в два раза (на 49,3 %, $p < 0,001$) (табл. 1).

Определение креатинина показало нарастающее повышение его содержания в плазме крови ($75,82 \pm 2,55$ мкмоль/л – через три дня, $79,84 \pm 3,08$ мкмоль/л, $p < 0,05$ – через одну неделю и $87,18 \pm 3,49$ мкмоль/л, $p < 0,01$ – через две недели), с одновременным уменьшением экс-

креции, что способствовало снижению скорости клубочковой фильтрации, при неменяющейся канальцевой реабсорбции воды (табл.1).

Уменьшение гломерулярной фильтрации было обусловлено снижением объемной скорости кровотока ($7,25 \pm 0,55$ мл/мин, $p < 0,05$ – через три дня; $6,85 \pm 0,74$ мл/мин, $p < 0,01$ – через одну неделю; $6,16 \pm 0,58$ мл/мин, $p < 0,002$ – через две недели).

Таблица 1

Влияние дофамина на водный диурез, клубочковую фильтрацию, канальцевую реабсорбцию воды и протеинурию у крыс с острой почечной недостаточностью

Условия опыта	Стат. показат.	Диурез (мл/час/100г)	Клубочковая фильтрация (мл/час/100г)	Канальцевая реабсорбция (%)	Экскреция белка (мг/час/100г)
Контроль	M \pm m // n	1,72 \pm 0,11 // 18	18,69 \pm 1,68	90,79 \pm 0,29	0,13 \pm 0,01 // 17
Дофамин	M \pm m n // p	2,64 \pm 0,14 14 // <0,001	28,57 \pm 1,93 <0,001	90,75 \pm 0,36 >0,1	0,14 \pm 0,02 // 13 >0,1
ОСТРАЯ ПОЧЕЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ					
Через 3 дня	M \pm m n // p	1,4 \pm 0,1 26 // <0,05	13,64 \pm 1,19 <0,05	89,74 \pm 0,45 >0,1	0,18 \pm 0,02 19 // <0,05
Через 1 неделю	M \pm m n // p	1,25 \pm 0,09 19 // <0,002	11,57 \pm 0,96 <0,002	89,19 \pm 0,49 >0,1	0,23 \pm 0,02 14 // <0,001
Через 2 недели	M \pm m n // p	0,89 \pm 0,06 14 // <0,001	8,12 \pm 0,64 <0,001	89,05 \pm 0,37 >0,1	0,37 \pm 0,04 11 // p<0,001
ОСТРАЯ ПОЧЕЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ + ДОФАМИН					
Через 3 дня	M \pm m n // p	1,58 \pm 0,1 19 // >0,1	15,54 \pm 1,61 >0,1	89,84 \pm 0,39 >0,1	0,17 \pm 0,03 17 // <0,05
Через 1 неделю	M \pm m n // p	1,49 \pm 0,11 13 // >0,05	13,97 \pm 1,49 >0,05	89,17 \pm 0,51 >0,1	0,2 \pm 0,03 12 // <0,001
Через 2 недели	M \pm m n // p	1,18 \pm 0,09 11 // <0,001	10,25 \pm 0,92 <0,001	88,48 \pm 0,46 >0,05	0,29 \pm 0,05 9 // p<0,001

В варианте эксперимента введения крысам с острой почечной недостаточностью дофамина, снижение диуреза через три дня после инъекции глицерина по сравнению с контролем было на 8,2 %, в то время как у крыс без дофамина уменьшение было на 18,6 % и имело достоверное ($p < 0,05$) отличие. Тенденция к снижению количества мочи усилилась в конце первой недели, но лишь только в опытах, когда с момента создания модели почечной недостаточности прошло две недели, отличие приобрело достоверный характер (табл.1).

Отмеченные изменения диуреза под влиянием дофамина были обусловлены адекватными изменениями объема почечного кровотока и скорости клубочковой фильтрации (табл.1), снижение которых было в меньшей степени. Канальцевая реабсорбция воды не менялась. Меньше стала и степень протеинурии, особенно в конце второй недели (табл. 1).

Если проводить сравнение результатов почечной недостаточности и полученных после введения модельным крысам дофамина, то можно отметить, что используемый нами катехоламин предотвратил снижение диуреза на 12,8 %, на 19,2 % и 32,5 % ($p < 0,05$) в опытах на третий день, в конце первой и второй недели соответственно. То есть эффект дофамина на повышение сниженного диуреза при острой почечной недостаточности в большей степени проявляется не в первые дни патологии, а позже, возможно и при хронической почечной недостаточности.

Проведенные в конце второй недели морфологические исследования почек крыс с острой почечной недостаточностью и получавших дофамин показали, что особых изменений не произошло, и гистологическая картина почек осталась прежней, за исключением усиления микроциркуляции.

Таким образом, внутрибрюшинное введение крысам линии Вистар дофамина в дозе 2,5 мкг/кг/мин в течение одного часа повышает объём почечного кровотока, скорость клубочковой фильтрации и водный диурез, но не влияет на канальцевую реабсорбцию воды, содержание креатинина, мочевины и общего белка в плазме крови и их выделение с мочой. Однократное в/м введение крысам глицерина в дозе 0,8 мл/100 г вызывает острую почечную недостаточность с экссудативной гломерулопатией и дистрофическо-некротическими изменениями канальцев почек, протеинурию и снижение диуреза в результате угнетения почечного кровотока и скорости клубочковой фильтрации, повышает содержание креатинина в плазме крови. Введение на фоне острой почечной недостаточности дофамина уменьшает функциональные проявления патологии, но не оказывает влияние на морфологические изменения почек.

Список литературы

1. Борисова И.В., Штрыголь С.Ю. Ренальные и нейропротекторные эффекты перфторана на модели токсического поражения почек у крыс // Биомедицинский журнал. – 2004. – Т.5. – С.136-139.
2. Обрезан А.Г., Шуленин С.Н. Диуретики в терапии хронической сердечной недостаточности / ФАРМиндекс-Практик, 2004. – Вып.6. – С.3-11.
3. Рябов С.И., Наточин Ю.В., Бондоренко Б.Б. Диагностика болезней почек. – Л.: Медицина, 1979. – 256 с.
4. Шюк О. Функциональное исследование почек. – Прага: Авиценум, 1975. – 333 с.
5. Burton Ch.J, Tomson Ch.R.V. Can the use of low-dose dopamine for treatment of acute renal failure be justified? // Postgrad Med J. – 1999. – Vol.75. – P.269-274.

6. Chugh G., Pokkunuri I., Asghar M. Renal dopamine and angiotensin II receptor signaling in age-related hypertension // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2013. – Vol. 304, N.1. – F.1–7.
7. Harris R.C., Zhang M. Dopamine, the Kidney, and Hypertension // *Curr Hypertens Rep.* – 2012. – Vol.14, N.2. – P.138-143.
8. Jose P.A., Soares-da-Silva P., Eisner G.M., et al. Dopamine and G protein-coupled receptor kinase 4 in the kidney: role in blood pressure regulation // *Biochim Biophys Acta.* – 2010. – Vol.1802, N.12. – P.1259-1267.
9. O'Leary M.J., Bihari D.J. There are no magic bullets – just high quality intensive care // *British Medical Journal.* – 2001. – Vol. 322. – P.1437-1439.
10. Salomone L.J., Howell N.L., McGrath H.E., et al. Intrarenal dopamine D₁-like receptor stimulation induces natriuresis via an angiotensin type-2 receptor mechanism // *Hypertension.* – 2007. – Vol. 49, N.1. – P.155-161.

Рецензенты:

Дзугкоева Ф.С., д.м.н., профессор, заместитель директора Института биомедицинских исследований Владикавказского научного центра РАН и Правительства Республики Северная Осетия-Алания, г. Владикавказ.

Брин В.Б., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии Северо-Осетинской государственной медицинской академии, г. Владикавказ.