

ВЛИЯНИЕ ДОФАМИНА НА ПОЧЕЧНУЮ ОБРАБОТКУ НАТРИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Джиоев И.Г.¹, Бедоева З.Р.¹, Кабоева Б.Н.¹, Батагова Ф.Э.^{1,2}, Еналдиев Г.Н.¹,
Цуциева А.Л.¹

¹ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России, Владикавказ, e-mail: inal44@mail.ru;

²ФГБУН Институт биомедицинских исследований Владикавказского научного центра РАН, Владикавказ

Исследовалось влияние дофамина на почечную обработку натрия в условиях экспериментальной острой почечной недостаточности, которая создавалась на 40 крысах линии Вистар путем в/м введения глицерина в дозе 8,0 мл/кг, вызывающей (через 3 дня, одну и две недели) усиление экскреции натрия, несмотря на уменьшение его фильтрационного заряда. Внутривентриальное введение контрольным крысам дофамина в дозе 37,5 мкг/кг через каждые 15 минут в течение одного часа на высоте водной нагрузки не оказывает влияния на содержание натрия в плазме крови, но существенно усиливает его экскрецию, вследствие повышения фильтрационного заряда и снижения канальцевой реабсорбции. А введение дофамина крысам с острой почечной недостаточностью предотвращает угнетающий эффект нефротоксиканта на фильтрационный заряд натрия, сохраняя натрийуретическое действие.

Ключевые слова: дофамин, глицерин, почечная недостаточность, экскреция натрия.

THE INFLUENCE OF DOPAMINE ON RENAL SODIUM TREATMENT WITH IN EXPERIMENTAL ACUTE RENAL FAILURE

Dzhioev I.G.¹, Bedoeva Z.R.¹, Kaboeva B.N.¹, Batagova F.E.^{1,2}, Enaldiev G.N.¹,
Tsutsiyeva A.L.¹

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

²Institute of Biomedical Research of Vladikavkaz scientific center of the Russian Academy of Sciences, Vladikavkaz

The research is founded an effect of dopamine on renal sodium processing in experimental acute renal failure, which was caused in group of 40 Wistar line rats by the i/m injection of glycerol in a dose of 8.0 ml/kg, that causes increasing (3 days, one and two weeks) in sodium excretion in spite of decreasing of its filtration power. Intraperitoneal injection of dopamine in control group of rats at a dose of 37.5 mg/kg every 15 minutes during one hour at a height of water loading has no effect on the sodium content in the blood plasma, but it significantly increases the excretion from increasing filtration charge and reducing the tubular reabsorption filtration. And the injection of dopamine in control group of rats diseased an acute renal failure, prevents the inhibitory effect by nephrotoxic agent on sodium filtration charge, retaining natriuretic effect.

Keywords: dopamine, glycerin, kidney insufficiency, excretion of sodium.

В эпоху компьютерных технологий, позволяющих проводить лечение больных дистанционно, совершенствования, имеющихся и развития новых методов диагностики, все равно отмечается рост заболеваемости по некоторым нозологическим формам, в том числе и по болезням почек, по которым, по данным ВОЗ, страдает до 6 % населения. Это связано не только с ухудшением экологии, но и бессимптомностью начала течения ренальных болезней, что приводит к поздней обращаемости за медицинской помощью и упускается время благоприятного исхода. Одним из лекарственных препаратов, находящих применение при лечении, когда, вследствие падения скорости клубочковой фильтрации, диуретики не оказывают должного мочегонного эффекта, может быть дофамин, который оказывает расслабляющее влияние на гладкую мускулатуру сосудов почек, в результате чего в них

уменьшается сопротивление и, соответственно, увеличивается кровоток и скорость фильтрацию. Кроме того, дофамин, в зависимости от уровня в крови натрия, оказывает ингибирующее (при высоком содержании) или стимулирующее (при низком уровне) влияние на ренин-ангиотензин-альдостероновую систему, и соответственно на диурез и эпителиальный транспорт натрия, то есть экскрецию [9]. При этом надо помнить о дозе вводимого препарата, так как применение его по 10 мкг/кг/мин или больше вызывает стимуляцию α_1 -адренорецепторов, с повышением общего периферического сосудистого сопротивления и частоты сердечных сокращений, сужением почечных сосудов, снижением почечного кровотока, скорости клубочковой фильтрации и образования мочи. Отсюда очевидна целесообразность изучения влияния дофамина при различных патологических состояниях почек, в частности при их остром токсическом поражении.

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния дофамина на ионовую делительную функции почек, в частности натрия, у крыс с экспериментальной острой почечной недостаточностью.

Материалы и методы исследований

Для решения поставленной цели решались следующие задачи: первое – исследование влияния дофамина на почечную обработку натрия у контрольных крыс; второе – создание экспериментальной модели токсической почечной недостаточности и изучение параметров обмена натрия в почках в течение двух недель (через три дня, в конце первой и второй недели после введения нефротоксиканта); третье – выяснение эффектов дофамина на обмен натрия; четвертое – изучение влияния дофамина на почечную обработку натрия у крыс с острой почечной недостаточностью.

Модель почечной недостаточности по G. Greven создавали на 40 крысах линии Вистар путем внутримышечного введения, после предварительного, в течение суток, лишения пищи и воды, по 0,8 мл/100г 50,0 % глицерина [1]. Введение всей дозы глицерина одномоментно часто сопровождалось в первые два-три дня гибелью большей части крыс (6–7 из десяти). Это, очевидно, могло быть вызвано тем, что глицерин, как осмотически активное соединение, в месте инъекции повышает осмотическое давление, куда из окружающего интерстиция поступает вода, растягивая ткани и вызывая различные изменения сосудов – от сужения до разрывов. Поэтому для уменьшения таких негативных последствий мы разделили вводимый объем глицерина на две части – одну в правую заднюю лапу, а другую – в левую. При таком способе введения из 40 крыс в течение первых дней погибло только 4, соответственно в эксперимент были взяты 36 животных, которые были разделены на две группы – 16, получавших физиологический раствор и 20 экспериментальных, которым вводили дофамин.

Доза дофамина, вводимого крысам, была аналогично применяемой почечным больным (по 2,5 мкг/кг/мин, внутривенно капельном с 400 мл физиологического раствора или глюкозой). А так как такой объем жидкости у больных может способствовать развитию водного диуреза, то в наших опытах, для создания условий близких к клинике, мы через зонд в желудок вводили крысам водопроводную воду в объеме 5 % массы их тела, а затем через один час, то есть на высоте водной нагрузки, инсулиновым шприцом внутрибрюшинно вводили дофамина, исходя из того, что период полураспада дофамина равен 3–4 минутам, а время всасывания из брюшной полости составляет 10–12 минут, поэтому через каждые 15 минут в течение одного часа четыре раза вводили 37,5 мкг/кг препарата (2,5 мкг/кг/мин за 15 мин составит 37,5 мкг/кг) с физиологическим раствором в общем объеме по 0,2 мл.

Таким образом, общее количество введенного за один час дофамина было 150,0 мкг. Вместе с тем имеются данные о введении дофамина в другой дозе и другим способом (наркотизированным крысам по 1 мг/кг, однократно п/к [3]). Контрольным крысам четыре раза внутрибрюшинно вводили физиологический раствор по 0,2 мл.

Опыты на крысах с острой почечной недостаточностью ставились трижды: первые через три дня после введения глицерина, а затем в конце первой и второй недель. Во время экспериментов крыс на три часа помещали в специальные большие пластиковые воронки для сбора мочи, отдельно за каждый час, в которой, а также в плазме крови, методом пламенной фотометрии определяли содержание натрия, с последующим расчетом его фильтрационного заряда, канальцевой реабсорбции, экскретируемой фракции и экскреции с мочой. Также методом Поппера спектрофотометрически определяли уровень эндогенного креатинина в плазме крови и моче для расчета скорости клубочковой фильтрации, используемого, наравне с диурезом, в формуле фильтрационного заряда натрия [4]. Крыс из экспериментов выводили мгновенной декапитацией в состоянии обезболивания внутрибрюшинным введением анестетика общего действия золетила в дозе 1,0 мл/кг.

За 30–40 минут до начала опытов из клеток, где находились крысы, убирали поилки с водой. Это позволяло предотвратить как возможное обезвоживание, так и гипергидратацию животных. 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».

Полученные результаты статистически обрабатывались с помощью программы «GraphPad Prizm 5.06», степень достоверности оценивалась по t-критерию Стьюдента (параметрический метод сравнения средних величин).

Результаты и их обсуждение

В проведенных нами ранее исследованиях [1] было показано, что через две недели после введения крысам глицерина почки морфологически характеризовались наличием в некоторых клубочках нефронов распада отдельных капиллярных сегментов с мелкими кровоизлияниями, набуханием эндотелия капсул и мезангия, а также разной выраженности дистрофических изменений в извитых канальцах – от уплощения эпителия с уплотнением перикарионов, сужением просветов и наличием в них белковых слепков в мозговом веществе, до их разрежения и расширения просветов мочевых протоков у верхушек пирамид. В интерстиций отмечался межклеточный кальциноз, застой в венозном секторе с очагами мелких кровоизлияний, многочисленные инфильтраты из лимфоцитарно-гистиоцитарных элементов при частичной деструкции канальцев, расположенных рядом. В отдельных препаратах имелась экссудативная гломерулопатия и канальцевый некроз.

Характерная картина токсического поражения почек после введения глицерина сопровождалась такими функциональными изменениями, как протеинурия, повышение содержания креатинина в плазме крови, снижение водного диуреза в результате уменьшения скорости клубочковой фильтрации обусловленного ослаблением объемной скорости почечного кровотока. Внутривентриальное введение в течение одного часа 150,0 мкг/кг дофамина в условиях почечной недостаточности способствовало нарастанию сниженного диуреза вследствие ускорения клубочковой фильтрации и почечного кровотока, особенно через две недели после введения глицерина, а степень протеинурии и содержание креатинина в плазме крови лишь незначительно уменьшались [2].

Изучение влияния дофамина на содержание натрия в плазме крови и его обмена в почках показало, что, если уровень иона в крови у контрольных крыс, которым четыре раза в течение одного часа внутривентриально вводили по 0,2 мл физиологического раствора, был $134,59 \pm 3,47$ ммоль/л, то инъекция катехоламина практически не изменила его ($132,82 \pm 2,92$ ммоль/л), но существенно усилила его экскрецию, которая превосходила контроль в 1,9 раза. Усиление экскреции иона было обусловлено повышением его фильтрационного заряда и экскретируемой фракции на фоне снижения канальцевой реабсорбции (таблица). При этом эффект дофамина отмечался не только во время введения, но и на третьем часе, когда препарат уже не вводили, и в этом случае натрийурез был больше контроля в 1,4 раза, но уже только за счет сохранившегося увеличения фильтрационного заряда, канальцевая реабсорбция и экскретируемая фракция не отличались от контроля (таблица).

Показатели обработки натрия в почках в условиях водного диуреза у крыс контрольных и с введением дофамина, с острой почечной недостаточностью и при введении дофамина (M±m)

Время	Экскреция	Фильтрационный заряд	Канальцевая реабсорбция	Экскретируемая фракция
	мкмоль/час/100г		(%)	
Контрольные крысы				
1 час	9,78±0,75	1757,3±124,8	99,49±0,08	0,51±0,08
2 час	11,34±0,81	1982,6±151,4	99,49±0,07	0,51±0,07
3 час	9,82±0,63	1504,2±129,6	99,35±0,09	0,65±0,09
Контрольные крысы + Дофамин со второго часа				
1 час	10,26±0,89	1828,8±134,5	99,44±0,09	0,56±0,09
2 час	21,72±1,23 *	2785,4±178,2 *	99,21±0,07 *	0,79±0,07 *
3 час	13,68±0,96 *	1924,8±152,6 *	99,27±0,10	0,73±0,10
Через три дня после введения глицерина				
1 час	10,41±0,98	1575,6±125,4	99,31±0,11	0,69±0,11
2 час	12,47±1,05	1699,8±132,0	99,26±0,12	0,74±0,12
3 час	9,48±0,76	1419,5±114,6	99,19±0,09	0,81±0,09
Через три дня после введения глицерина + Дофамин со второго часа				
1 час	10,89±0,77	1560,2±123,6	99,30±0,09	0,70±0,09
2 час	18,12±1,09 #	2228,3±134,3 #	99,18±0,11	0,82±0,11
3 час	12,09±0,82	1630,5±108,6	99,26±0,07	0,74±0,07
Через 1 неделю после введения глицерина				
1 час	12,43±0,88 *	1292,8±94,7 *	99,04±0,11 *	0,96±0,11 *
2 час	14,95±0,96 *	1415,1±119,8 *	98,94±0,12 *	1,06±0,12 *
3 час	10,43±0,88	1170,5±104,6 *	99,11±0,08	0,89±0,08 *
Через 1 неделю после введения глицерина + Дофамин со второго часа				
1 час	11,98±0,85	1346,1±110,6	99,11±0,12	0,89±0,12
2 час	18,54±1,09 #	1904,7±126,3 #	99,02±0,09	0,98±0,09
3 час	12,42±0,86	1478,4±146,9	99,16±0,07	0,84±0,07
Через 2 недели после введения глицерина				
1 час	13,25±1,13 *	855,5±76,9 *	98,45±0,13 *	1,55±0,13 *
2 час	15,75±1,12 *	975,6±88,5 *	98,38±0,14 *	1,62±0,14 *
3 час	11,54±0,81 *	835,4±94,8 *	98,62±0,12 *	1,38±0,12 *
Через 2 недели после введения глицерина + Дофамин				
1 час	12,92±0,95	868,8±80,5	98,51±0,11	1,49±0,11
2 час	18,92±1,02 #	1435,4±96,5 #	98,63±0,09	1,37±0,09
3 час	13,79±0,86	1152,0±136,8	98,82±0,15	1,18±0,15

Статистически значимые (p<0,05-0,001) отличия по отношению к результатам:
* – контрольных крыс; # – с почечной недостаточностью.

Повышение фильтрационной загрузки натрия при введении дофамина, при незначительном снижении его уровня в крови было обусловлено ускорением клубочковой фильтрации, которая, как было показано ранее [2], превышала контроль на 52,8 %. Очевидно усиление первоначального процесса мочеобразования вызвано реализацией эффектов применяемого нами катехоламина через активацию связанных с G-белками D₁-дофаминовых рецепторов, которые выявляются с высокой плотностью в гладкой мускулатуре приносящих и выносящих артериол почечных клубочков, в югстагломерулярных клетках, проксимальных канальцах и собирательных трубках [6, 8]. При этом возбуждение рецепторов через аденилатциклазу приводит к подавлению повышения содержания кальция в цитоплазме гладкомышечных клеток сосудов и последующим за этим их расширением [5].

Что касается ослабления канальцевой реабсорбции натрия, то это связано не только с тем, что дофамин угнетает образование ангиотензина II и синтез альдостерона, которые оказывают стимулирующее влияние на всасывание натрия, но еще и тем, что сам дофамин тормозит реабсорбцию иона в толстом восходящем колене петли Генле, собирательных трубках и особенно в проксимальных извитых канальцах нефрона [11] в результате подавления работы Na⁺/H⁺-обменника 3 типа и активности Na⁺/K⁺-АТФ-азы, протекающие при участии аденилатциклазы А и фосфолипазы С [7]. Кроме того, дофамин активирует почечные ангиотезиновые АТ₂-рецепторы, которые вызывают вазодилатацию, угнетают реабсорбцию натрия и секрецию ренина посредством внутриклеточного каскада брадикинин-NO-цГМФ [12]. К тому же, как было показано в опытах *in vitro* [10], дофамин через D₁-рецепторы осуществляет два процесса, способствующих натрийурезу. Первое – на апикальной мембране клеток проксимальных канальцев он ингибирует Na⁺/H⁺ антипорт, который способствует поступлению натрия из первичной мочи внутрь клеток, а протон водорода удаляется из нее в мочу. Второе – в этих же клетках, но на их базолатеральной мембране активация D₁-рецепторов вызывает угнетение активности Na⁺/K⁺-АТФазы, а будет предотвращать реабсорбцию натрия и усилит его экскрецию. Активность этого фермента снижается и в клетках толстой восходящей ветви петли Генле, где осуществляется процесс реабсорбции натрия, калия и хлора, что в итоге опять усилит натрийурез.

Таким образом, четырехкратное, в течение одного часа, в условиях водной нагрузки, внутрибрюшинное введение крысам линии Вистар дофамина в дозе 2,5 мкг/кг/мин способствует натрийурезу за счет усиления фильтрационного заряда, торможения канальцевой реабсорбции и повышения экскретируемой фракции натрия.

Ионовыделительная функция почек при их остром токсическом поражении выглядела следующим образом. Через три дня после введения крысам глицерина содержание натрия в плазме крови оставалось близкими к контролю (131,18±2,89 ммоль/л). Особо не изменилась

его экскреция с мочой, кроме тенденции к повышению, хотя фильтрационный заряд начал снижаться (таблица). Причем эти небольшие изменения в основном отмечались в первые два часа после введения водной нагрузки.

Спустя неделю после введения глицерина уровень натрия в плазме крови стал меньше ($128,75 \pm 3,82$ ммоль/л), но статистическое значимое отличие от уровня контроля появилось только в конце второй недели ($126,48 \pm 2,92$ ммоль/л, $p < 0,05$). Экскреция натрия первые два часа (таблица), несмотря на снижение фильтрационного заряда, увеличилась за счет торможения канальцевой реабсорбции (за три часа в 1,2 раза). В конце второй недели отмечались аналогичные, но более выраженные изменения: трехчасовая экскреция иона превышала контроль в 1,3 раз; еще меньше стала его фильтрационная нагрузка в клубочках, а обратное всасывание натрия слабее, что и усилило экскретируемую фракцию. И судя по выявленным изменениям морфологической картины почек [1], нарушения функций могут быть связаны с поражением канальцевого аппарата нефронов. Кроме того, отличие в полученных результатах между первой и второй неделей заключается еще и в том, что изменения в отличие от контроля вначале были только за первый и второй часы, а в конце второй недели уже и за третий час (таблица).

В экспериментах при введении дофамина крысам с острой почечной недостаточностью было выявлено, что за второй час на третий день отмечался натрийурез ($18,12 \pm 1,09$ мкмоль/час/100г), превышающий контроль в 1,6 раза ($p < 0,001$), но на 16,6 % меньше ($p < 0,05$) данных, полученных после инъекции интактным животным дофамина, и на 45,3 % ($p < 0,002$) больше результатов при острой почечной недостаточности (таблица). Причиной этих колебаний экскреции натрия было: в первом случае в результате снижения канальцевой реабсорбции натрия; во втором – вследствие снижения фильтрационного заряда; в третьем – за счет того, что через почечные клубочки больше фильтровалось натрия (таблица). В одна- и двухнедельных опытах введение дофамина не оказало влияние на выделение натрия с мочой ($18,24 \pm 1,39$ мкмоль/час/100 г – в конце первой недели и $18,92 \pm 1,02$ мкмоль/час/100 г – в конце второй недели), что имело статистически значимое отличие от данных. При этом, по сравнению с результатами, полученными после введения крысам только дофамина, хоть и было снижение фильтрационного заряда натрия, но оно было статистически значимо больше, чем при острой почечной недостаточности в соответствующую неделю опытов (таблица). Таким образом, крысам с острой почечной недостаточностью внутрибрюшинное введение дофамина в течение одного часа в суммарной дозе 150 мкг/час/кг оказывало натрийуретическое действие вследствие предотвращения угнетающего эффекта введенного нефротоксиканта (глицерина) на фильтрации натрия в клубочках нефронов, то есть на его фильтрационный заряд.

Список литературы

1. Джиоев И.Г., Козаев А.В., Гагагонова Т.М., Хубулов И.Г., Клочков Д.А. Функциональные и морфологические особенности почек и состояние антиоксидантной системы при экспериментальной острой почечной недостаточности // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 9-3. – С.346-350.
2. Джиоев И.Г., Хубулов И.Г., Клочков Д.А., Батагов Ф.Э. Влияние дофамина на водовыделительную функцию почек при экспериментальной острой почечной недостаточности // *Современные проблемы науки и образования*. – 2014. – № 1; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=11858>.
3. Ландарь Л.Н., Кузьмин О.Б. О роли нейрогуморальных систем в действии дофамина на ионорегулирующую функцию почек // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2013. – Т. 76, № 6. – С. 18-22.
4. Рябов С.И., Наточин Ю.В., Бондаренко Б.Б. Диагностика болезней почек. – Л.: Медицина, 1979. – 256 с.
5. Beaulieu J.M., Gainetdinov R.R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors // *Pharmacol Rev.* – 2011. – Vol. 63, no. 1. – P. 182-217. doi: 10.1124/pr.110.002642.
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, no.1. – F.1-7.
7. Gomes P., Soares-da-Silva P. Dopamine acutely decreases type 3 Na⁺/H⁺ exchanger activity in renal OK cells through the activation of protein kinases A and C signalling cascades // *Eur J Pharmacol.* – 2004. – Vol. 488, no. 1-3. – P. 51-59.
8. Harris R.C., Zhang M. Dopamine, the Kidney, and Hypertension // *Curr Hypertens Rep.* 2012. – Vol.14, no. 2. – P.138–143.
9. Natarajan A.R., Eisner G.M., Armando I. et al. The Renin-Angiotensin and Renal Dopaminergic Systems Interact in Normotensive Humans // *J Am Soc Nephrol.* – 2016. – Vol. 27, no. 1. – P. 265-279. doi: 10.1681/ASN.2014100958.
10. Olsen N.V. Effects of dopamine on renal hemodynamics tubular function and sodium excretion in normal humans // *Dan Med Bull.* – 1998. – Vol. 45, no. 3. – P. 282-297.
11. Ricci A., Marchal-Victorion S., Bronzetti E. et al. Dopamine D₄ receptor expression in rat kidney: evidence for pre- and postjunctional localization // *J Histochem Cytochem.* – 2002. – Vol. 50, no. 8. – P. 1091-1096.
12. Siragy H.M. The angiotensin II type 2 receptor and the kidney // *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* – 2010. – Vol. 11, no. 1. – P. 33-36. doi: 10.1177/1470320309347786.