

ФУНКЦИИ ПОЧЕК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭНДОГЕННОЙ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИИ НА ФОНЕ ГИПЕРКАЛЬЦИЕМИИ

Джиоев И.Г.¹, Кочиева Д.М.¹, Хубулов И.Г.¹, Ремизов О.В.¹, Ваниев И.А.¹

¹ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владикавказ, e-mail: inal44@mail.ru

Целью работы было выяснение состояния основных процессов мочеобразования при эндогенной гиперпролактинемии в условиях гиперкальциемии. Опыты ставили на 60 белых лабораторных крысах линии Вистар, на которых вначале проводили контрольные исследования, а затем разделили на равные по количеству крыс три группы. На одних создавали модель эндогенной гиперпролактинемии (первая группа) путем внутримышечного ежедневного введения в течение 21 дня нейролептика галоперидола в дозе 0,2 мг/100 г. На крысах второй группы создавали модель гиперкальциемии, для чего в течение 21 дня перорально вводили витамин D₃ в дозе 5000 МЕ/100 г (аквадетрим). Крысам третьей группы вводили одновременно галоперидол и аквадетрим. В плазме крови и моче определяли содержание креатинина, кальция и общего белка; рассчитывали спонтанный диурез, скорость клубочковой фильтрации и объем канальцевой реабсорбции воды. Опыты проводили на следующий день после одно-, двух- и трехнедельного введения. При введении галоперидола отмечались снижение диуреза за счет усиления канальцевой реабсорбции воды, гипокальциемия с гиперкальцийурезом. При гипervитаминозе D наблюдались повышение в крови содержания кальция и креатинина; снижение диуреза вначале в результате усиления всасывания воды в тубулярном аппарате почек, а затем и уменьшения клубочковой фильтрации; протеинурия и усиление выделения кальция с мочой. При совместном введении галоперидола и аквадетрима имели место более выраженное снижение количества выделенной мочи, протеинурия, повышение содержания кальция и креатинина в крови, кальцийурез.

Ключевые слова: функции почек, спонтанный диурез, эндогенная гиперпролактинемия, гипervитаминоз D, гиперкальциемия, протеинурия.

WATER RELEASE FUNCTION OF KIDNEYS IN EXPERIMENTAL ENDOGENOUS HYPERPROLACTINEMIA ON THE BACKGROUND OF HYPERCALCEMIA

Dzhioev I.G.¹, Kochieva D.M.¹, Khubulov I.G.¹, Remizov O.V.¹, Vaniev I.A.¹

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

The aim of the work was to clarify the state of the main processes of urine formation in endogenous hyperprolactinemia in conditions of hypercalcemia. The experiments were carried out on 60 white Wistar laboratory rats, on which control studies were first carried out, and then they were divided into three groups of equal number of rats. In some, a model of endogenous hyperprolactinemia (first group) was created by i / m daily administration of the antipsychotic haloperidol at a dose of 0.2 mg / 100 g for 21 days. vitamin D₃ at a dose of 5000 IU / 100g (aquadetrim). Rats of the third group were injected simultaneously with haloperidol and aquadetrim. The content of creatinine, calcium and total protein in blood plasma and urine was determined, spontaneous diuresis, glomerular filtration rate and volume of tubular water reabsorption were calculated. The experiments were carried out the next day after one-, two- and three-week administration. With the introduction of haloperidol, there was a decrease in diuresis due to increased tubular reabsorption of water, hypocalcemia with hypercalciuresis. With hypervitaminosis D, there was an increase in blood calcium and creatinine, a decrease in urine output, first as a result of increased water absorption in the tubular apparatus of the kidneys, and then a decrease in glomerular filtration, proteinuria and increased urinary calcium excretion. With the combined administration of haloperidol and aquadetrim, there was a more pronounced decrease in the amount of excreted urine, proteinuria, an increase in the content of calcium and creatinine in the blood, and calcium urine output.

Keywords: renal function, spontaneous diuresis, endogenous hyperprolactinemia, hypervitaminosis D, hypercalcemia, proteinuria.

Повышение в крови уровня пептидного гормона пролактина, синтезирующегося в пролактотрофах передней доли гипофиза, является показателем гипоталамо-гипофизарной патологии, сопровождающейся бесплодием, нарушениями менструального цикла,

галактореей, снижением либидо и потенции. Особенно значимые изменения отмечаются при повышении уровня так называемого малого пролактина – изоформы, имеющей высокую биологическую активность и способность связываться с рецепторами [1, 2].

Секреция пролактина носит пульсирующий характер с превалированием в период сна [3, 4]. Факторами, регулирующими выделение пролактина, служат ингибиторы, основными из них являются дофамин и гамма-аминомасляная кислота, а стимуляторами – серотонин, рилизинг-факторы гипоталамуса, стимулирующие тропные гормоны аденогипофиза [5, 6]. Дофамин воздействует через находящиеся на мембране лактотрофов D₁- и D₂-рецепторы, первые из которых стимулируют аденилатциклазу, а вторые – угнетают. Дофамин, стимулируя D₂-рецепторы и снижая внутриклеточный цАМФ, уменьшает синтез и секрецию пролактина и тормозит деление клеток и синтез ДНК, что в конечном счете запускает процесс слияния лизосом с секреторными гранулами; в результате многократного аутофагирования накапливается липофусцин, который как пигмент старения ускоряет апоптоз и гибель лактотрофов [7, 8].

С момента радиоиммунологического определения в 1971 г. содержания пролактина в крови было показано, что гиперпролактинемия, по данным различных авторов, встречается с частотой от 6 до 50 случаев на 100 тыс. человек как у женщин, в первую очередь, так и у мужчин (наиболее частой причиной может быть пролактинома в гипофизе). Вместе с тем большинство научных работ при гиперпролактинемии посвящены гинекологическим вопросам, бесплодию, связи с метаболическим синдромом и сахарным диабетом, а информации о влиянии на функции почек очень мало.

Целью работы было экспериментальное выяснение состояния основных процессов мочеобразования при эндогенной гиперпролактинемии в условиях гиперкальциемии.

Материал и методы исследования

Для выяснения интересующих нас вопросов были поставлены опыты на 60 половозрелых лабораторных крысах линии Вистар примерно одинакового веса (от 180 до 205 г, со средним весом 195 ± 12 г), на которых для меньшего их падежа изначально проводили контрольные исследования по изучению водовыделительной функции почек, а затем разделили на равные по количеству крыс три группы. На животных первой группы создавали модель эндогенной гиперпролактинемии путем внутримышечного ежедневного введения в течение 21 дня (трех недель) нейролептика галоперидола в дозе 0,2 мг/100 г [9]. Галоперидол способен блокировать постсинаптические дофаминергические D₂-рецепторы, расположенные в мезолимбической системе, гипоталамусе и в экстрапирамидной системе, а длительный его прием, вследствие того, что он легко проходит через барьеры и накапливается в передней доле

гипофиза, вызывая повышение синтеза и секреции пролактина и снижение гонадотропных гормонов [10].

На крысах второй группы создавали модель гиперкальциемии. Для этого также в течение 21 дня им перорального (через зонд в желудок) вводили витамин D₃ в дозе 5000 МЕ/100 г в виде аквадетрима [11]. Крысам третьей группы одновременно вводили галоперидол и аквадетрим в указанных дозах.

Во время проведения экспериментов крысы имели свободный доступ к воде и пище, состоящей из злаков, хлеба, овощей, дважды в неделю им давали вареные яйца.

Для сбора мочи в спонтанном состоянии крыс на 6 часов помещали в мочесборники, через которые вся выделившаяся моча в чистом виде поступала в отдельную емкость. В собранной моче, а также в плазме крови спектрофотометрически (Unico 2800) определяли содержание эндогенного креатинина, общего белка и кальция [12]. Расчетными показателями служили диурез, клубочковая фильтрация, канальцевая реабсорбция воды и экскреция кальция с мочой.

Введение крысам галоперидола и аквадетрима как в отдельности, так и вместе, хоть и были ежедневно в течение 21 дня, но мочу в спонтанном состоянии собирали 3 раза – на следующий день после одно-, двух- и трехнедельного введения.

Полученные в ходе опытов результаты подвергались статистической обработке (программа «GraphPad Prism 8.41») с использованием параметрического метода сравнения средних величин (t-критерий Стьюдента).

Работа с животными, постановка на них опытов, выведение из них и последующая утилизация всегда проводились согласно приказам «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» (МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г.) и «Ветеринарно-санитарные правила сбора, утилизации и уничтожения биологических отходов» (Минсельхоз РФ № 400 от 16.08.2007 г.).

Результаты исследования и их обсуждение

Недельный эксперимент показал, что введение галоперидола не оказало особого влияния на процесс мочеобразования, хотя диурез немного снизился, несмотря на тенденцию к ускорению клубочковой фильтрации, но одновременно усилилась и канальцевая реабсорбция воды (табл.). Не изменилась и протеинурия. Введение аквадетрима вызвало достоверное ($p < 0,05$) уменьшение количества выделившейся мочи, что было обусловлено усилением обратного всасывания воды. При этом степень протеинурии, хоть и повысилась на 25%, но без достоверного отличия. Совместное введение галоперидола и аквадетрима способствовало статистически значимому ($p < 0,05$) повышению содержания общего белка в

моче, а диурез снизился в большей степени, что также было вызвано усилением канальцевой реабсорбции воды.

Основные процессы мочеобразования и степень протеинурии

Исследуемые показатели	Стат. показ.	Диурез (мл/час/100 г)	Клубочковая фильтрация (мл/час/100 г)	Канальцевая реабсорбция (%)	Степень протеинурии (мг/мл)
Интактные крысы	M±m	0,17±0,012	14,73±1,21	98,85±0,08	0,08±0,009
Недельное введение					
Галоперидол	M±m p	0,15±0,01	17,16±1,08	99,11±0,09	0,09±0,008
Аквадетрим	M±m p	0,14±0,009 < 0,05	16,95±1,36	99,18±0,07 < 0,02	0,10±0,008
Галоперидол и аквадетрим	M±m p	0,13±0,01 < 0,02	14,05±1,22	99,09±0,008 < 0,05	0,12±0,01 < 0,05
Двухнедельное введение					
Галоперидол	M±m p	0,13±0,008 <0,01	17,64±1,44	99,26±0,1 < 0,01	0,11±0,015
Аквадетрим	M±m p	0,125±0,01 <0,01	13,41±0,87 <0,02	99,07±0,08 <0,05	0,12±0,01 <0,01
Галоперидол и аквадетрим	M±m p	0,11±0,008 < 0,001	15,02±1,33	99,26±0,11 < 0,001	0,14±0,009 < 0,001
Трехнедельное введение					
Галоперидол	M±m p	0,12±0,007 <0,001	19,03±1,52 < 0,05	99,37±0,12 < 0,001	0,09±0,01
Аквадетрим	M±m p	0,10±0,012 < 0,001	11,24±0,94 < 0,001	99,12±0,06 < 0,02	0,15±0,01 < 0,001
Галоперидол и аквадетрим	M±m p	0,08±0,01 < 0,001	13,75±1,28	99,41±0,11 < 0,001	0,17±0,02 < 0,001
Примечание: p – значимость различий данных с введением галоперидола и аквадетрима и по отношению к результатам интактных крыс					

Двухнедельное ежедневное введение галоперидола уже способствовало статистически значимому ($p < 0,05$) уменьшению диуреза вследствие большего обратного всасывания воды в тубулярном аппарате, клубочковая фильтрация при этом не изменилась, так же как и выделение белка с мочой.

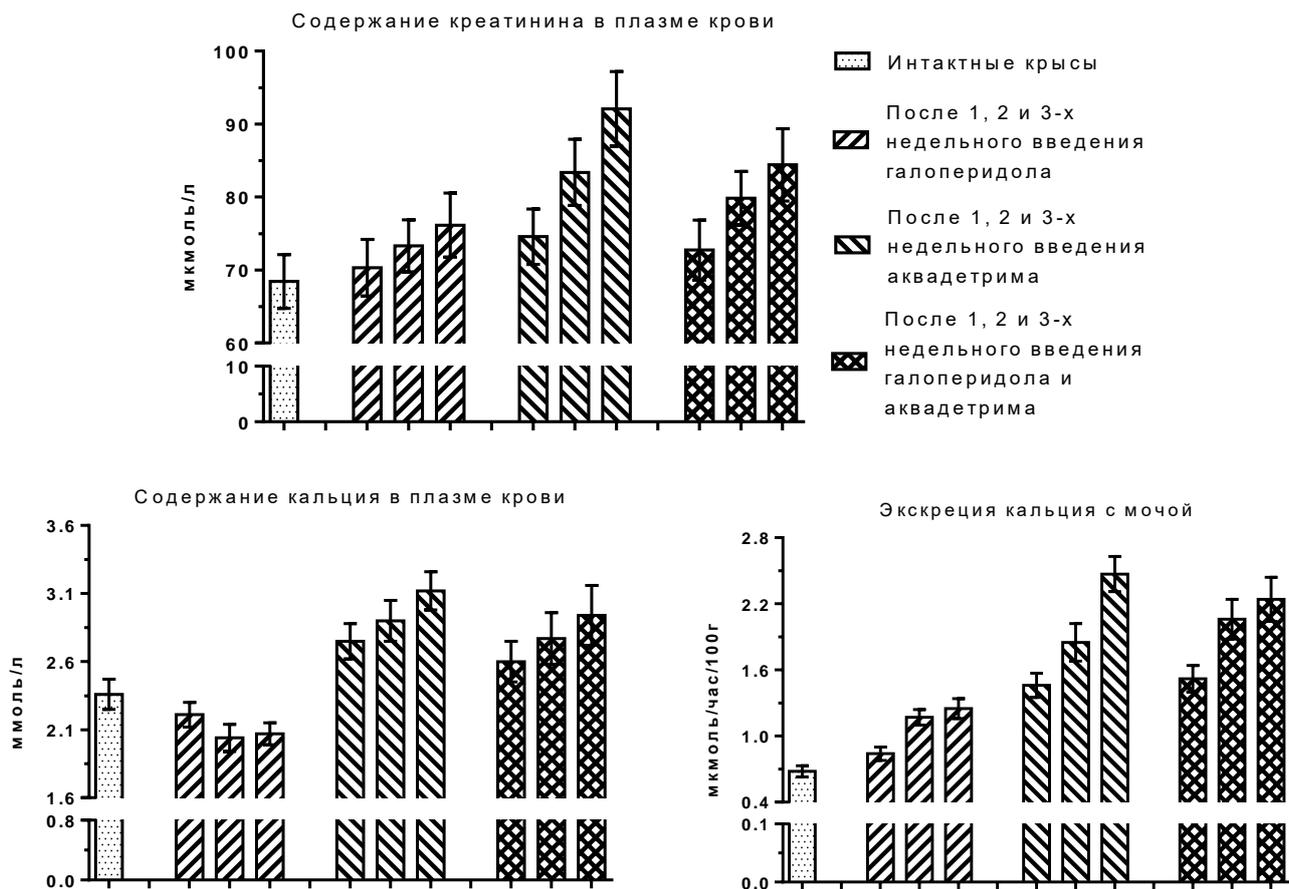
Введение аквадетрима способствовало снижению и диуреза, и скорости клубочковой фильтрации, а канальцевая реабсорбция по-прежнему оставалась повышенной. Одновременно на 50% ($p < 0,01$) стало больше белка в моче. Совместное введение галоперидола и аквадетрима

снизило диурез еще значительно (на 35,3%, $p < 0,001$) и усилило степень протеинурии в 1,75 раза ($p < 0,001$).

Но наиболее выраженные изменения отмечались при завершении опытов после трехнедельного ежедневного введения галоперидола и аквадетрима на следующий, 22-й, день. Так, диурез, если сравнивать с данными интактных крыс, после введения галоперидола снизился в 1,42 раза, после введения аквадетрима – в 1,7 раза, а при их совместном введении еще более – в 2,12 раза. Канальцевая реабсорбция воды была усилена при всех вариантах, а вот клубочковая фильтрация у крыс первой группы, получавших нейролептик, ускорилась, но при этом степень протеинурии оставалась на прежнем уровне, в то время как после введения витамина D и, особенно, совместно с галоперидолом протеинурия стала в 1,87 и 2,1 раза соответственно больше.

Как видно из результатов, представленных в таблице, совместное введение галоперидола и аквадетрима усиливает снижение спонтанного шестичасового диуреза на следующий день не только после трехнедельного, но и после двух- и недельного введения. Очевидно, что при таком совместном введении после второй недели проходит достаточно времени, чтобы галоперидол способствовал развитию эндогенной гиперпролактинемии, а аквадетрим – D-гипервитаминоза, при котором, как было нами ранее показано [13], происходит усиление перекисидации липидов с почти двукратным повышением содержания гидроперекисей и малонового диальдегида и снижением антиоксидантной защиты, проявляющееся в ослаблении активности каталазы. Очевидно, что при совместном введении галоперидола и аквадетрима усиление перекисного окисления липидов оказывает влияние на гиперпролактинемические эффекты. На это также указывают исследования других авторов, получивших положительную корреляцию высокого содержания пролактина и степени окислительных повреждений, вплоть до развития бесплодия [14].

Относительно других исследуемых показателей, в частности уровня креатинина, общего белка и кальция в плазме крови, экскреции кальция с мочой, можно отметить, что при введении галоперидола уровень креатинина в крови особо не увеличился и даже максимальное его значение в $76,14 \pm 4,39$ мкмоль/л на 22-й день не имело достоверного отличия от контроля, равного $68,44 \pm 3,47$ мкмоль/л. Содержание креатинина является одним из показателей функции почек. Введение аквадетрима вызвало статистически значимое повышение креатинина уже через 2 недели ($p < 0,02$), которое при завершении опытов стало еще больше ($p < 0,001$). При совместном введении нейролептика и витамина D также отмечалось повышение креатинина в плазме крови, но в меньшей степени (рисунок).



Содержание креатинина и кальция в плазме крови и экскреция кальция с мочой после одно-, двух- и трехнедельного введения галоперидола и аквадетрима по отдельности и совместно

Уровень общего белка в плазме крови у крыс, получавших галоперидол на протяжении всего эксперимента, не отличался от контроля ($61,85 \pm 2,47$ г/л), а после введения аквадетрима, а также аквадетрима с галоперидолом, отмечалась тенденция к снижению, но без статистически значимых изменений. И хотя у крыс второй и третьей групп, как мы это отмечали выше, наблюдалось повышение степени протеинурии, но она не приводила к развитию гипопроteinемии.

Изучение обмена кальция в условиях гипervитаминоза D показало, что введение галоперидола и создаваемая им эндогенная гиперпролактинемия оказали влияние на обмен кальция, в частности на содержание иона в плазме крови в двух- и трехнедельных опытах было снижено ($p < 0,05$), при этом экскреция, наоборот, увеличилась, причем уже и в конце первой недели (рис. 1). Введение витамина D, как и следовало ожидать, увеличило концентрацию

кальция в плазме крови уже с первой недели и способствовало ее повышению, и при завершении опытов на 22-й день она достигла $3,12 \pm 0,14$ ммоль/л против контрольного уровня $2,36 \pm 0,11$ ммоль/л ($p < 0,001$). Одновременно значительно повысилась экскреция кальция, превысив контроль ($0,68 \pm 0,05$ мкмоль/час/100 г) в конце третьей недели ($2,24 \pm 0,25$ мкмоль/час/100 г) в 3,29 раза ($p < 0,001$). Очевидно, что создаваемая введением галоперидола гиперпролактинемия оказывает патологическое воздействие на ремоделирование костной ткани с превалированием резорбции над активностью формирования костной ткани [15]. При совместном введении препаратов также отмечались повышение кальция в плазме крови и его экскреция с мочой уже с первой недели с постоянным нарастанием, но в меньшей степени, чем при введении только аквадетрима.

Заключение

Трехнедельное введение белым лабораторным крысам линии Вистар галоперидола (1) в дозе 0,2 мг/100 г для создания эндогенной гиперпролактинемии, витамина D (2) в дозе 5 000 МЕ/100 г для создания гиперкальциемии по отдельности и совместно (3) вызывает:

- 1) снижение шестичасового спонтанного диуреза в результате усиления канальцевой реабсорбции воды. Содержание креатинина, общего белка в крови и степень протеинурии не меняются, концентрация кальция снижается, а его экскреция с мочой повышается;
- 2) повышение в крови содержания кальция, снижение диуреза сначала вследствие усиления канальцевой реабсорбции воды, а затем и ослабления клубочковой фильтрации. Повышается степень протеинурии. Содержание креатинина и кальция в плазме крови повышается со значительным кальцийурезом;
- 3) более выраженное, чем при их отдельном введении, снижение диуреза, протеинурию, которая не была характерна при введении галоперидола. Содержание кальция и креатинина в крови повышается, отмечается и кальцийурез.

Список литературы

1. Абрамичева П.А., Смирнова О.В. Изоформы рецептора пролактина как основа тканеспецифического разнообразия его эффектов в норме и патологии // Биохимия. 2019. Т. 84. № 4. С. 461-480 DOI: 10.1134/S0320972519040018.
2. Bernard V., Young J., Binart N. Prolactin – a pleiotropic factor in health and disease. Nature Reviews Endocrinology. 2019. vol. 15. P. 356-365. DOI: 10.1038/s41574-019-0194-6.
3. Cabrera-Reyes E.A., Limon-Morales O., Rivero-Segura N.A., Camacho-Arroyo I., Cerbon M. Brain prolactin is involved in stress-induced REM sleep rebound. Endocrine. 2017. vol. 57. no 2. P. 199-213. DOI: 10.1007/s12020-017-1346-x.

4. Machado R.B., Rocha M.R., Suchecki D. Prolactin function and putative expression in the brain. *Horm Behav.* 2017. vol. 89. P. 38-47. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2016.12.004.
5. Borba V.V., Zandman-Goddard G., Shoenfeld Y. Prolactin and autoimmunity. *Front Immunol.* 2018. vol. 9. no. 73. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00073.
6. Лычкова А.Э., Пузииков А.М. Проллактин и серотонин // *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2014. № 1-2. С. 38-45.
7. Lv C., Mo C., Liu H., Wu C., Li Z., Li J., Wang Y. Dopamine D₂-like receptors (DRD₂ and DRD₄) in chickens: Tissue distribution, functional analysis, and their involvement in dopamine inhibition of pituitary prolactin expression. *Gene.* 2018. vol. 651. P. 33-43. DOI: 10.1016/j.gene.2018.01.087.
8. Pivonello R., Waaijers M., Kros J.M., Pivonello C., de Angelis C., Cozzolino A., Colao A., Lamberts S.W.J., Hofland L.J. Dopamine D₂ receptor expression in the corticotroph cells of the human normal pituitary gland. *Endocrine volume.* 2017. vol. 57. no 2. P. 314-325. DOI: 10.1007/s12020-016-1107-2.
9. Таболова Л.С., Джииоев И.Г., Акоева Л.А., Гиреева Л.А. Влияние экспериментальной эндо – и экзогенной гиперпролактинемии на водовыделительную функцию почек // *Современные проблемы науки и образования.* 2013. № 6. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=11135> (дата обращения: 20.05.2021).
10. Вайман Е.Э., Шнайдер Н.А., Незнанов Н.Г., Насырова Р.Ф. Патофизиологические механизмы, лежащие в основе антипсихотик-индуцированной тардивной дискинезии // *Бюллетень сибирской медицины.* 2019. Т. 18. № 4. С. 169-184. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-4-169-184.
11. Джииоев И.Г., Козаев А.В., Кабоева Б.Н., Батагова Ф.Э. Механизмы водовыделительной функции почек при экспериментальной острой почечной недостаточности на фоне гиперкальциемии // *Фундаментальные исследования.* 2014. № 10-10. С. 1924-1928.
12. Камышников В.С. Клиническая лабораторная диагностика (методы и трактовка лабораторных исследований). М.: МЕДпресс-информ, 2017. 720 с.
13. Козаев А.В., Джииоев И.Г., Кабоева Б.Н., Караева Д.А. Влияние экспериментальной гиперкальциемии на показатели крови, перекисное окисление липидов и водовыделительную функцию почек // *Современные проблемы науки и образования.* 2013. № 6. [Электронный ресурс]. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=11825> (дата обращения: 20.05.2021).
14. Bhaskar S. Veena, Sharmila Upadhyaya, Satish Kumar Adiga, Kumar N. Pratap. Evaluation of oxidative stress, antioxidants and prolactin in infertile women. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* 2008. vol. 23. P.186-190.

15. Анварова Ш.С., Пирматова М.А. Состояние метаболизма костной ткани при синдроме гиперпролактинемии // Вестник Авиценны. 2015. № 3. С. 144-147.