

## ИОНОВЫДЕЛИТЕЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ ПОЧЕК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭНДОГЕННОЙ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИИ

Джиоев И.Г.<sup>1</sup>, Кочиева Д.М.<sup>1</sup>, Берёзова Д.Т.<sup>1</sup>, Ремизов О.В.<sup>1</sup>, Агамирзаев А.А.<sup>1</sup>

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

Целью работы было выяснение влияния эндогенной гиперпролактинемии, моделируемой на 40 половозрелых крысах линии Вистар, на ионовыделительную функцию почек. Модель эндогенной гиперпролактинемии создавали путем ежедневного в/м введения в течение 28 дней галоперидола в дозе 0,2 мг/100 г массы тела животных. Первые опыты проводили на следующий день после однократного введения нейролептика, затем после недельного, и далее после двух, трех- и четырехнедельного введения. Во время опытов у крыс в течение 6 ч собирали спонтанно выделяющуюся мочу, в которой определяли содержание кальция (спектрофотометрически), натрия и калия (пламенной фотометрией), а затем рассчитывали их экскреции, фильтрационные заряды, для кальция и натрия – еще и канальцевую реабсорбцию и экскретируемую фракцию. Содержания ионов определяли и в плазме крови. Как однократное, так и недельное введение галоперидола не оказало влияния на содержание в плазме крови и выделение с мочой исследуемых ионов, а двухнедельное введение вызвало снижение содержания кальция в крови и повышение его выделения с мочой из-за ослабления канальцевой реабсорбции иона, уменьшение экскреции натрия вследствие усиления его обратного всасывания в канальцах почек и усиление калийуреза, что, очевидно, обусловлено повышением его секреции. Отмеченные изменения сохранились и при дальнейшем введении крысам галоперидола в конце третьей и четвертой недель.

Ключевые слова: функции почек, спонтанный диурез, эндогенная гиперпролактинемия, экскреция, кальций, натрий, калий.

## ION-SECRETING FUNCTION OF KIDNEYS IN EXPERIMENTAL ENDOGENOUS HYPERPROLACTINEMIA

Dzhioev I.G.<sup>1</sup>, Kochieva D.M.<sup>1</sup>, Berezova D.T.<sup>1</sup>, Remizov O.V.<sup>1</sup>, Agamirzaev A.A.<sup>1</sup>

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

The aim of the work was to elucidate the effect of endogenous hyperprolactinemia, created on forty mature Wistar rats, on the ion-excretory function of the kidneys. The endogenous hyperprolactinemia model was created by daily, for 28 days, intramuscular injection of haloperidol at a dose of 0.2 mg / 100 g. The first experiments were carried out the next day after a single injection of a neuroleptic, then after a week, and then after two, three and a four week introduction. During the experiments, spontaneously excreted urine was collected from rats for six hours, in which the content of calcium (spectrophotometry), sodium and potassium (flame photometry) was determined, and then their excretion, filtration charges were calculated, for calcium and sodium also tubular reabsorption and excreted fractions. The content of ions was also determined in blood plasma. Both single and weekly administration of haloperidol did not affect the blood plasma content and urinary excretion of the studied ions, and a two-week administration caused a decrease in the calcium content in the blood and an increase in its excretion in the urine due to the weakening of tubular reabsorption of the ion, a decrease in sodium excretion due to enhancement of its reabsorption in the tubules of the kidneys, and enhancement of kaliuresis, which is obviously due to an increase in its secretion. The noted changes persisted with further administration of haloperidol to rats at the end of the third and fourth weeks.

Keywords: renal function, spontaneous diuresis, endogenous hyperprolactinemia, excretion, calcium, sodium, potassium.

Основная роль пролактина, синтезирующегося лактотрофными клетками передней доли гипофиза, заключается в регуляции лактации. Сигнализация пролактина происходит через уникальный трансмембранный рецептор, структура которого в настоящее время выяснена и аналогична структуре многих фундаментальных рецепторов семейства гемопоэтических цитокинов. Рецептор пролактина экспрессируется в широком спектре

тканей, и все большее число биологических процессов продолжает приписываться пролактину [1]. Изоформы пролактина выполняют независимые биологические функции, а открытие многочисленных экстрапитуитарных участков секреции пролактина также увеличивает диапазон известных функций гормона, которые влияют на репродуктивную, метаболическую, осмо- и иммунорегулирующие функции, а также на поведение человека [2].

Дофамин, который секретируется гипоталамическими нейронами, является основным ингибирующим регулятором секреции пролактина. Пролактин сам стимулирует секрецию дофамина, тем самым оказывая отрицательную обратную регуляцию на его собственное высвобождение. Пролактин оказывает аутокринную/паракринную обратную связь на лактотрофные клетки *in vivo*, которая может быть полностью компенсирована интактной гипоталамической системой обратной связи, и этот процесс осуществляется двумя различными механизмами: во-первых, опосредованно путем активации гипоталамических дофаминовых нейронов и, во-вторых, непосредственно в гипофизе независимо от дофамина [3].

В физиологических условиях около 25% пролактина выводится с мочой, поэтому при хронической почечной недостаточности у 70% пациенток отмечается повышение уровня пролактина в крови. Особенно часто, до 90%, гиперпролактинемия встречается у больных с терминальной стадией и находящихся на гемодиализе. Эффективное лечение хронической почечной недостаточности сопровождается снижением гиперпролактинемии. Изучение физиологических механизмов влияния пролактина на функции почек в норме и при их патологии, несмотря на имеющиеся клинические и экспериментальные данные, остается актуальным.

### **Материал и методы исследования**

Для выяснения поставленной цели опыты проводили на 50 половозрелых 6–8-месячных лабораторных крысах-самцах линии Вистар массой от 170 до 220 г ( $190 \pm 17$  г). Вначале у всех 50 крыс собирали мочу. Полученные результаты отражены в таблицах «Интактный фон (контроль)». Затем у 10 крыс, находящихся в состоянии обезболивания и обездвиживания, вызванного внутрибрюшинным введением анестетика общего действия золетила в дозе 0,1 мл/100 г массы тела, из сердца набирали кровь в шприц, куда заранее добавили 5–6 капель гепарина (Россия, 5000 МЕ/мл 5,0 мл). Полученные результаты содержания кальция, натрия и калия в плазме крови отражены на рисунке 1 как «Интактный фон». Для выяснения влияния однократного введения нейролептика галоперидола (Венгрия, Геден-Рихтер, 0,5% 1,0 мл) оставшимся 40 крысам вводили его в/м в дозе 0,2 мг/100 г массы тела и на следующий день собирали мочу, после чего у 5 крыс из сердца брали кровь (полученные данные отражены в таблицах и рисунках как «Однократное введение»). Далее мы начали создавать модель эндогенной гиперпролактинемии [4], для чего оставшимся 35

крысам в течение 1 недели вводили галоперидол в указанной дозе и на 8-й день в спонтанном состоянии собирали мочу, а затем у 5 крыс, также в состоянии обезболивания, получали кровь из сердца (данные отражены в таблицах и рисунках «Недельное введение»). Двух-, трех- и четырехнедельное введение нейролептика со сбором мочи на 15-й, 22-й и 28-й дни уже проводили на 30, 25 и 20 крысах, и каждый раз по 5 животных выводили из опытов из-за взятия крови из сердца.

Мочу у крыс собирали в спонтанном состоянии, для чего помещали их на 6 ч в специальные устройства (мочесборники), в которых вся выделившаяся моча в чистом виде поступала в стаканчик. В собранной моче и плазме крови определяли содержание эндогенного креатинина (методом Поппера) и кальция (с эриохромом синим) спектрофотометрически (Unico 2800), а натрия и калия – пламенной фотометрией (ПАЖ-2) [5]. Расчетными показателями были спонтанный диурез, клубочковая фильтрация, канальцевая реабсорбция воды, экскреция кальция, натрия и калия, их фильтрационные заряды, канальцевая реабсорбция и экскретируемые фракции (для кальция и натрия).

Полученные результаты подвергали статистической обработке с получением средних значений и отклонений (программа «GraphPad Prizm 8.41»), а затем использовали параметрический метод сравнения средних величин по классической методике с оценкой статистической значимости по t-критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ .

Разрешение на проведение экспериментов и исследований на животных по изучению функции почек при гиперпролактинемии было выдано этическим комитетом Северо-Осетинской государственной медицинской академии 30 ноября 2017 г., протокол № 7.10.

Работа с животными, постановка опытов, утилизация проводились согласно приказу «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» (МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г.) и Межгосударственному стандарту «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными» от 01.04.2016 г.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Как мы отмечали ранее, однократное и недельное введение крысам галоперидола со сбором мочи на следующий день не оказало никакого влияния на спонтанный диурез и основные процессы мочеобразования, но начиная с конца второй недели и далее отмечалось статистически значимое снижение диуреза в результате усиления канальцевой реабсорбции воды [6]. Что касается ионовывделительной функции почек, то однократное введение галоперидола и проведение исследований на следующий день в спонтанном состоянии не оказывают влияния на содержание в плазме крови кальция, натрия и калия (рис. 1).

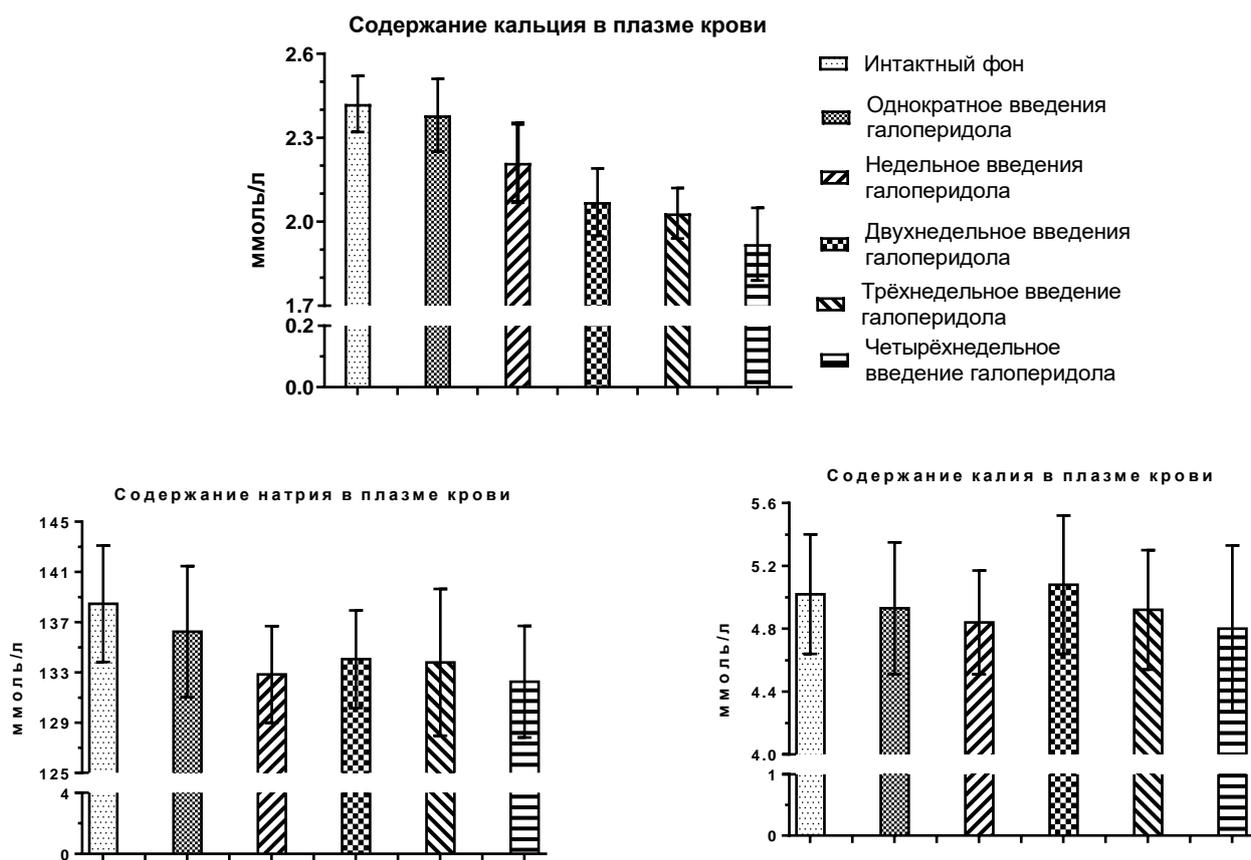


Рис. 1. Содержание кальция, натрия и калия в плазме крови крыс после однократного и 1, 2, 3 и 4 недель введения галоперидола

При недельном введении галоперидола произошло лишь незначительное снижение концентрации кальция в крови, но с продолжением введения препарата еще в течение 1 недели отличие от контроля ( $2,42 \pm 0,10$  ммоль/л) приобрело достоверное значение ( $2,07 \pm 0,12$  ммоль/л;  $p < 0,05$ ). Это снижение сохранилось и даже несколько усилилось при дальнейшем, еще в течение 2 недель, введении галоперидола (рис. 1). Таким образом, гипокальциемический эффект гиперпролактинемии проявляется только после 2 недель введения галоперидола.

Содержание натрия в крови после недельного введения галоперидола лишь немного снизилось ( $132,84 \pm 3,84$  ммоль/л) по отношению к уровню контроля ( $138,46 \pm 4,64$  ммоль/л). При продолжении введения нейролептика еще в течение 3 недель уровень натрия в плазме примерно соответствовал контрольному значению (рис. 1).

Введение галоперидола также не оказало влияния на содержание калия в плазме крови на всем протяжении постановки опытов, а отмеченные колебания от контрольных значений были в пределах статистических погрешностей (рис. 1).

Таким образом, создаваемая со второй недели и далее эндогенная гиперпролактинемия, вызванная введением крысам галоперидола, не оказывает влияния на уровень натрия и калия в плазме крови у крыс, но вызывает гипокальциемию.

При выяснении вопроса о том, как однократное введение галоперидола влияет на обработку этих ионов в почках, т.е. на их экскрецию, фильтрационные заряды и обратное всасывание в канальцах почек, были получены результаты, свидетельствующие об отсутствии каких-либо изменений в показателях обмена кальция в почках, отличающихся от таковых интактных крыс контрольной группы (табл. 1).

Таблица 1

Показатели обмена кальция в почках после введения галоперидола

Условия опыта	Стат. показатели	Экскреция	Фильтрационный заряд	Канальцевая реабсорбция	Экскретируемая фракция
		мкмоль/час/100 г		%	
Интактный фон (контроль), n=50	M±m	0,68±0,05	26,73±1,93	97,47±0,19	2,53±0,19
Однократное введение, n=40	M±m p	0,70±0,08 *	25,45±2,06 *	97,26±0,17 *	2,74±0,17 *
Недельное введение, n=35	M±m p	0,84±0,07 *	28,44±1,85 *	97,05±0,24 *	2,95±0,24 *
Двухнедельное введение, n=30	M±m p	1,17±0,09 < 0,001	27,38±2,34 *	95,75±0,18 < 0,001	4,25±0,18 < 0,001
Трехнедельное введение, n=25	M±m p	1,25±0,11 < 0,001	29,12±1,88 *	95,72±0,29 < 0,001	4,28±0,29 < 0,001
Четырехнедельное введение, n=20	M±m p	1,24±0,12 < 0,001	29,78±2,25 *	95,83±0,31 < 0,001	4,17±0,31 < 0,001
Примечание: p – статистически значимые отличия от данных интактных крыс; * – отсутствие статистически значимых отличий.					

Недельный прием нейролептика лишь незначительно повысил экскрецию кальция, его фильтрационный заряд и экскретируемую фракцию. Но после двухнедельного введения экскреция кальция с контрольного уровня в 0,68±0,05 мкмоль/час/100 г статистически значимо (p<0,001) повысилась до 1,17±0,09 мкмоль/час/100 г. При этом фильтрационный заряд не изменился, но снизилась канальцевая реабсорбция (p<0,001), что и вызвало повышение экскретируемой фракции кальция с 2,53±0,19% до 4,25±0,18% и, как следствие, повышение экскреции кальция.

Проведение исследований после трех- и четырехнедельного введения галоперидола незначительно усилило выведение кальция с мочой и также за счет ослабления его относительной канальцевой реабсорбции, которая способствует повышению экскретируемой фракции иона. Таким образом, причиной выявленного кальцийуреза в условиях эндогенной гиперпролактинемии при неизменности загрузки иона в клубочках нефронов было ослабление относительной канальцевой реабсорбции и, соответственно, повышение экскретируемой фракции.

Очевидно, что создаваемая галоперидолом эндогенная гиперпролактинемия, приводящая к повышению выведения кальция с мочой и снижению его концентрации в плазме крови, должна воздействовать на ремоделирование костной ткани с превалированием резорбции над активностью ее формирования [7].

Данные литературы о влиянии галоперидола на обмен натрия различны: от отсутствия влияния, задержки натрия в организме до усиления его экскреции [8, 9, 10]. В наших исследованиях однократное введение галоперидола не оказало влияния на обмен натрия в почках и ни один из показателей не изменился (табл. 2). Недельное введение, хоть и вызвало незначительно повышение фильтрационного заряда натрия с контрольного уровня в  $1937 \pm 142$  мкмоль/час/100 г до  $2165 \pm 159$  мкмоль/час/100 г, но так как одновременно немного усилилась канальцевая реабсорбция, то экскреция иона снизилась с  $8,34 \pm 0,64$  мкмоль/час/100 г до  $7,55 \pm 0,73$  мкмоль/час/100 г.

Таблица 2

Показатели обмена натрия в почках после введения галоперидола

Условия опыта	Стат. показатели	Экскреция	Фильтрационный заряд	Канальцевая реабсорбция	Экскретируемая фракция
		мкмоль/час/100г		%	
Интактный фон (контроль), n=50	M±m	8,34±0,64	1937±142	99,56±0,05	0,44±0,05
Однократное введение, n=40	M±m p	8,42±0,73 *	1846±137 *	99,54±0,07 *	0,46±0,07 *
Недельное введение, n=35	M±m p	7,55±0,73 *	2165±159 *	99,65±0,06 *	0,35±0,06 *
Двухнедельное введение, n=30	M±m p	5,94±0,31 <0,01	2246±167 *	99,73±0,05 < 0,05	0,27±0,05 < 0,05
Трехнедельное введение, n=25	M±m p	5,66±0,42 < 0,01	2419±194 *	99,76±0,05 <0,02	0,24±0,05 < 0,02
Четырехнедельное введение, n=20	M±m p	5,71±0,50 < 0,01	2520±213 *	99,77±0,06 < 0,02	0,23±0,06 < 0,02
Примечание: p – статистически значимые отличия к данным интактных крыс; * – отсутствие статистически значимых отличий.					

Двухнедельное введение галоперидола сопровождалось снижением выделения натрия с мочой ( $p < 0,01$ ), в основе которого лежало усиление канальцевой реабсорбции иона и соответственно уменьшение его экскретируемой фракции. При продолжении введения галоперидола еще в течение 2 недель экскреция натрия оставалась сниженной по той же причине (табл. 2), и, если натрийурез у интактных крыс принять за 100%, то после недельного

введения галоперидола произошло снижение на 9,5%, а после 2, 3 и 4 недель – на 28,8% ( $p<0,05$ ), 32,2% ( $p<0,01$ ) и 31,6% ( $p<0,01$ ) соответственно.

Хотя мы и показали, как меняется обмен натрия в почках, однако механизмы, вызывающие эти изменения, в частности его канальцевая реабсорбция, могут быть обусловлены другими причинами. И одной из них является альдостерон, который усиливает реабсорбцию натрия в канальцах почек, уменьшая тем самым его экскрецию с мочой, и одновременно усиливает секрецию калия и его содержание в моче [11]. В доступной научной литературе имеются данные о том, что повышение содержания пролактина вызывает увеличение секреции альдостерона за счет трех возможных механизмов: первый – увеличение продукции цАМФ, второй – активация  $Ca^{++}$ -каналов L- и T-типа, третий – активация 21-гидроксилазы, которая участвует в синтезе альдостерона и кортизола, а также альдостеронсинтазы, катализирующей последнюю стадию синтеза альдостерона в клетках клубочковой зоны [12]. Также есть данные и о том, что при гиперпролактинемии в модели холестаза беременных крыс отмечается снижение активности  $Na^+/K^+$ -АТФазы в мозговом веществе почек, где происходит активная реабсорбция натрия [13].

Результаты изучения обмена калия – основного внутриклеточного катиона – после введения крысам галоперидола представлены ниже. Содержание иона в плазме крови на всем протяжении эксперимента не изменилось, а обработка на уровне почек выглядела следующим образом. Однократное введение галоперидола не вызвало каких-либо изменений (рис. 2), но уже через неделю экскреция калия ( $5,15\pm 0,42$  мкмоль/час/100 г), став в 1,4 раза больше, приобрела статистически значимое отличие ( $p<0,02$ ) по сравнению с контролем ( $3,66\pm 0,28$  мкмоль/час/100 г), но фильтрационный заряд оставался без изменений. Продолжение введения нейролептика способствовало усилению выделения калия с мочой ( $p<0,001$ ), которое стало в 1,72 раза больше контрольного уровня в конце второй недели, в 2,15 раза – в конце третьей и в 2,12 раза – при завершении опытов. Загрузка клубочков калием хоть и становилась больше, но это не имело статистически значимого отличия (рис. 2).

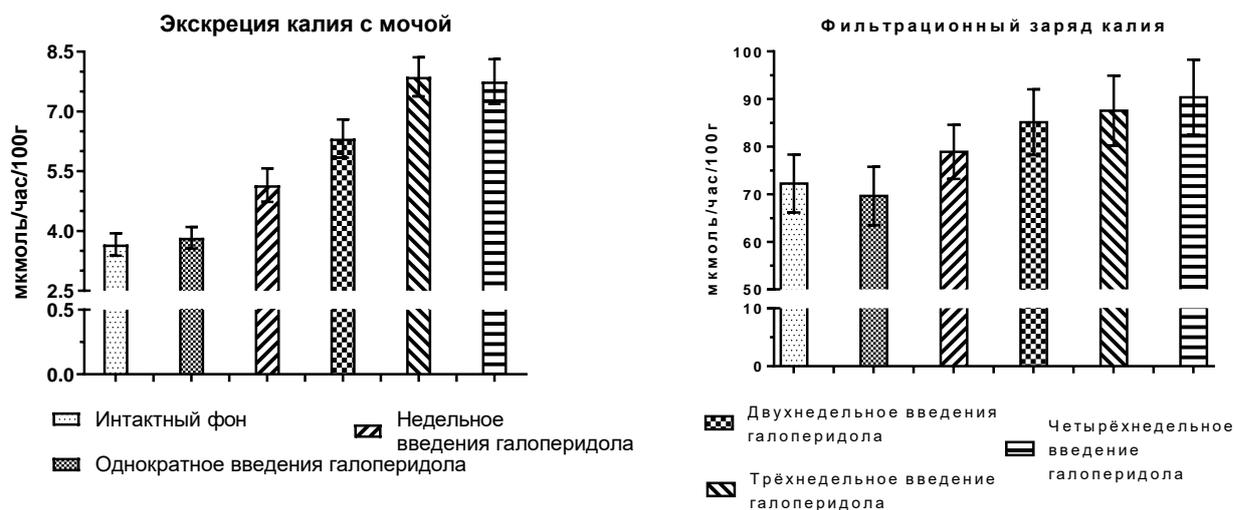


Рис. 2. Экскреция и фильтрационный заряд калия после введения галоперидола

Однако говорить о причине калийуреза можно только в предположении из-за способности калия не только реабсорбироваться в канальцах почек, но и секретироваться, т.е. в этом случае может не только уменьшаться обратное всасывание иона, но и усиливаться его секреция, к чему мы склоняемся в большей степени, так как отмеченное выше снижение экскреции натрия могло быть вызвано повышенным синтезом альдостерона, способного также усиливать секрецию калия.

### Заключение

Как однократное, так и недельное введение галоперидола не оказывает влияния на содержание в плазме крови и выделение с мочой кальция, натрия и калия, а двухнедельное введение вызывает снижение содержания кальция в крови и повышение его выделения с мочой из-за ослабления канальцевой реабсорбции иона, уменьшение экскреции натрия вследствие усиления его обратного всасывания в канальцах почек и усиление калийуреза, очевидно, за счет повышения секреции калия. Отмеченные изменения сохраняются и при дальнейшем введении крысам галоперидола в конце третьей и четвертой недель.

### Список литературы

1. Bernard V., Young J., Binart N. Prolactin - a pleiotropic factor in health and disease. Nat. Rev. Endocrinol. 2019. vol. 15. no 6. P. 356-365. DOI: 10.1038/s41574-019-0194-6.
2. Bernard V., Young J., Chanson Ph., Binart N. New insights in prolactin: pathological implications. Nat. Rev. Endocrinol. 2015. vol. 11. no 5. P. 265-275. DOI: 10.1038/nrendo.2015.36.

3. Bernard V., Lamothe S., Beau I., Guillou A., Martin A., Le Tissie P., Grattan D., Young J., Binart N. Autocrine actions of prolactin contribute to the regulation of lactotroph function in vivo. 2018. vol. 32. no 9. P. 4791-4797. DOI: 10.1096/fj.201701111RR.
4. Таболова Л.С., Джиоев 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: 24.09.2021).
5. Камышников В.С. Клиническая лабораторная диагностика (методы и трактовка лабораторных исследований). М.: МЕДпресс-информ, 2017. 720 с.
6. Джиоев И.Г., Кочиева Д.М., Хубулов И.Г., Ремизов О.В., Ваниев И.А. Функции почек при экспериментальной эндогенной гиперпролактинемии на фоне гиперкальциемии // Современные проблемы науки и образования. 2021. № 3. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=30909> (дата обращения: 24.09.2021).
7. Seriwatanachai D., Thongchote K., Charoenphandhu N., Pandaranandaka J., Tudpor K., Teerapornpuntakit J., Suthiphongchai T., Krishnamra N. Prolactin directly enhances bone turnover by raising osteoblast-expressed receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoprotegerin ratio. Bone. 2008. vol. 42. no 3. P. 535-546. DOI: 10.1016/j.bone.2007.11.008.
8. Soupart A., Buisson L., Prospert F., Decaux G. Indirect evidence to suggest that prolactin induces salt retention in cirrhosis. J. Hepatol. 1994. vol. 21. no 3. P. 347-352. DOI: 10.1016/s0168-8278(05)80312-5.
9. Зябрева Е.В., Большакова Т.Д., Гитель Е.П., Луковникова Л.П., Подзолков В.И. Роль пролактина в нарушениях водно-солевого обмена у больных артериальной гипертензией // Кардиология. 1986. Т. 26. № 5. С. 64-67.
10. Yang Hang-Ju, Cheng Wan-Ju. Antipsychotic use is a risk factor for hyponatremia in patients with schizophrenia: a 15-year follow-up study. Psychopharmacology. 2017. vol. 234. no 5. P. 869-876. DOI: 10.1007/s00213-017-4525-9.
11. Кумар В., Аббас А.К., Фаусто Н., Астер Д. К. Основы патологии заболеваний по Роббинсу и Котрану: учебник. В 3-х томах (том 2). М: Логосфера, 2016. 1098 с.
12. Williams T.A., Dietz A.S., Theodoropoulou M., Riester A., Fischer E., Burrello J., Treitl M. Coexisting Prolactinoma and Primary Aldosteronism: Is There a Pathophysiological Link? J. Clin. Endocrin & Metabol. 2015. vol. 100. no 9. P. 1262-1269. DOI: 10.1210/JC.2015-2422.
13. Абрамичева П.А., Балакина Т.А., Булаева О.А., Гусева А.А., Лопина О.Д., Смирнова О.В. Роль  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы в натрийуретическом эффекте пролактина на модели холестаза беременности // Биохимия. 2017. Т. 82. № 5. С. 632-641. DOI: 10.1134/S000629791705011X.