

ВЛИЯНИЕ КОРТИЗОНА АЦЕТАТА НА ВОДОВЫДЕЛИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ПОЧЕК ПРИ НЕФРОПАТИИ

**Карсанов Т. Д., Джиоев И. Г. ORCID ID 0000-0002-0663-558X, Авсанова О. Т.,
Гиголаев А. О., Бузоева М. Р., Берёзова Д. Т.**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владикавказ, Российская Федерация, e-mail: Inal44@mail.ru

Изучение влияния экзогенного глюкокортикоида на экскреторную функцию почек в условиях токсического нефрита, а также расшифровка патофизиологических механизмов, лежащих в основе выявленных сдвигов. Эксперименты выполнены на 48 половозрелых крысах-самцах линии Вистар, случайным образом распределённых в равные контрольную и опытную группы. Кортизона ацетат вводился перорально по 1,5 мг на 100 г массы тела. Хроническое токсическое поражение почек воспроизводилось трёхкратным внутримышечным введением нефротоксиканта – глицерина в дозе 0,8 мл/100 г (в начале, середине и конце месяца). Для оценки водовыделительной функции животных помещали в метаболические клетки на 6 часов и регистрировали объём спонтанно выделенной мочи. В полученных биологических пробах определяли: эндогенный креатинин и общий белок, мочевины и натрий в гомогенатах ткани слёёв почек, объёмную скорость почечного кровотока. Статистическую обработку межгрупповых различий, с учётом нормальности их распределения (Шапиро - Уилка), оценивали по критерию Стьюдента при $p < 0,05$. Однократная пероральная нагрузка кортизоном ацетатом вызвала диуретический ответ вследствие ускорения клубочковой фильтрации, обусловленного возрастанием объёмной скорости почечного кровотока и ослабления реабсорбции воды в дистальных канальцах, детерминированного снижением осмотического градиента в паренхиме почек. Двухнедельное применение препарата усилило диуретический эффект почти вдвое за счёт более существенного подавления канальцевой реабсорбции; параллельно отмечались рост концентрации креатинина в крови, нарастание протеинурии и снижение общего белка в плазме. В условиях нефропатии исходно регистрировались гиперкреатининемия, гипопроteinемия, протеинурия и полиурия, опосредованная угнетением канальцевой реабсорбции воды на фоне падения осмолярности интерстиция. На этом фоне как однократное (в 2,16 раза), так и двухнедельное (в 2,33 раза) введение кортизона ацетата вызвало усиление диуреза относительно интактного контроля, но различия между режимами дозирования нивелировались, что свидетельствует о доминировании токсического компонента в нарушении рецепторной чувствительности к антидиуретическому гормону.

Ключевые слова: кортизона ацетат, экспериментальная нефропатия, диурез, клубочковая фильтрация, канальцевая реабсорбция, почечный кровоток.

EFFECT OF CORTISONE ACETATE ON RENAL WATER EXCRETION FUNCTION IN NEPHROPATHY

**Karsanov T. D., Dshioev I. G. ORCID ID 0000-0002-0663-558X, Avsanova O. T.,
Gigolaev A. O., Buzoeva M. R., Berezova D. T.**

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education North Ossetian State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Vladikavkaz, Russian Federation, e-mail: Inal44@mail.ru

Study of exogenous glucocorticoid on the excretory function of the kidneys in conditions of toxic nephritis, as well as decoding of pathophysiological indicators, taking them into account on the basis of the identified shifts. Experiments were performed on 48 sexually mature male Wistar rats equally allocated to control and experimental groups. Cortisone acetate was administered orally at a dose of 1.5 mg/100 g body weight. Chronic nephropathy was induced by three intramuscular injections of the nephrotoxicant glycerol (0.8 ml/100 g) at the beginning, middle, and end of a one-month period. Spontaneously voided urine was collected over six hours in metabolic cages. Serum and urinary creatinine and total protein were measured, along with urea and sodium concentrations in renal tissue homogenates, and volumetric renal blood flow. Statistical processing of intergroup differences, taking into account the normality of their distribution (Shapiro-Wilk), was assessed using the Student's t-test at $p < 0.05$. A single oral dose of cortisone acetate produced a significant diuretic response attributable to concurrent acceleration of glomerular filtration – driven by increased renal perfusion – and attenuation of tubular water

reabsorption secondary to a reduction in renal interstitial osmolarity. Plasma creatinine and total protein remained unaltered. Two-week administration nearly doubled the diuretic effect, primarily through more pronounced suppression of tubular reabsorption; this was accompanied by elevated plasma creatinine, increased proteinuria, and decreased total serum protein. Experimental nephropathy was associated with baseline hypercreatininemia, hypoproteinemia, marked proteinuria, and polyuria, all attributable to impaired tubular reabsorption arising from reduced interstitial osmotic pressure. Against this pathological background, both single-dose (2.16-fold relative) and two-week (2.33-fold relative) cortisone acetate administration produced comparable degrees of diuresis enhancement with negligible differences between dosing regimens, suggesting that nephrotoxic injury overrides the duration-dependent hormonal effect on ADH receptor sensitivity.

Keywords: cortisone acetate, experimental nephropathy, diuresis, glomerular filtration, tubular reabsorption, renal blood flow.

Введение

Глюкокортикоиды представляют собой класс стероидных гормонов, секретируемых пучковой зоной коры надпочечников. Универсальность их биологического действия предопределяется повсеместным распространением соответствующих внутриклеточных рецепторов: ядерный глюкокортикоидный рецептор, кодируемый геном NR3C1 (5-я хромосома) и представленный тремя изоформами, экспрессируется практически во всех типах клеток человека и большинства млекопитающих [1]. Само наименование этой группы соединений отражает ключевые характеристики её представителей, а это участие в регуляции углеводного обмена, надпочечниковое происхождение и стероидную (холестерин-производную) химическую природу.

В системе иммунной регуляции глюкокортикоиды выступают негативными модуляторами воспалительного ответа, встраиваясь в петлю обратной связи и ограничивая избыточную активацию иммунокомпетентных клеток [2]. Именно поэтому данный класс соединений занимает центральное место в терапии патологических состояний с иммунновоспалительным патогенезом, а именно различных аллергических реакций, бронхиальной астмы, аутоиммунных заболеваний и септических состояний. Вместе с тем широкий спектр фармакологической активности глюкокортикоидов сопряжён с развитием разнообразных нежелательных лекарственных реакций [3]. Отдельного внимания заслуживает их применение в онкологии: подавляя пролиферацию лимфоцитов и вмешиваясь в аномальные сигнальные пути опухолевых клеток, они применяются как в высоких дозах при гемобластозах, так и в качестве адъювантной терапии для митигации токсических эффектов цитостатиков [4].

Молекулярный механизм действия глюкокортикоидов реализуется через двунаправленную транскрипционную регуляцию: сформировавшийся лиганд-рецепторный комплекс транслоцируется в ядро, где одновременно активирует экспрессию противовоспалительных генов и подавляет транскрипцию провоспалительных медиаторов в цитозоле [5].

Эндогенным глюкокортикоидом человека является кортизол (гидрокортизон), тогда как у крыс биологически доминирующую роль выполняет кортикостерон: синтез кортизола у этого вида незначителен, а его тканевая активность минимальна [6]. Кортизол обеспечивает поддержание кардиоваскулярного, метаболического, иммунного и осмотического гомеостаза; его концентрация закономерно возрастает при стрессовых воздействиях, что делает его ведущим биомаркером стресс-реакции [7; 8]. Синтетические глюкокортикоиды нашли широкое применение в клинической практике как в качестве заместительной терапии при надпочечниковой недостаточности, так и для иммуносупрессии при широком круге патологических состояний [9].

Цель исследования. Изучение влияния экзогенного глюкокортикоида на экскреторную функцию почек в условиях токсического нефрита, а также расшифровка патофизиологических механизмов, лежащих в основе выявленных сдвигов.

Материалы и методы исследования

Экспериментальная работа выполнена на 48 крысах-самцах линии Вистар со средней массой тела $205,8 \pm 6,4$ г (диапазон 180–220 г). Использование животных исключительно мужского пола было продиктовано необходимостью устранить возможное искажающее влияние циклически меняющегося профиля половых гормонов на исследуемые показатели. Поскольку кортикостерон – основной эндогенный глюкокортикоид крыс, а он практически недоступен в стандартизированной экспериментальной форме, в качестве тест-вещества применяли кортизона ацетат («Акрихин», Россия). Правомерность такого подхода подтверждается в научной литературе, включая работы, в которых авторы прибегали к внутримышечному введению суспензии гидрокортизона ацетата в сопоставимых и более высоких дозах на протяжении от нескольких суток до трёх месяцев [10; 11].

Предпочтение пероральному пути введения перед внутримышечным было обусловлено двумя соображениями: во-первых, исключением риска локального воспаления при длительных инъекциях; во-вторых, соответствием клинической практике, в которой системные глюкокортикоиды назначаются преимущественно в таблетированной форме. Расчётную дозу препарата в $1,50$ мг/100 г массы тела получали, растворяя три таблетки по $25,0$ мг в $25,0$ мл водопроводной воды, и из приготовленной суспензии отбирали $0,5$ мл на каждые 100 г массы тела животного и вводили через зонд в желудок. Идентичный объём водопроводной воды вводился контрольным животным для нивелирования фактора водной нагрузки. Вводимый объём не превышал физиологического суточного потребления жидкости крысами (10 - 12 мл/100 г/сут.), что исключало гемодинамическую перегрузку. Поскольку пиковая концентрация кортизона ацетата в крови достигается через 30 - 90 минут после приёма,

шестичасовой период сбора мочи в метаболических клетках был достаточен для регистрации функционального ответа почек.

Хроническую нефропатию воспроизводили трёхкратным внутримышечным введением глицерина ($C_3H_5(OH)_3$ – простейший трёхатомный спирт) в дозе 0,8 мл/100 г. Инъекции осуществляли в начале месяца, через две недели и ещё через две недели, причём перед каждой из них животные выдерживались на пищевой депривации в течение 10-12 часов. Трёхкратная схема была выбрана с целью формирования хронического, а не острого поражения почек [12].

В собранной моче спектрофотометрически (UNICO 2000, США) определяли концентрацию эндогенного креатинина (наборы «Ольвекс», Россия; результат в мкмоль/л, использовался для расчёта скорости клубочковой фильтрации в мл/ч/100 г) и общего белка (наборы «Агат», Россия; степень протеинурии в мг/мл). После завершения периода уринации 12 животным из каждой группы под общей анестезией (золетил, Франция, 0,1 мл/100 г внутривенно) инвазивно регистрировали объёмную скорость почечного кровотока с помощью ультразвукового флоуметра (Transonic HT 313, США). Затем из сердца аспирировали кровь для определения в плазме сывороточного креатинина и общего белка – маркеров, включённых в протокол в связи с тем, что нарушение белкового метаболизма является одним из облигатных проявлений нефропатии. Извлечённые почки расслаивали на кортикальное вещество, медулярное вещество и почечный сосочек, и в гомогенатах каждого слоя спектрофотометрически (Arel 303, Япония) определяли мочевины (мкмоль/кг влажной ткани) по реакции с диацетилмонооксимом в кислой среде [13] и методом пламенной фотометрии (ПАЖ 378, Россия) – натрия (мкмоль/кг сухой ткани). Суммарный осмотический вклад этих двух веществ определяет градиент, обеспечивающий реабсорбцию воды в собирательных трубочках.

Полученные результаты статистически обрабатывались (программа «GraphPad Prism 6.03»), применяли параметрический метод сравнения средних величин ($M \pm m$) контрольных и опытных данных, с учётом нормальности их распределения (Шапиро - Уилка), степень достоверности отличия оценивали по t-критерию Стьюдента, $p < 0,05$. Работа с животными проводилась в соответствии с приказом Минздравсоцразвития России № 708н от 23.08.2010 и одобрена этическим комитетом академии (протокол № 12.11 от 21.09.2022).

Результаты исследования и их обсуждение

Однократное введение кортизона ацетат интактным животным. Пероральное введение кортизона ацетата в дозе 1,50 мг/100 г вызвало достоверное возрастание спонтанного шестичасового диуреза на 37,5% относительно контрольных значений ($0,24 \pm 0,013$ мл/ч/100 г; $p < 0,01$) (рис. 1). Механистически этот эффект определялся двумя взаимно усиливающими друг друга процессами. Во-первых, ускорением клубочковой фильтрации (от базального уровня

16,28±1,18 мл/ч/100 г), опосредованным возрастанием объёмной скорости почечного кровотока на 31,3% относительно контроля (5,54±0,24 мл/мин/100 г). Во-вторых, ослаблением канальцевой реабсорбции воды (базовое значение 98,58±0,09%) (рис. 1) вследствие снижения осмотического давления в паренхиме почек, создаваемого мочевиной и натрием. Содержание мочевины в корковом и мозговом веществе, а также натрия в мозговом веществе и почечном сосочке достоверно уменьшилось, что суммарно привело к падению осмотического давления, обусловленному мочевиной на 28,4% и натрием – на 21,6% (при принятии индивидуальных исходных значений за 100,0%). Показатели сывороточного креатинина и общего белка плазмы после однократного введения препарата остались в пределах нормы (рис. 2).

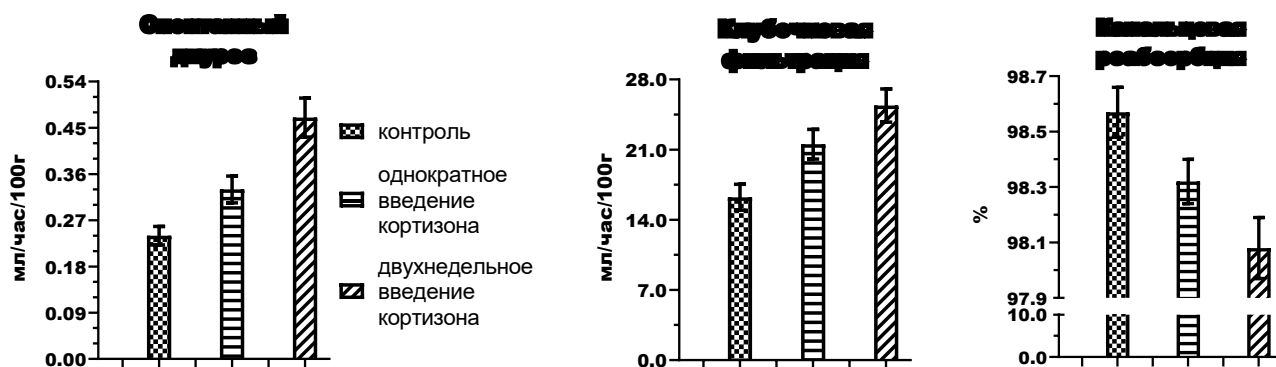


Рис. 1. Диурез и основные процессы мочеобразования после однократного и двухнедельного введения кортизона ацетата. Примечание: составлено авторами по результатам данного исследования

Двухнедельное введение. Курсовой приём кортизона ацетата обеспечил существенно более выраженный прирост диуреза – на 95,8% (почти двукратное увеличение), что также было детерминировано ускорением клубочковой фильтрации (на 53,8% против 32,3% при однократном введении) и более значительным снижением канальцевой реабсорбции воды (рис. 1). По всей видимости, пролонгированная экспозиция гормона ведёт к его кумуляции в организме с последующим антагонизмом относительно антидиуретического гормона: подавляется синтез аквапорина-2 и его встраивание в базолатеральную мембрану собирательных трубочек, а также снижается экспрессия натрий-зависимых транспортёров, и ослабляет чувствительность рецепторов к антидиуретическому гормону, что в совокупности усиливает осмотический диурез [14; 15]. Несмотря на меньшую выраженность снижения осмотического давления при курсовом введении по сравнению с однократным (в этом случае на мочевины приходилось 17,25%, а на натрий – 15,4%). Больше снижение реабсорбции воды свидетельствует о дополнительном рецептор-зависимом механизме, не связанном исключительно с осмотическим градиентом. Ускорение почечного кровотока при этом

составило 51,6% от контроля. Параллельно регистрировались повышение концентрации креатинина в крови, нарастание протеинурии и снижение уровня общего белка в плазме крови (рис. 2).

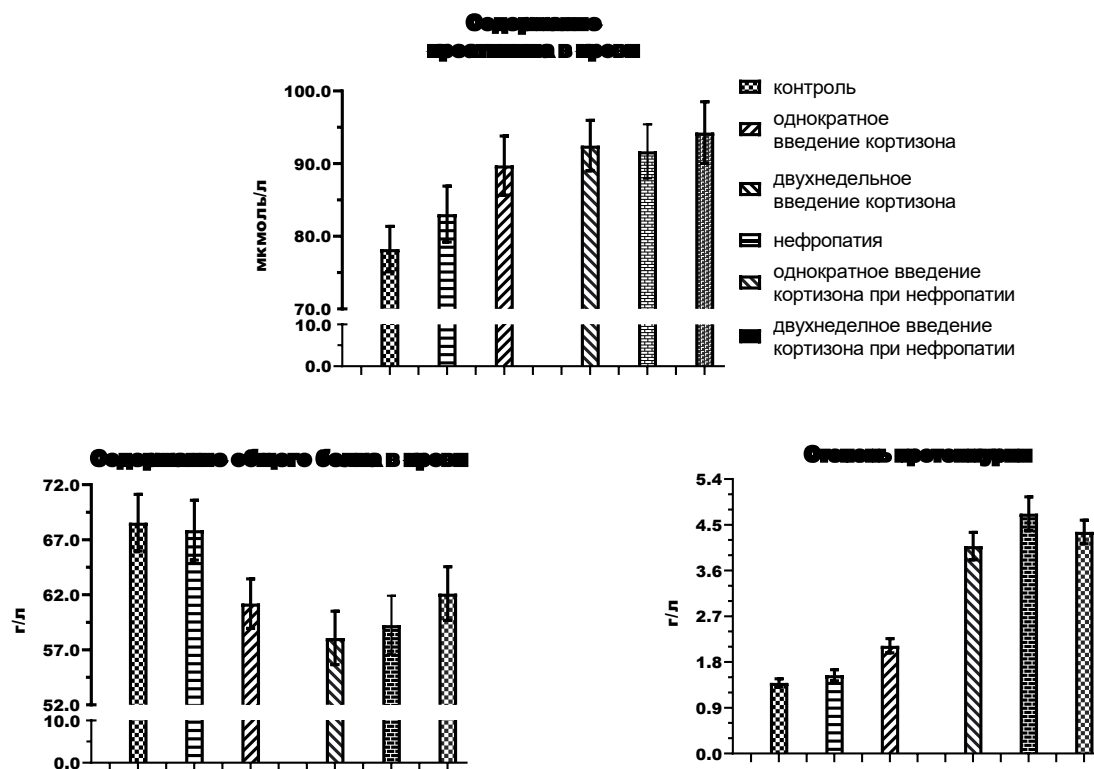


Рис. 2. Содержание креатинина, общего белка и степень протеинурии при нефропатии после однократного и двухнедельного введения кортизона ацетата.

Примечание: составлено авторами по результатам данного исследования

Введение кортизона ацетата при нефропатии

Ранее авторами была показана стойкость как морфологических, так и функциональных нарушений в почках, сохраняющихся не менее двух месяцев после завершения трёхкратной нефротоксической нагрузки [12]. С учётом этого оценку эффекта однократного введения кортизона ацетата проводили на исходе второго месяца от начала моделирования нефропатии, а двухнедельного курса – плюс еще 2 недели с конца второго месяца на введения глюкокортикоида, поэтому опыты ставили в 2,5 месяца.

Нефропатия сама по себе вызвала прирост диуреза на 70,8% ($p < 0,001$), обусловленный исключительно ослаблением канальцевой реабсорбции воды, тогда как клубочковая фильтрация практически не изменялась (рис. 3). Скорость почечного кровотока при нефропатии составила $5,23 \pm 0,27$ мл/мин./100 г – значение, не отличавшееся от контрольного, что согласуется с неизменностью скорости фильтрации. Нефропатия также сопровождалась

выраженной гиперкреатининемией, гипопротеинемией и выраженным нарастанием протеинурии (превышение нормы в 3,65 раза) (рис. 2).

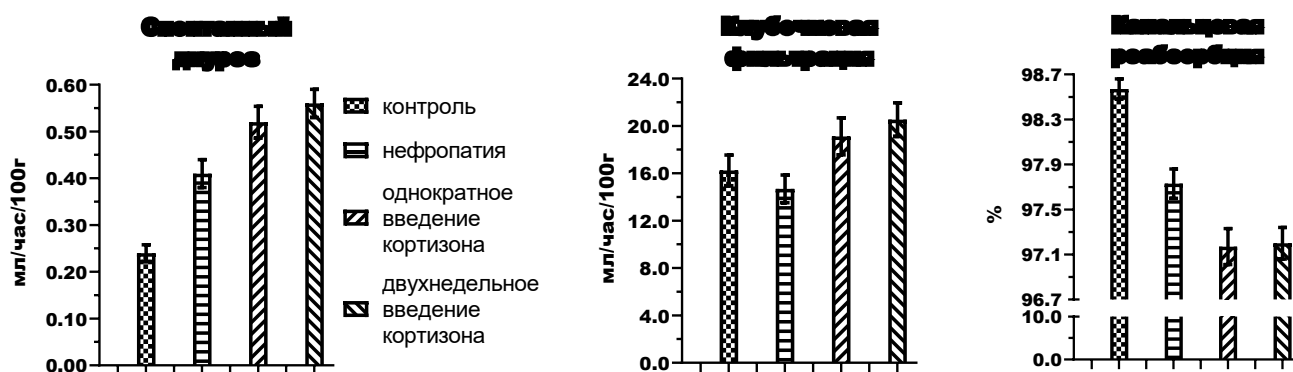


Рис. 3. Диурез и основные процессы мочеобразования при нефропатии после однократного и двухнедельного введения кортизона ацетата. Примечание: составлено авторами по результатам данного исследования

На фоне нефропатии введение кортизона ацетата, как однократное, так и двухнедельное, вызвало сопоставимое усиление диуреза в 2,16 и 2,33 раза относительно интактного контроля соответственно, а по сравнению с изолированной нефропатией на 25,8% и 36,6%. Ведущим механизмом этих изменений оставалось снижение канальцевой реабсорбции воды, так как ускорение клубочковой фильтрации имело место, однако было умеренным (рис. 3). Объёмная скорость почечного кровотока на фоне введения кортизона возросла по сравнению с нефропатией, хотя и в меньшей степени, чем у здоровых крыс (на 21,3% и 24,4% соответственно, $p < 0,05$). При этом содержание мочевины и натрия в слоях почечной ткани снизилось относительно контроля, хотя менее выражено, чем у интактных животных. Примечательно, что отсутствие дозо-временного разграничения между эффектами однократного и курсового введения препарата при нефропатии, в отличие от картины у здоровых крыс, указывает на то, что именно токсическое повреждение нефрона, а не продолжительность гормональной экспозиции является основным детерминантом сниженной чувствительности V_2 -рецепторов к антидиуретическому гормону.

Концентрация сывороточного креатинина при нефропатии оставалась повышенной вне зависимости от режима введения кортизона ацетата. Протеинурия, исходно в 3,65 раза превышавшая норму, сохранялась на высоком уровне независимо от продолжительности введения глюкокортикоида (рис. 2).

Выводы

1. Пероральное введение кортизона ацетата в дозе 1,50 мг/100 г массы тела интактным крысам-самцам линии Вистар, как однократное, так и на протяжении 14 суток, вызывало отчётливый диуретический эффект, обусловленный ускорением клубочковой фильтрации и угнетением канальцевой реабсорбции воды. Прирост фильтрации определялся усилением почечного кровотока, тогда как снижение реабсорбции – падением осмотического давления в интерстиции, создаваемого мочевиной и натрием. Биохимические показатели крови при однократном введении оставались без изменений, а двухнедельный курс сопровождался гиперкреатинемией, нарастанием протеинурии и гипопроотеинемией.
2. В условиях хронической экспериментальной нефропатии, воспроизведённой трёхкратным внутримышечным введением глицерина (0,8 мл/100 г), исходно характеризующейся полиурией вследствие снижения канальцевой реабсорбции и осмотического давления почечного интерстиция, кортизона ацетат, вне зависимости от режима введения, дополнительно усиливал диурез за счёт ускорения гломерулярной фильтрации и дальнейшего подавления канальцевой реабсорбции. Нивелирование дозо-временного градиента эффекта при нефропатии свидетельствует о доминировании токсической десенситизации рецепторного аппарата дистальных канальцев и собирательных трубочек почек над гормонально зависимой регуляцией почечной экскреции воды.

Список литературы

1. Бровкина С. С., Джериева И. С., Волкова Н. И., Шкурат Т. П., Гончарова З. А., Машкина Е. В., Решетников И. Б. Ассоциация структуры глюкокортикоидного рецептора и полиморфных вариантов гена NR3C1 с метаболическими нарушениями // Проблемы эндокринологии. 2023. Т. 69. № 1. С. 50-58. DOI: 10.14341/probl13160.
2. Cain D. W., Cidlowski J. A. Immune regulation by glucocorticoids // Published in final edited form as: Nat Rev Immunol. 2017. Vol. 17. Is. 4. P. 233-247. DOI: 10.1038/nri.2017.1
3. Pofi R., Caratti G., Ray D. W., Tomlinson J. W. Treating the Side Effects of Exogenous Glucocorticoids; Can We Separate the Good From the Bad? // Endocr Rev. 2023. Vol. 44. Is. 6. P. 975-1011. DOI: 10.1210/endrev/bnad016.
4. Kalfest L., Galland L., Ledys F., Ghiringhelli F., Limagne E., Ladoire S. Impact of Glucocorticoid Use in Oncology in the Immunotherapy Era // Cells. 2022. Vol. 11. Is. 5. P. 770. DOI: 10.3390/cells11050770.

5. Hübner S., Dejager L., Libert C., Tuckermann J. P. The glucocorticoid receptor in inflammatory processes: transrepression is not enough // *Biol Chem.* 2015. Vol. 396. Is. 11. P. 1223-1231. DOI: 10.1515/hsz-2015-0106.
6. Botía M., Escribano D., Martínez-Subiela S., Tvarijonaviciute A., Tecles F., López-Arjona M., Cerón J. J. Different Types of Glucocorticoids to Evaluate Stress and Welfare in Animals and Humans: General Concepts and Examples of Combined Use // *Metabolites.* 2023. Vol. 13. Is. 1. P. 106. DOI: 10.3390/metabo13010106.
7. Ralph C. R., Tilbrook A. J. INVITED REVIEW: The usefulness of measuring glucocorticoids for assessing animal welfare // *Journal of Animal Science.* 2016. Vol. 94. № 2. P. 457-470. DOI: 10.2527/jas.2015-9645.
8. Hoyt L. T., Zeiders K. H., Ehrlich K. B., Adam E. K. Positive upshots of cortisol in everyday life // *Emotion.* 2016. Vol. 16. Is. 4. P. 431-435. DOI: 10.1037/emo0000174.
9. Юкина М. Ю., Чернова М. О., Нуралиева Н. Ф., Еремкина А. К., Трошина Е. А., Мельниченко Г. А., Мокрышева Н. Г. Влияние заместительной терапии глюкокортикоидами на костный обмен при надпочечниковой недостаточности. Обзор литературы // *Ожирение и метаболизм.* 2020. Т. 17. № 4. С. 357-368. DOI: 10.14341/omet12700.
10. Труш В. В., Соболев В. И. Модулирующее влияние адреналина на развитие стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением гидрокортизона // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2017. № 4. Т. 61. С. 104-111. DOI: 10.25557/IGPP.2017.4.8530.
11. Mims R. B. Suppression of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis after subcutaneous cortisone acetate administration in rats // *Journal of the National Medical Association.* 1977. Vol. 69. Is. 12. P. 873-878.
12. Джигоев И. Г., Гуцаева Э. А., Ремизов О. В., Березова Д. Т., Черткоева М. Г. Влияние гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральной воды Северной Осетии на функции почек при экспериментальном токсическом нефрите // *Современные проблемы науки и образования.* 2020. № 6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=30332> (дата обращения: 25.04.2024). DOI: 10.17513/spno.30332.
13. Langenfeld N. J., Payne L. E., Bugbee B. Colorimetric determination of urea using diacetyl monoxime with strong acids // *Public Library of Science.* 2021. Vol. 16. Is. 11. P. e0259760. DOI: 10.1371/journal.pone.0259760.
14. Zhao P., Higashijima Y., Sonoda H., Morinaga R., Uema K., Oguchi A., Matsuzaki T., Ikeda M. Glucocorticoid-induced acute diuresis in rats in relation to the reduced renal expression of sodium-dependent cotransporter genes // *Journal of Pharmacological Sciences.* 2024. Vol. 156. Is. 2. P. 115-124. DOI: 10.1016/j.jphs.2024.07.005.

15. Baehr V., Franzen N., Oelkers W., Pfeiffer A., Diederich S. Antidiuretic hormone (ADH) suppression during glucocorticoid therapy // Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2004. Vol. 112. P. 25. DOI: 10.1055/s-2004-832903.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование: Работа входит в НИР Северо-Осетинской государственной медицинской академии.

Financing: The work is part of the research work of the North Ossetian State Medical Academy.