

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПРОПРАНОЛОЛА И ИНГИБИТОРОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

О. Б. Кузьмин, Н. В. Бучнева, Л. Н. Ландарь¹

Пропранолол (0,5 мг/кг подкожно) увеличивает у наркотизированных крыс диурез в 1,60 раза ($p < 0,05$) с одновременным приростом выделения натрия и калия с мочой соответственно в 1,54 и 1,62 раза ($p < 0,05$). Предварительное подавление активности ренин-ангиотензиновой системы (РАС) с помощью ингибитора АПФ эналаприла (1 мг/кг, внутрь, 7 дней) повышает чувствительность почек крыс к пропранололу, увеличивая его диуретический эффект в 2,33 раза, натрийурез — в 2,49 раза и выделения калия с мочой — в 1,80 раза ($p < 0,05$). После предварительного введения животным антагониста АТ1-ангиотензиновых рецепторов лозартана (1 мг/кг, внутрь, 7 дней) пропранолол вызывает у крыс прирост диуреза в 1,89 раза, потери натрия с мочой — в 2,48 раза и калийуреза — в 1,71 раза ($p < 0,05$). Предварительное введение крысам прямого ингибитора ренина алискирена (4 мг/кг, внутрь, 7 дней) сопровождается увеличением диуретического эффекта пропранолола в 2,30 раза, натрийуреза — в 2,56 раза и выделения калия с мочой — в 2,27 раза ($p < 0,05$). Сделан вывод, что почечная тканевая РАС участвует в механизме действия пропранолола в почках, выполняя функцию модулятора, препятствующего избыточной потере воды и электролитов с мочой.

Ключевые слова: почка; пропранолол; эналаприл; лозартан; алискирен; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные средства из группы β -адреноблокаторов широко применяются совместно с ингибиторами ренин-ангиотензиновой системы (РАС) для лечения хронической сердечной недостаточности и артериальной гипертензии различного происхождения, которые характеризуются значительными водно-электролитными нарушениями [2, 4]. Клиническая эффективность этих препаратов в значительной мере связана с их влиянием на ионорегулирующую функцию почек, которая контролирует состояние водно-солевого баланса организма. Однако, несмотря на достаточно глубокую разработку современных представлений о механизме действия антагонистов β -адренорецепторов и ингибиторов РАС на транспорт натрия в нефроне, характер их фармакодинамического взаимодействия в почках практически не исследован. Между тем выяснение этого вопроса позволяет не только оценить особенности взаимодействия в почках β -адреноблокаторов с ингибиторами РАС, но и получить представление о роли РАС в механизме действия препаратов этого ряда на ионорегулирующую функцию почек.

В работе исследовано влияние ингибитора АПФ эналаприла, антагониста АТ1-ангиотензиновых рецепторов лозартана и прямого ингибитора ренина алискирена, разных по механизму и особенностям действия ингибиторов РАС, на формирование диуретического эффекта β -адреноблокатора пропранолола у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 40 наркотизированных тиопенталом натрия (50 мг/кг внутривенно) крысах-самцах массой 210–260 г (питомник “Столбовая”), получавших обычный рацион вивария. После наступления наркоза крысу фиксировали на спине и вскрывали брюшную полость. В мочевого пузыря и заднюю полую вену вводили катетеры для сбора мочи и введения 0,9 % раствора натрия хлорида, содержащего 0,25 % инулина, со скоростью 50 мкл/мин, которую поддерживали на постоянном уровне в течение всего эксперимента. Одновременно из мочевого пузыря в мерные пипетки собирали 10-минутные порции мочи. После стабилизации диуреза (разница объемов 2 последующих порций мочи не должна превышать 10 %), наступавшей через 30–40 мин после начала внутривенного введения жидкости, собирали 2 контрольные порции мочи, вводили пропранолол и исследовали функцию почек крыс в течение 80–90 мин наблюдения. Перед инъекцией препарата в середине и в конце эксперимента из хвостовой вены брали пробы крови в объеме 0,1 мл. В полученных образцах крови и мочи определяли концентрацию инулина антроновым методом [4] и исследовали содержание натрия и калия методом пламенной фотометрии на пламенном фотометре ПФМ МУ (РФ). Функцию почек оценивали по величине диуреза, клиренса инулина, характеризующего скорость клубочковой фильтрации (СКФ), выделению натрия и калия с мочой, экскретируемой фракции натрия, отражающей реабсорбцию этого иона в почках, и отношения натрий/калий мочи, которые рассчитывались по стандартным формулам в пересчете на 100 г массы животного [6].

¹ ГОУ ВПО “Оренбургский государственный медицинский университет” Министерства здравоохранения РФ, 460000, Оренбург, Парковый пр., 7.

Влияние ингибиторов РАС на показатели ионорегулирующей функции почек наркотизированных крыс при действии пропранолола ($M \pm m$)

Показатель	Пропранолол $n = 10$		Эналаприл $n = 10$		Лозартан $n = 10$		Алискирен $n = 10$	
	контроль	пропранолол	контроль	пропранолол	контроль	пропранолол	контроль	пропранолол
Клиренс инулина, мкл/мин/100 г	260,7 ± 23,9	268,0 ± 22,3	218,3 ± 15,8	263,3 ± 19,8*	206,0 ± 14,0	247,7 ± 18,1*	217,2 ± 12,8	251,1 ± 13,6*
Диурез, мкл/мин/100 г	2,09 ± 0,14	3,35 ± 0,29*	2,22 ± 0,16	5,17 ± 0,58*	2,08 ± 0,12	3,94 ± 0,26*	1,99 ± 0,07	4,58 ± 0,12*
Выделение натрия, мкмоль/мин/100 г	0,138 ± 0,014	0,213 ± 0,027*	0,136 ± 0,016	0,339 ± 0,034*	0,112 ± 0,015	0,278 ± 0,013*	0,112 ± 0,013	0,287 ± 0,036*
Экскретируемая фракция натрия, %	0,38 ± 0,05	0,61 ± 0,09*	0,47 ± 0,03	0,92 ± 0,13*	0,41 ± 0,04	0,81 ± 0,10*	0,38 ± 0,06	0,89 ± 0,12*
Выделение калия, мкмоль/мин/100 г	0,189 ± 0,017	0,306 ± 0,030*	0,168 ± 0,018	0,303 ± 0,036*	0,171 ± 0,023	0,293 ± 0,032*	0,155 ± 0,015	0,353 ± 0,041*
Натрий/калий мочи	0,77 ± 0,08	0,70 ± 0,08	0,85 ± 0,06	1,13 ± 0,07*	0,73 ± 0,05	0,87 ± 0,07	0,82 ± 0,12	0,81 ± 0,14

Примечание. Контроль — значения показателей до введения пропранолола (0,5 мг/кг подкожно) крысам в контрольных опытах и в экспериментах на животных, получавших предварительно внутрь эналаприл (1 мг/кг/сут), лозартан (1 мг/кг/сут) или алискирен (4 мг/кг/сут) в течение 7 дней, * $p < 0,05$.

Пропранолола гидрохлорид (субстанция “ISIS PHARMA”, Германия) вводили подкожно в дозе 0,5 мг/кг, вызывающей у крыс умеренную диуретическую реакцию. Ингибитор АПФ эналаприл (энап, “KRKA”, Словения), антагонист АТ1-ангиотензиновых рецепторов лозартан (козаар, “MERCK SHARP&DOHME”, Нидерланды) и прямой ингибитор ренина алискирен (расилез, “Novartis Farma”, Италия) вводились животным внутрь в течение 7 дней до проведения эксперимента в дозах соответственно 1, 1 и 4 мг/кг, которые примерно соответствуют высшим суточным дозам для человека. Каждый опыт ставился на 1 животном. Всего выполнено 4 серии экспериментов (40 опытов). Опыты проведены в соответствии с международными этическими стандартами. После окончания эксперимента животные подвергались эвтаназии с помощью передозировки наркоза.

Полученные данные статистически обработаны на персональном компьютере с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft, США). Достоверность различий результатов между выборками количественных данных проверяли с помощью параметрического критерия Вилкоксона [5]. Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Пропранолол и другие препараты этого ряда в условиях повышенной активности симпатической нервной системы тормозят реабсорбцию натрия в почках и вызывают характерную диуретическую реакцию, которая сопровождается увеличением выделения с мочой натрия и других электролитов [1, 8]. В формировании этого почечного эффекта участвуют β -адренорецепторы клеток толстого восходящего отдела петли Генле, блокада которых ведет к угнетению внутриклеточного сигнального пути аденилатциклаза — цАМФ — протеинкиназа А и снижению активности апикального

Na^+ , K^+ , 2Cl^- -переносчика, осуществляющего реабсорбцию натрия в этом сегменте нефрона [7, 9].

Введение пропранолола крысам в контрольных экспериментах вызывало умеренную диуретическую реакцию, которая возникала, как правило, спустя 20 мин после инъекции препарата и сопровождалась увеличением выделения с мочой ионов натрия и калия в течение всего периода наблюдения. Диурез, натрийурез и потеря с мочой ионов калия к 80 мин наблюдения возросли по сравнению с исходным уровнем соответственно в 1,60, 1,54 и 1,62 раза. Поскольку клиренс инулина, характеризующий величину СКФ, при этом существенно не изменился, имеются основания полагать, что причиной натрийуретического эффекта, возникающего у крыс при действии этого препарата, является угнетение реабсорбции натрия в почечных канальцах. Об этом прямо свидетельствует прирост величины экскретируемой фракции этого иона, отражающей количество натрия, выделяемого с мочой из профильтровавшейся в клубочках жидкости, с $(0,38 \pm 0,05) \%$ до $(0,61 \pm 0,09) \%$ ($p < 0,05$). Отношение натрий/калий мочи в этих условиях практически не изменилось, что указывает на примерно одинаковое увеличение под влиянием пропранолола потери обоих электролитов с мочой (таблица).

Плазменная и почечная тканевая РАС являются основными звеньями нейрогуморального механизма, который контролирует реабсорбцию натрия в почках для сохранения его в организме, и поддержания адекватного объема циркулирующей крови и АД. Ангиотензин II, взаимодействуя с АТ1-ангиотензиновыми рецепторами, стимулирует транспорт натрия в проксимальных канальцах, увеличивая активность Na^+/H^+ -ионообменника 3 типа, локализованного в апикальных мембранах канальцевых клеток, а также Na^+ , HCO_3^- -котранспортера и Na^+ , K^+ -АТФ-азы, обеспечивающих перенос ионов через их базолатеральные мембраны [10, 11]. Аналогичный эффект этот эффектор-

ный пептид РАС оказывает и на транспорт натрия в дистальных сегментах нефрона, повышая проницаемость Na^+ -каналов в апикальных мембранах клеток собирательных трубок [13]. Следовало поэтому ожидать, что предварительное угнетение активности РАС с помощью ее специфических ингибиторов может оказать существенное влияние на формирование диуретического и других почечных эффектов пропранолола, который тормозит реабсорбцию натрия в толстом восходящем отделе петли Генле.

Первоначальные результаты, полученные в экспериментах с ингибитором АПФ эналаприлом, подтвердили, что предварительное введение животным этого препарата заметно усиливает реакцию почек крыс на пропранолол. Если в контрольных опытах диурез к 80 мин наблюдения увеличился в 1,60 раза, то при совместном применении эналаприла и β -адреноблокатора этот показатель достоверно возрос в 2,33 раза. К этому времени количество теряемого с мочой натрия увеличилось с $(0,136 \pm 0,016)$ до $(0,339 \pm 0,034)$ мкмоль/мин/100 г ($p < 0,05$), т.е. в 2,49 раза, в то время как прирост натрийуреза в опытах с одним пропранололом составил 1,54 раза. В этих условиях отмечалось также достоверное увеличение СКФ, однако основной причиной более выраженной натрийуретической реакции, возникавшей при совместном применении обоих препаратов, стало угнетение реабсорбции натрия в почках. На это указывает почти двукратный прирост величины экскретируемой фракции этого иона. Одновременно наблюдалась более выраженная калийуретическая реакция, которой соответствовал достоверный прирост отношения натрий/калий мочи, свидетельствующий о преимущественном увеличении натрийуреза по сравнению с калийурезом (таблица).

Похожие данные были получены и при анализе взаимодействия пропранолола в почках крыс с антагонистом АТ1-ангиотензиновых рецепторов лозартаном. β -Адреноблокатор после предварительного введения крысам лозартана вызывал прирост СКФ и значительное угнетение реабсорбции натрия в почках. В результате потеря этого иона с мочой возросла с $(0,112 \pm 0,015)$ до $(0,278 \pm 0,013)$ мкмоль/мин/100 г ($p < 0,05$), что в 2,48 раза превышает ее исходную величину. При совместном применении этих препаратов у животных развивался также более выраженный калийуретический эффект. Отношение натрий/калий мочи в этих условиях существенно не изменилось (таблица).

В заключительной серии опытов для подавления активности РАС использовали прямой ингибитор ренина алискирен, который тормозит активность ренина и связанный с ним процесс синтеза ангиотензина II непосредственно в ткани почек [12].

Предварительное угнетение РАС алискиреном, так же как и в экспериментах с эналаприлом и лозартаном, повышало чувствительность почек крыс к пропрано-

лолу. Введение β -адреноблокатора на фоне действия прямого ингибитора ренина сопровождалось не только увеличением СКФ, но и существенно более выраженным приростом диуреза и выделения натрия с мочой. Количество теряемого с мочой натрия возросло с $(0,112 \pm 0,013)$ до $(0,287 \pm 0,036)$ мкмоль/мин/100 г, что соответствует приросту натрийуреза в 2,56 раза. Экскретируемая фракция натрия увеличилась при этом с $(0,38 \pm 0,06)$ % до $(0,89 \pm 0,12)$ % ($p < 0,05$), что прямо указывает на более значительное угнетение реабсорбции этого иона в почечных канальцах по сравнению с данными, полученными в контрольных экспериментах с одним пропранололом. Одновременно у крыс наблюдалась более выраженная калийуретическая реакция. Отношение натрий/калий мочи при этом практически не изменилось (таблица).

Таким образом, предварительное подавление активности РАС ингибитором АПФ эналаприлом, антагонистом АТ1-ангиотензиновых рецепторов лозартаном или прямым ингибитором ренина алискиреном усиливает у наркотизированных крыс диуретическое, калийуретическое и, особенно, натрийуретическое действие β -адреноблокатора пропранолола. В формировании этих почечных эффектов участвует прирост СКФ, однако основное значение имеет потенцирование ингибиторами РАС ингибирующего действия пропранолола на реабсорбцию натрия в канальцах почек. Результаты, полученные при оценке взаимодействия в почках пропранолола с различными ингибиторами РАС, позволяют также считать, что РАС прямо включается в механизм действия этого препарата на ионорегулирующую функцию почек, выполняя функцию модулятора, препятствующего избыточной потере воды и электролитов с мочой.

ВЫВОДЫ

1. Пропранолол (0,5 мг/кг подкожно) вызывает у наркотизированных крыс прирост диуреза в 1,60 раза, натрийуреза в 1,54 раза и потери калия с мочой в 1,62 раза ($p < 0,05$).
2. Предварительное введение крысам ингибитора АПФ эналаприла (1 мг/кг внутрь 7 дней) сопровождается увеличением диуретического эффекта пропранолола в 2,33 раза, натрийуреза в 2,49 раза и выделения калия с мочой в 1,80 раза ($p < 0,05$).
3. После предварительного введения животным антагониста АТ1-ангиотензиновых рецепторов лозартана (1 мг/кг внутрь 7 дней) пропранолол вызывает у крыс прирост диуреза в 1,89 раза, потери натрия с мочой в 2,48 раза и калийуреза в 1,71 раза ($p < 0,05$).
4. Предварительное введение крысам прямого ингибитора ренина алискирена (4 мг/кг внутрь 7 дней) увеличивает диуретический эффект пропранолола в 2,30 раза, натрийуреза в 2,56 раза и выделения калия с мочой в 2,27 раза ($p < 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. В. Бучнева, О. Б. Кузьмин, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **75**(11), 7 – 9 (2012).
2. *Комитет экспертов РМОАТ-ВНОК, Кардиоваскулярная терапия и профилактика*, **3**(6) Приложение, 4 – 32 (2008).
3. А. К. Макшеев, Б. М. Мирзоев, Ю. В. Вельтищев, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **55**(4), 121 – 124 (1963).
4. *Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОГ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр)*, Сердечн. недостат., **14**(7), 379 – 472 (2013).
5. О. Ю. Реброва, *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA*, Медиа-Сфера, Москва (2002).
6. С. И. Рябов, Ю. В. Наточин, *Функциональная нефрология*, Лань, Санкт-Петербург (1997).
7. M. Baum, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **298**(4), R954 – R958 (2010).
8. G. F. DiBona, I. I. Sawin, *Circulation*, **100**(1), 82 – 86 (1999).
9. M. Z. Naque, P. S. Caceres, P. A. Ortiz, *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, **303**(9), F.1307 – F.1314 (2012).
10. P. He, I. Klein, C. C. Yun, *J. Biol. Chem.*, **285**(36), 27869 – 27878 (2010).
11. M. Mamenko, O. Zaika, D. Ilatovskaya, et al., *J. Biol. Chem.*, **287**(1), 660 – 671 (2012).
12. M. Sakoda, A. Ishihara, A. Kurauchi-Mito, et al., *Am. J. Hypertens.*, **23**(5), 575 – 580 (2010).
13. O. Zaika, M. Mamenko, A. Staruschenko, *Curr. Hypertens. Rep.*, **15**(1), 17 – 24 (2013).

Поступила 10.06.15

INTERACTION OF BETA-BLOCKER
PROPRANOLOL WITH RENIN-ANGIOTENSIN
SYSTEM INHIBITORS IN RAT KIDNEY

O. B. Kuzmin, N. V. Buchneva, L. N. Landar

Orenburg State Medical Academy, Parkovaya ul. 7,
Orenburg, 460000, Russia

Propranolol (0,5 mg/kg, s.c.) increases in anesthetized rats diuresis in 1,60 times ($p < 0,05$) with simultaneous increase of sodium and potassium excretion in 1,54 and 1,62 times ($p < 0,05$). Prior inhibition of RAS activity using ACE inhibitor enalapril (1 mg/kg, orally, 7 days) increases the sensitivity of the rat kidney to drug, increasing its diuretic effect in 2,33 times, natriuresis in 2,49 times and urine potassium excretion in 1,80 times ($p < 0,05$). After preliminary introduction AT1-angiotensin receptor antagonist losartan (1 mg/kg, orally, 7 days) propranolol causes an increase of diuresis in 1,89 times, loss of urine sodium in 2,48 times and kaliuresis in 1,71 times ($p < 0,05$). Preliminary administration of direct renin inhibitor aliskiren (4 mg/kg, orally, 7 days) is accompanied by an increase in diuretic effect of propranolol in 2,30 times, natriuresis in 2,56 times and urine potassium excretion in 2,27 times ($p < 0,05$). It is concluded that renal tissue RAS involved in the mechanism of propranolol action in the kidney, acting as modulator, preventing excessive loss of water and sodium with urine.

Key words: kidney; propranolol; enalapril; losartan; aliskiren; rats.