

# ФАРМАКОЛОГИЯ ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

## О ВЛИЯНИИ ЛОЗАРТАНА НА ТЕЧЕНИЕ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ КРЫС ЭТИЛЕНГЛИКОЛЕМ

О. В. Ветряков, В. Н. Быков, М. А. Юдин, А. С. Никифоров<sup>1</sup>

Исследовано влияние блокатора рецепторов ангиотензина II (лозартана) на течение острой почечной недостаточности (ОПН) тяжелой степени у крыс, вызванной отравлением этиленгликолем в дозе 2/3 ЛД<sub>50</sub>. Показано, что на фоне введения лозартана в дозе 20 мг/кг в течение 3 сут достоверно (в 4 раза) возрастала частота гибели животных, что было связано с переходом развившейся ОПН в стадию декомпенсации. Отмечены выраженные изменения качественного и количественного состава суточного диуреза, более чем 8-кратное повышение содержания креатинина и 18-кратное повышение содержания мочевины в крови. Применение лозартана на фоне отравления крыс этиленгликолем приводит к более выраженной дистрофии эпителия проксимальных канальцев и деструкции клубочков. Сделан вывод о нецелесообразности применения лозартана при ОПН.

**Ключевые слова:** этиленгликоль; нефротоксическая острая почечная недостаточность; лозартан

### ВВЕДЕНИЕ

Расширение представлений о патогенезе острой почечной недостаточности (ОПН) привело к увеличению спектра потенциальных нефропротекторов и совершенствованию методов экстракорпоральной детоксикации [2]. Однако несмотря на применение гемосорбции и гемодиализа летальность при нефротоксической почечной недостаточности достигает 50 % [4]. К числу важнейших факторов, определяющих течение ОПН, относится внутривисцеральная вазоконстрикция [13]. Иницирующим моментом ее развития служит дисфункция ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, опосредованная ОПН. Показано, что содержание эндотелина, окиси азота и ангиотензина II в сосудах определяет скорость HgCl<sub>2</sub>-индуцированной гибели эпителиоцитов проксимальных канальцев, при этом последнему вазоконстриктору отводится ведущая роль [12].

В последнее время обсуждается положительное влияние блокаторов рецепторов ангиотензина II на течение различных патологических процессов в почках [6, 8]. Эти препараты используют для лечения нефропатий проявляющихся микроальбуминурией [3]. Однако вопрос о необходимости их применения при ОПН до настоящего времени не решен. Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента и блокаторы рецепторов ангиотензина II негативным образом влияют на функцию почек при стенозе почечных артерий и на фоне приема диуретиков [10]. Возможность их применения при нефротоксической ОПН до настоящего времени не изучена.

Цель исследования состояла в изучении эффективности применения лозартана на модели ОПН, индуци-

рованной этиленгликолем. Выбор лозартана из группы блокаторов рецепторов ангиотензина II обусловлен его широким использованием в клинической практике.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 150 крысах-самцах Вистар массой 180 – 200 г, которых содержали в стандартных условиях вивария. За 12 ч до начала эксперимента животных лишали пищи. Для моделирования ОПН однократно внутрижелудочно вводили этиленгликоль в дозе 2/3 ЛД<sub>50</sub> (6,1 г/кг). Наблюдение за выжившими крысами осуществляли на протяжении 28 сут.

Животных делили на 4 группы: 1 — интактная, 2 — контроль отравления (отравление и введение физиологического раствора), 3 — контроль терапии (отравление и введение внутрь препарата сравнения унитиола в дозе 50 мг/кг); 4 — опыт (отравление и введение внутрь лозартана в дозе 20 мг/кг). Доза лозартана 20 мг/кг определялась как эффективная гипотензивная, установленная в предварительных экспериментах на гипертензивных крысах. Выбор дозы унитиола (50 мг/кг) был обусловлен тем, что препарат в этой дозе снижал образование свободных радикалов при экспериментальном гепатите. Препараты применяли ежедневно однократно в течение 7 сут после отравления.

После отравления этиленгликолем животных помещали в обменные клетки и собирали мочу в условиях спонтанного диуреза в течение 24 ч. Изучаемые показатели в пробах мочи определяли, используя полоски Dekaphan Leuco ("Pliva-Lachema", Чехия). Повторные анализы мочи у выживших животных выполняли через 2, 7, 14 и 28 сут после начала эксперимента. Исследование концентрации креатинина (в мкмоль/л) и мочевины (в мкмоль/л) в плазме крови выполняли в те же сроки на биохимическом анализаторе Synchron CX3 Delta.

<sup>1</sup> Научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, 195043, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, 4.

У погибших животных проводили гистологическое исследование почек. Материал фиксировали в 10 % нейтральном формалине и заливали в парафин. Срезы толщиной 5 – 7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и анализировали при увеличении  $\times 100$  на микроскопе Leica DMRE.

Сравнение среднелетальных и среднеэффективных доз проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Среднюю ошибку альтернативных показателей определяли по таблицам Генеса [1]. Для оценки значимости межгрупповых различий альтернативных показателей использовали  $\chi^2$ -критерий Пирсона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Введение крысам этиленгликоля в дозе 2/3 ЛД<sub>50</sub> сопровождалось развитием у животных выраженной атаксии вплоть до полной утраты способности к самостоятельному передвижению. В контрольной группе в течение трех суток после отравления отмечали гибель животных. Общий показатель гибели составил  $23 \pm 8$  % (табл. 1).

На фоне унитиола снижалась частота гибели животных до  $12 \pm 6$  %, однако эти изменения были недостоверны. У крыс, которым вводили лозартан, общее состояние через 1 сут после введения нефротоксиканта по сравнению с животными других экспериментальных групп было более тяжелым. У них отмечали выраженную гиподинамию и отсутствие реакции на внешний раздражитель (громкий звук). В группе после курсового введения лозартана отмечали увеличение частоты гибели крыс во все сроки наблюдения. Общий показатель гибели животных в 4 раза (при  $p < 0,001$ ) превышал значения контрольной группы. У выживших животных регистрировали существенное (более чем на 30 г) снижение массы тела по сравнению с фоном.

Негативное влияние лозартана на состояние отравленных животных подтверждалось результатами оценки биохимических маркеров ОПН в период максимальных расстройств фильтрационной функции почек в результате острого тубулярного некроза на 2-е сут после отравления этиленгликолем [7] (табл. 2).

Таблица 1. Влияние лозартана на частоту (в %) и сроки наступления гибели крыс после отравления этиленгликолем в дозе 2/3 ЛД<sub>50</sub> ( $M \pm m_M$ ,  $n = 26$ )

| Группа / препарат          | Относительная частота ( $\bar{P}$ ), %, и сроки наступления гибели |             |            | Общая гибель, $P \pm m_p$ | $\chi^2$ -критерий Пирсона в сравнении с группой контроля |
|----------------------------|--|-------------|------------|---------------------------|---|
|                            | 1 сут  | 2 сут       | 3 сут      |                           |   |
| Контроль отравления        | $12 \pm 6$   | $8 \pm 5$   | $4 \pm 4$  | $23 \pm 8$                | -   |
| Контроль терапии (унитиол) | $4 \pm 4$  | $8 \pm 5$   | $0 + 4$    | $12 \pm 6$                | 0,54  |
| Опыт (лозартан)            | $35 \pm 10$  | $35 \pm 10$ | $23 \pm 8$ | $93 \pm 5,0$              | 28,44*  |

\* — различия со значениями контрольной группы достоверны при  $p < 0,001$ .

На 2-е сут после отравления этиленгликолем регистрировали двукратное (при  $p < 0,05$ ) повышение концентрации креатинина в плазме крови животных контрольных групп по сравнению с интактными крысами. Изменения содержания мочевины в этих группах носили сходный характер и превышали фоновые значения в 4 раза (при  $p < 0,05$ ). Показатели креатинина и мочевины восстанавливались до уровня интактных животных через 7 и 14 сут после отравления этиленгликолем, соответственно.

У животных, которым вводили лозартан, изменения биохимических маркеров были наиболее выражены. Отмечали 8-кратное увеличение содержания креатинина, а концентрация мочевины повышалась в 18 раз (при  $p < 0,001$ ). Достоверные отличия этих показателей от контроля вместе с увеличением гибели животных свидетельствовали о переходе ОПН в стадию декомпенсации.

Через 2-е сут после отравления крыс этиленгликолем регистрировали изменения качественного и количественного состава мочи, которые проявлялись снижением объема суточного диуреза в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ),

Таблица 2. Влияние лозартана на концентрацию креатинина и мочевины в крови крыс после отравления этиленгликолем в дозе 2/3 ЛД<sub>50</sub> ( $M \pm m_M$ ,  $n = 6$ )

| Группа / препарат                  | Фон              | 2 сут                     | 7 сут             | 14 сут           | 28 сут           |
|------------------------------------|------------------|---------------------------|-------------------|------------------|------------------|
| Концентрация креатинина (мкмоль/л) |                  |                           |                   |                  |                  |
| Интактная                          | $36,67 \pm 1,50$ | $35,71 \pm 2,50$          | $35,98 \pm 3,14$  | $36,70 \pm 0,50$ | $34,67 \pm 3,38$ |
| Контроль отравления                |                  | $76,50 \pm 8,67^*$        | $43,33 \pm 6,21$  | $34,50 \pm 2,22$ | $40,00 \pm 1,15$ |
| Контроль терапии (унитиол)         |                  | $52,5 \pm 5,21^*$         | $38,2 \pm 2,93$   | $37,7 \pm 2,32$  | $37,8 \pm 1,66$  |
| Опыт (лозартан)                    |                  | $263,50 \pm 48,42^{**\#}$ | -                 | -                | -                |
| Концентрация мочевины (ммоль/л)    |                  |                           |                   |                  |                  |
| Интактная                          | $4,40 \pm 0,27$  | $4,31 \pm 0,17$           | $4,48 \pm 0,09$   | $4,10 \pm 0,29$  | $4,52 \pm 0,71$  |
| Контроль отравления                |                  | $18,27 \pm 4,33^*$        | $6,67 \pm 0,66^*$ | $4,65 \pm 0,76$  | $3,72 \pm 0,49$  |
| Контроль терапии (унитиол)         |                  | $16,1 \pm 2,19^{***}$     | $7,6 \pm 2,12^*$  | $7,2 \pm 1,73$   | $3,9 \pm 0,36$   |
| Опыт (лозартан)                    |                  | $77,57 \pm 8,71^{**\#}$   | -                 | -                | -                |

**Примечание.** Различия со значениями интактной группы достоверны: \* — при  $p < 0,01$ ; \*\* — при  $p < 0,001$ ; # — при  $p < 0,05$ .

изменениями биохимического и клеточного состава мочи (табл. 3).

Регистрировали достоверное снижение рН, протеинурию (более 0,3 г/л), 10-кратное повышение концентрации глюкозы (при  $p < 0,05$ ). Выраженная протеинурия и эритроцитурия, регистрируемые на фоне олигурии, свидетельствовали о повреждении фильтрационного эндотелия клубочков и гломерулярной мембраны, а глюкозурия — о дисфункции эпителия канальцев.

Применение унитиола сопровождалось достоверным улучшением показателей суточного диуреза и относительной плотности мочи, что свидетельствовало о сохранении фильтрационной и концентрационной функций почек. Нефропротекторное действие препарата подтверждалось более низкой эритроцитурией по сравнению с группой контроля. У животных этой группы регистрировали нормальное содержание глюкозы в суточной моче.

На фоне лозартана отмечали резкое ухудшение основных параметров, характеризующих функциональное состояние почек, как по сравнению с интактными животными, так и по сравнению с крысами контрольных групп. Цвет мочи приобретал мутно-розовый оттенок, а выраженная эритроцитурия до  $175 \pm 27,87$  эритроцит/мкл (при  $1,67 \pm 1,05$  эритроцит/мкл в интактной группе) свидетельствовала о макрогематурии. Резкое снижение объема суточного диуреза в 8 раз по отношению к интактным крысам ( $p < 0,01$ ) и в 3 раза по отношению к группе контроля ( $p < 0,05$ ) свидетельствовали о более тяжелых нарушениях фильтрационной функции почек и формировании олиго-анурической стадии ОПН. Для этой группы была характерна гиперстенурия ( $p < 0,05$ ) и выраженная протеинурия ( $3 \pm 1,15$  г/л), более чем 3-кратное повышение глюкозы в моче по сравнению с препаратом сравнения. Выраженные изменения биохимического и клеточного состава мочи у животных на фоне лозартана позволили сделать вывод о его неблагоприятном влиянии на течение ОПН. Величина изменений маркеров функциональной активности почек по сравнению с контролем свидетельствовала о формировании деком-

пенсированной стадии нефротоксической ОПН и подтверждалась морфологическими данными.

Через 3-е суток после острого отравления этиленгликолем у погибших крыс в почках выявляли выраженные изменения морфологической картины (рисунк). Отмечали полнокровие артериол с нарушением клеточной структуры клубочков, расширение и полнокровие сосудов преимущественно коркового вещества почек. В клубочках наблюдали уменьшение кровенаполнения, слущивание эндотелиоцитов с оголением базальной мембраны, субэндотелиальные отложения фибрина. Регистрировали зернистую дистрофию эпителия нефроцитов, некробиоз канальцев и множественные кристаллы оксалата кальция в их просвете.

Введение лозартана в отличие от унитиола негативно отражалось на гистологической картине почек. Отмечали набухание и зернистую дистрофию эпителия проксимальных канальцев, часть клеток не содержала ядер, часть теряла связь с базальной мембраной. Гирлянды таких клеток и белковые цилиндры выявляли в просветах дистальных канальцев, где они обтурировали просвет. Капсулы клубочков были деструктурированы, полнокровны, увеличены в диаметре, в просвете части клубочков наблюдали белковые эозинофильные массы, капиллярные петли полусжавшиеся, хотя кровоток в них сохранен.

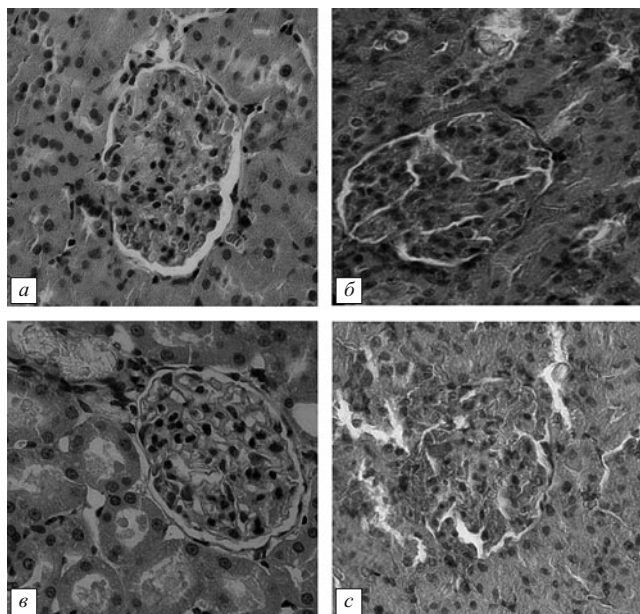
Дальнейшее наблюдение за животными группы контроля и контроля терапии показало, что обратное развитие ОПН начиналось не ранее, чем через 14 сут после острого отравления крыс этиленгликолем. Через 28 сут после начала эксперимента наблюдали признаки развития полиурической стадии ОПН (увеличение диуреза и снижение удельного веса). Биохимические показатели, а также показатели клеточного состава мочи и крови находились в пределах видовой нормы.

Данные литературы подтверждают положительное влияние блокаторов рецепторов ангиотензина II на течение нефропатии различной этиологии (гентамицин-, стрептозоцин-индуцированная и диабетическая нефропатия) [2, 6, 8]. Показано, что лозартан уменьшает развитие воспалительной реакции на модели ишемического повреждения почек [9]. Показанием для назна-

Таблица 3. Влияние лозартана на показатели мочи крыс через 2-е сут после отравления этиленгликолем в дозе 2/3 ЛД<sub>50</sub> ( $M \pm m_M$ ,  $n = 6$ )

| Показатель                | Группы        |                     |                            |                   |
|---------------------------|---------------|---------------------|----------------------------|-------------------|
|                           | Интактная     | Контроль отравления | Контроль терапии (унитиол) | Опыт (лозартан)   |
| Количество, мл            | 16,0 ± 3,48   | 6,5 ± 1,80*         | 9,8 ± 1,79                 | 2,1 ± 0,60**#     |
| Цвет                      | светло-желтый | темно-желтый        | желтый                     | мутно-розовая     |
| Уд. вес, ед.              | 1,021 ± 0,002 | 1,026 ± 0,002       | 1,020 ± 0,001              | 1,030 ± 0,003*    |
| рН, ед.                   | 6,63 ± 0,09   | 5,88 ± 0,12**       | 0,80 ± 0,20*               | 5,50 ± 0,29**     |
| Белок, г/л                | 0,10 ± 0,06   | 0,48 ± 0,13*        | 6,00 ± 0,13**              | 3,00 ± 1,15*      |
| Глюкоза, ммоль/л          | 0,47 ± 0,29   | 4,1 ± 0,80**        | 0,30 ± 0,05*               | 14,1 ± 2,78***##  |
| Лейкоциты, лейкоцит/мкл   | 7,5 ± 1,12    | 37,0 ± 12,50*       | 1,7 ± 0,83                 | 68,7 ± 6,20***#   |
| Эритроциты, эритроцит/мкл | 1,67 ± 1,05   | 80,0 ± 17,44**      | 49,0 ± 15,87*              | 175,0 ± 27,87***# |

**Примечание.** Различия со значениями интактной группы достоверны: \* — при  $p < 0,05$ ; \*\* — при  $p < 0,01$ ; \*\*\* — при  $p < 0,001$ ; # — при  $p < 0,05$ ; ## — при  $p < 0,01$ .



Микрофотографии почек крыс, погибших на 3-и сутки после острого отравления этиленгликолем и введения препаратов.

а — интактные животные, б — группа контроля, в — лечение унитиолом, з — лечение лозартаном. Ув.  $\times 100$ .

чения препаратов этого класса служит артериальная гипертензия, сопровождающаяся протеинурией и микроальбуминурией [3]. Вместе с тем их использование в остром периоде отравления нефротоксикантами может сопровождаться ухудшением выделительной функции почек. Экспериментальными исследованиями показано, что ежедневное введение крысам лозартана в желудок в дозе 20 мг/кг способствовало усугублению общего состояния животных с ОПН, вызванной отравлением этиленгликолем. Назначение препарата в острый период развития нефротоксической почечной недостаточности приводило к гибели более 90 % животных в группе, в то время как частота гибели в контроле не превышала 25 %. На фоне лозартана отмечали достоверное увеличение концентрации креатинина и мочевины в 8 и 18 раз соответственно, по отношению к фоновым показателям. Эти же изменения относительно контрольных групп составили 2 и 4-кратные отличия. Более выраженные изменения качественных,

количественных показателей суточного диуреза и гистоархитектоники клубочков и канальцев почек у животных, которым вводили лозартан, свидетельствовали о переходе ОПН в стадию декомпенсации и могли быть обусловлены снижением фильтрационного давления и тканевой гипоксией [1, 5]. Эти процессы на фоне нарастания ацидоза могли усилить нефротоксическое действие этиленгликоля и его метаболитов.

## ВЫВОДЫ

1. Лозартан на фоне отравления этиленгликолем ухудшает состояние животных и инициирует развитие декомпенсации острой почечной недостаточности (ОПН).

2. Назначение блокаторов рецепторов ангиотензина II в острый период развития нефротоксической ОПН сопряжено с риском нарушений фильтрационной функции и повреждений канальцевого аппарата почек.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. С. Генес, *Некоторые простые методы кибернетической обработки данных диагностических и физиологических исследований*, Наука, Москва (1967).
2. Т. Ю. Медведева, *Дисс. канд. мед. наук*, Санкт-Петербург (2001).
3. О. А. Цветкова, М. Х. Мустафина, *Русский мед. журн.*, **17**(9), 1 – 6 (2009).
4. V. Adhiyaman, *J. R. Soc. Med.*, **94**(10), 512 – 514 (2001).
5. H. Eliahou, *Am. J. Nephrol.*, **21**, 78 – 83 (2001).
6. B. Kalendera, *Acta Histochemica*, **104**(2), 123 – 130 (2002).
7. M. Lauren, *Toxicol. Sci.*, **117**(1), 25 – 35 (2010).
8. N. Mihailovic-Stanojevic, *Nephrology dialysis transplantation*, **24**(4), 1142 – 1150 (2009).
9. S. M. Molinasa, C. Cortés-González, Y. González-Bobadilla, *Nephron experimental nephrology*, **112**(1), (2009).
10. P. Dionisio, M. Valenti, E. Caramello, R. Bergia, et al., *The Italian journal of urology and nephrology*, **52**(3), 123 – 125 (2000).
11. L. J. Schep, R. J. Slaughter, W. A. Temple, et al., *Clin. Toxicol (Phila)*, **47**(6), 525 – 535 (2009).
12. H. Yanagisawa, M. Nodera, Y. Umemori, Y. Shimoguchi, et al., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **152**, 315 – 326 (1998).
13. Z. Miloradovic, M. Jerkic, Đ. Jovic, N. Mihailovic-Stanojevic, *Nephrol Dial Transplant*, **22**, 2476 – 2484 (2007).

Поступила 04.04.12

## EFFECT OF LOSARTAN ON ACUTE RENAL FAILURE INDUCED BY SEVERE ETHYLENE GLYCOL POISONING IN RATS

O. V. Vetryakov, V. N. Bykov, M. A. Yudin, and A. S. Nikiforov

Scientific Research Institute of Military Medicine, Ministry of Defense of Russian Federation, ul. Lesoparkovaya 4, St. Petersburg, 195043, Russia

The effect of an angiotensin receptor II antagonist (losartan) on the model acute renal failure (ARF) induced by severe ethylene glycol poisoning at 2/3 LD50 has been studied in rats. It is established that losartan administration (20 mg/kg for 72 h) produces a significant (4-fold) increase in the animal death rate, which is associated with ARF transition to a decompensation stage. Pronounced changes in the qualitative and quantitative composition of diurnal diuresis, more than 8-fold increase in the creatinine level, and 18-fold increase in the blood urea have been observed. Thus, the administration of losartan to ethylene glycol poisoned rats causes more pronounced degeneration of proximal tubule epithelium and destruction of glomeruli. It is concluded that the use of losartan for the treatment of ARF is inexpedient.

**Key words:** Ethylene glycol, acute renal failure, losartan