

# ФАРМАКОЛОГИЯ ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ НЕФРОЛИТИАЗ: НЕФРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ АНТАГОНИСТОВ КАЛЬЦИЯ

А. Б. Батько, Р. А. Осешнюк<sup>1</sup>

Цель работы: оценить уровень мочевого экскреции ферментов лактатдегидрогеназы КФ1.1.1.27 (ЛДГ) и  $\gamma$ -глутамилтрансферазы КФ2.3.2.2 ( $\gamma$ -ГГТ) на экспериментальной модели нефролитиаза, выявить способы фармакологической защиты почек. Проведена оценка выраженности энзимурии на модели нефролитиаза при использовании антагонистов кальция. Установлено, что антагонисты кальция снижают экскрецию ЛДГ почти на 20 %,  $\gamma$ -ГГТ — более 40 %.

**Ключевые слова:** энзимурия; уролитиаз; антагонисты кальция

### ВВЕДЕНИЕ

В связи с особенностями кровотока почечная ткань чувствительна к гипоксии. Проксимальные почечные каналцы даже в обычном состоянии находятся на грани гипоксии, поэтому даже умеренное снижение почечного кровотока усугубляет это состояние, что проявляется повреждением клеток каналцев и является пусковым механизмом прогрессирования хронической болезни почек. Наличие конкремента в почке при нефролитиазе приводит к нарушению микроциркуляции сосочково-чашечной зоны с развитием локальной ишемии и последующим каскадом гемодинамических изменений, приводящих к развитию склеротических процессов в паренхиме [2]. В настоящее время предложен ряд биомаркеров (эндотелиальной дисфункции — NO, VEGF, эндотелин-1; тубулярной дисфункции —  $\beta_2$ -МГ; ферментов — ЛДГ,  $\gamma$ -ГГТ и др.), экскретируемых с мочой и позволяющих дифференцировать заболевание на ранних стадиях. Большинство этих маркеров экспрессируются в каналцевом аппарате почек и в повышенных количествах выделяются с мочой, что позволяет оценить эффект лекарственных средств. Определение маркеров эндотелиальной и тубулярной дисфункции в клинической практике является трудоемким и дорогостоящим исследованием. В свою очередь проведенные в последние годы исследования позволяют судить о целесообразности применения в рутинной практике клинициста информативные и чувствительные методы исследования функционального состояния почек, к которым относится мочевого экскреция ферментов.

Цель исследования — оценить уровень экскреции ферментов с мочой (энзимурии) КФ1.1.1.27 (ЛДГ) и  $\gamma$ -глутамилтрансферазы КФ2.3.2.2 ( $\gamma$ -ГГТ) на экспериментальной модели нефролитиаза при использовании антагонистов кальция (АК).

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальный нефролитиаз (ЭН) вызывали по методике S. Kumar (1991). Исследование проведено в осенний период на 34 аутбредных крысах-самцах линии Вистар, массой 220 – 270 г, которых содержали на стандартной диете при естественном световом режиме. На 7, 14 и 21-е сутки животных помещали в индивидуальные клетки, приспособленные для сбора мочи. Экспериментальные животные получали 1 % раствор этиленгликоля вместо воды. Введение препаратов осуществлялось внутривенно с помощью атравматического зонда один раз в сутки, в строго установленное время. В работе исследовали АК — производное дигидропиридина нифедипин (KRKA, Словения) в дозе 11 мг/кг и отечественное производное бензопирана А-29 (СПб НИИВС, Россия) в дозе 5 мг/кг, что составляло ED<sub>50</sub> в соответствии с Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (Р. У. Хабриев, 2005). Препарат А-29 обладает спазмолитическими свойствами и улучшает кровоток в ишемизированной зоне, способствует более быстрому восстановлению нарушенного белкового, энергетического и электролитного баланса, улучшает морфофункциональное состояние зоны ишемии. Препарат запатентован в России и разрешен к применению в медицинской практике Фармакологическим Государственным комитетом МЗ РФ в качестве противоишемического средства (приказ МЗ РФ № 202 от 14.07.97). По структуре он представляет 7,7'-этилендиоксисбензопиран-2,2'-дион.

Экспериментальные животные были разделены на шесть групп. Интактным (интактная группа — ИГ,  $n = 6$ ) и контрольным животным (контрольная группа — КГ,  $n = 5$ ) в качестве плацебо вводили per os 1 % крахмальную взвесь в объеме до 2 мл, также в строго установленное время. Группа животных получала нифедипин per os в дозе 11 мг/кг с момента начала эксперимента (нифедипин-профилактика — НП,  $n = 6$ ). Следующая группа получала нифедипин в той же дозе с 21-го дня эксперимента (с момента достижения патологии), на протяжении 14

<sup>1</sup> Национальный медико-хирургический центр им. Н. И. Пирогова, 190103, Санкт-Петербург, наб. реки Фонтанки, 154.

дней (нифедипин-лечение — НЛ,  $n = 6$ ). Остальные две группы животных получали per os препарат А-29 в дозе 5 мг/кг по аналогичной схеме: одна группа с 1-го по 21-й день эксперимента (А-29-профилактика — АП,  $n = 5$ ), другая с 21-го на протяжении 14 дней (А-29-лечение — АЛ,  $n = 6$ ).

О функциональном состоянии почек судили по концентрации мочевины и креатинина в моче, относительной плотности мочи, диурезу. Маркерами повреждения почечного эпителия при ЭН служили количественные показатели экскреции лактатдегидрогеназы КФ1.1.1.27 (ЛДГ) и  $\gamma$ -глутамилтрансферазы КФ2.3.2.2 ( $\gamma$ -ГГТ) [1], определяемые с помощью набора тест-системы “ПАРМА — диагностика” (Россия). Полученные результаты сравнивали между собой и с усредненными показателями (норма у крыс — мочевина в моче: 698 – 832 мкмоль/л; креатинин в моче: 21 – 30 мкмоль/л; ЛДГ: менее 0,5 Ед/л;  $\gamma$ -ГГТ: менее 1,5 Ед/л).

Рост мочевой экскреции ЛДГ свидетельствует о цитоллизе клеток канальцев, т.к. данный фермент является цитозольным и свидетельствует о разрушении клеток. Так как наибольшее количество  $\gamma$ -ГГТ обнаружено в почечной ткани [3], а сам фермент является мембраносвязанным, повышение его мочевой экскреции обусловлено повреждением мембран клеток почечных канальцев в экспериментальных условиях. Таким образом, созданная экспериментальная модель подтверждает постулат о целесообразности применения цитопротекторных препаратов. Учитывая роль ионов кальция в патогенезе подобных повреждений, применение АК представляется целесообразным.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения мочевой экскреции мочевины и креатинина характеризовали развитие почечной патологии, однако эти показатели отстают от времени повреждения и не позволяют дифференцировать острое почечное повреждение от хронического почечного заболевания. Экскреция ферментов позволяет на ранней стадии выявить возможные повреждения и адекватно проводить фармакологическую коррекцию.

В течение первой недели эксперимента мочевая экскреция ЛДГ выросла в 7,5 раз, что свидетельствует о цитоллизе клеток почечных канальцев, т.к. данный фермент является цитоплазматическим и равномерно распространен между корковым и мозговым слоем почек. Дальней-

шее снижение экскреции ЛДГ, по нашему мнению, свидетельствует о развитии адаптивных механизмов почечных канальцев. В свою очередь, мочевая экскреция  $\gamma$ -ГГТ нарастала медленно, что связано с особенностями данного фермента, и превышала исходные значения в 3,5 раза, начиная со второй недели до конца эксперимента.

Маркеры повреждения почечных канальцев, которые проявлялись повышением мочевой экскреции изучаемых ферментов при ЭН, по нашему мнению были достаточно информативными показателями фармакологической активности изучаемых АК.

На фоне профилактического применения АК обеих групп отмечено снижение показателей уровня энзимургии. На протяжении эксперимента в группах НП и АП активность ЛДГ была выше, чем в ИГ, но статистически достоверно отличалась от КГ и была более выражена у препарата А-29. Однако на фоне лечения экспериментальных животных АК, активность энзимургии нормализовалась только в группе АЛ, статистически достоверно отличаясь от подобных показателей КГ, а в группе НЛ снижение  $\gamma$ -ГГТ произошло к окончанию курса лечения только на 46 %, что носило статистически недостоверный характер.

В настоящее время нефропротекторное действие АК изучено в экспериментальных и клинических условиях и не вызывает сомнений, однако спорной является точка приложения данных препаратов у больных нефролитиазом. Несомненно, важное значение имеет влияние АК на почечную гемодинамику, однако используемые нами биохимические маркеры повреждения почечных канальцев позволяют предполагать и другие влияния АК.

## ВЫВОД

На модели нефролитиаза антагонисты кальция (нифедипин, А-29) снижают экскрецию лактатдегидрогеназы и  $\gamma$ -глутамилтрансферазы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. М. Брюханов, Я. Ф. Зверев, В. В. Лампатов и др., *Нефрология*, № 1, 69 – 74 (2008).
2. П. В. Глыбочко, А. А. Свистунов, А. Н. Россоловский и др., *Урология*, № 3, 3 – 6 (2010).
3. С. К. Veena, A. Josephine, S. P. Preetha, *Life Sci.*, № 19, 1789 – 1795 (2006).

Поступила 03.08.12

## EXPERIMENTAL NEPHROLITHIASIS: NEPHROPROTECTIVE EFFECT OF CALCIUM ANTAGONISTS

A. B. Bat'ko and R. A. Oseshnyuk

Pirogov National Medical Surgery Center, nab. Fontanki 154zh, St. Petersburg, 190103, Russia

Increasing intracellular calcium ion concentration in the cytoplasm is the starting point in the activation of cell death. Regulation of these pathological processes in various organs and tissues is possible using agents from the group of calcium antagonists. This study was aimed at assessing the level of urinary excretion of two enzymes, lactate dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27) and  $\gamma$ -glutamyltransferase (GGT, EC 2.3.2.2), calcium antagonists in an experimental model of nephrolithiasis and finding ways to pharmacological protection of the kidneys. It established that the use of calcium antagonists can reduce the excretion of LDH by 20% and the excretion of GGT by more than 40%.

**Key words:** Urinary enzyme excretion; urolithiasis; calcium antagonists