

ФАРМАКОЛОГИЯ ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ НА ЭФФЕКТЫ ДОФАМИНА В ПОЧКЕ КРЫСЫ

О. Б. Кузьмин, Л. Н. Ландарь, Н. В. Бучнева¹

Дофамин (1 мг/кг, подкожно) вызывает у наркотизированных крыс прирост диуреза в 2,2 раза ($p < 0,05$), которому сопутствует повышение выделения с мочой ионов натрия и калия в 2,15 и 2,77 раза соответственно ($p < 0,05$). Предварительное введение крысам ингибитора АПФ эналаприла (1 мг/кг, внутрь, 7 сут) усиливает реакцию почек на дофамин с увеличением его диуретического эффекта в 3,5 раза, натрийуреза – в 3,2 раза и выделения калия с мочой – в 5 раз ($p < 0,05$). После предварительного введения животным антагониста АТ₁-ангиотензиновых рецепторов лозартана (1 мг/кг, внутрь, 7 сут) допамин вызывает у крыс прирост диуреза в 3,3 раза, потери натрия с мочой – в 3,1 раза и калийуреза – в 3,0 раза ($p < 0,05$). Предварительное введение крысам прямого ингибитора ренина алискирена (4 мг/кг, внутрь, 7 сут) сопровождается увеличением диуретического эффекта допамина в 6,6 раза, натрийуреза – в 7,2 раза и выделения калия с мочой – в 7 раз ($p < 0,05$). Сделан вывод о том, что почечная тканевая ренин-ангиотензиновая система включается в механизм действия допамина в почках крыс, выполняя функцию модулятора, препятствующего избыточной потере воды и электролитов с мочой.

Ключевые слова: почка; дофамин; эналаприл; лозартан; алискирен.

ВВЕДЕНИЕ

Дофаминомиметик дофамин, способствующий восстановлению системной и почечной гемодинамики, увеличению диуреза и устранению резистентности к диуретикам, широко применяется для лечения острой сердечной недостаточности различного происхождения, включая острый кардиоренальный синдром, возникающий у пациентов с декомпенсированной хронической сердечной недостаточностью (ХСН) [1]. Большинство таких пациентов получает лекарственную терапию, включающую ингибиторы АПФ или заменяющие их антагонисты АТ₁-ангиотензиновых рецепторов, которые оказывают весьма существенное влияние на функциональное состояние почек. Однако характер фармакодинамического взаимодействия, возникающего в почках при совместном назначении допамина и ингибиторов ренин-ангиотензиновой системы (РАС), практически не исследован. Выяснение этого вопроса позволяет не только уточнить особенности совместного влияния этих препаратов на почечную функцию, но и получить представление о роли РАС в механизме действия допамина в почках.

В работе исследовано влияние ингибитора АПФ эналаприла, антагониста АТ₁-ангиотензиновых рецепторов лозартана и прямого ингибитора ренина алиски-

рена, различных по механизму действия антагонистов РАС, на формирование в почке крысы эффектов допамина.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 40 наркотизированных тиопентал-натрием (50 мг/кг, внутривенно) крысах-самцах массой 200–250 г (питомник Столбовая, Московская область), находившихся на обычном рационе вивария. После наступления наркоза крысы фиксировали на спине и вскрывали брюшную полость. В мочевой пузырь и заднюю полую вену вводили катетеры для сбора мочи и введения 0,9 % раствора NaCl, содержащего 0,25 % инулина. Скорость инфузии 50 мкл/мин 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 двух последующих порций мочи не должна превышать 10 %), наступавшей через 30–40 мин после начала внутривенного введения жидкости, собирали две контрольные порции мочи, вводили дофамин 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 пробах крови и мочи определяли концентрацию инулина антроновым методом [4] и исследовали содержание натрия и калия методом пламенной фотометрии на пламенном фото-

¹ ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, Россия, 460000, Оренбург, Парковый пр., 7.

метре ПФМ МУ. 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 концентраций натрия/калия в моче, которые рассчитывали по стандартным формулам в пересчете на 100 г массы животного [5].

Дофамин (допмин, фирма “Орион-фармацевтика”, Финляндия) вводили крысам подкожно в дозе 1 мг/кг, вызывающей выраженную 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) вводили животным внутрь в течение 7 сут до проведения эксперимента в дозах соответственно 1; 1 и 4 мг/кг, которые примерно соответствуют высшим суточным дозам для человека. Каждый опыт ставили на одном животном. Всего выполнено 4 серии экспериментов (40 опытов). Опыты проведены в соответствии с международными этическими стандартами. По окончании эксперимента животных умерщвляли передозировкой тиопентала-натрия.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0 (StatSoft, США). Значимость различий количественных характеристик между выборками данных проверяли с помощью критерия Вилкоксона. Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Дофамин в контрольных экспериментах вызывал у крыс характерную диуретическую реакцию, которая возникала спустя 10 мин после инъекции препарата и, как правило, постепенно нарастала в течение всего 80-минутного периода наблюдения. Одновременно ре-

гистрировали выраженную натрийуретическую реакцию, которая сопровождалась приростом потери калия с мочой. К концу наблюдения величина диуреза, натрийуреза и калийуреза возросла в среднем, соответственно в 2,2, 2,1 и 2,8 раза, по сравнению с исходным уровнем. Клиренс инулина вырос при действии дофамина с $207,3 \pm 3,82$ до $257,4 \pm 3,69$ мл/мин/100 г ($p < 0,05$), что свидетельствует об участии увеличения СКФ в механизме действия этого препарата на ионорегулирующую функцию почек. В этих условиях отмечен также существенный прирост величины экскретируемой фракции натрия с $0,28 \pm 0,02$ до $0,48 \pm 0,03$ % ($p < 0,05$), указывающий на прямое участие угнетения реабсорбции этого иона в почечных канальцах в механизме формирования натрийуретического эффекта дофамина. Индекс натрий/калий мочи при этом достоверно не изменился, что говорит о примерно одинаковом приросте под его влиянием выделения с мочой ионов натрия и калия (таблица).

Результаты этих опытов подтверждают известные данные о том, что образующийся в почках нейромедиатор дофамин выполняет функцию нейрогуморального модулятора, который возбуждает D₁-дофаминовые рецепторы клеток почечной ткани и тормозит реабсорбцию натрия в проксимальных канальцах (ПК), препятствуя его избыточной задержке в организме [9]. В результате развивается выраженная диуретическая и натрийуретическая реакция, обусловленная, прежде всего, подавлением в этом сегменте нефрона активности двух основных транспортирующих ионы механизмов: Na⁺/H⁺-обменника 3 типа (NHE3), локализованного в апикальной мембране канальцевых клеток, и Na⁺, K⁺-АТФ-азы, осуществляющей активный перенос этих ионов через их базолатеральную мембрану [7, 8]. Дополнительно дофамин угнетает также реабсорбцию натрия в клетках толстого отдела восходящей части петли Генле и собирательных трубках коры и мозгово-

Влияние ингибиторов ренин-ангиотензиновой системы на показатели ионорегулирующей функции почек наркотизированных крыс при действии дофамина ($M \pm m$, $n = 10$)

Показатель	Дофамин		Эналаприл + дофамин		Лозартан + дофамин		Алискирен + дофамин	
	контроль 1	опыт	контроль 2	опыт	контроль 2	опыт	контроль 2	опыт
Клиренс инулина, мкл/мин/100 г	207,3 ± 3,82	257,4 ± 3,69 *	197,5 ± 4,11	246,6 ± 4,80 *	194,6 ± 3,56	239,0 ± 3,78 *	210,5 ± 3,22	345,4 ± 9,02 *
Диурез, мкл/мин/100 г	1,88 ± 0,07	4,18 ± 0,18 *	1,96 ± 0,13	6,78 ± 0,40 *	1,80 ± 0,11	5,88 ± 0,63 *	1,98 ± 0,07	13,0 ± 0,74 *
Выделение натрия, мкмоль/мин/100 г	0,081 ± 0,003	0,174 ± 0,008 *	0,079 ± 0,020	0,249 ± 0,013 *	0,085 ± 0,04	0,267 ± 0,13 *	0,115 ± 0,012	0,826 ± 0,101 *
Экскретируемая фракция натрия, %	0,28 ± 0,02	0,48 ± 0,03 *	0,29 ± 0,02	0,78 ± 0,08 *	0,31 ± 0,03	0,75 ± 0,09 *	0,38 ± 0,03	1,69 ± 0,12 *
Выделение калия, мкмоль/мин/100 г	0,114 ± 0,016	0,316 ± 0,036 *	0,111 ± 0,02	0,551 ± 0,05 *	0,168 ± 0,012	0,505 ± 0,037 *	0,103 ± 0,012	0,716 ± 0,036 *
Натрий/калий мочи	0,88 ± 0,08	0,61 ± 0,03	0,91 ± 0,10	0,45 ± 0,03 *	0,51 ± 0,02	0,51 ± 0,03	1,18 ± 0,09	1,25 ± 0,18

Примечание. Контроль 1 — значения показателей до введения дофамина (1 мг/кг, подкожно). Контроль 2 — значения показателей до введения дофамина крысам, получавшим предварительно внутрь эналаприл (1 мг/кг/сутки), лозартан (1 мг/кг/сутки) или алискирен (4 мг/кг/сутки) в течение 7 сут; * $p < 0,05$.

го вещества, снижая соответственно активность апикального Na^+ , K^+ , 2Cl^- -переносчика и проницаемость апикальных Na^+ -каналов [9, 14]. Благодаря таким свойствам, дофамин препятствует задержке натрия в организме при избыточном потреблении поваренной соли и/или гиперактивности циркулирующей РАС, почечной тканевой РАС и других сосудосуживающих нейрогуморальных систем.

Большинство биологических эффектов ангиотензина II, главного эффекторного пептида РАС, связано с возбуждением в почках AT_1 -ангиотензиновых рецепторов, которые экспрессированы в гладкой мускулатуре сосудов, клетках ПК, толстого отдела восходящей части петли Генле и собирательных трубок коры и мозгового вещества почечной ткани. Основным стимулирующий эффект ангиотензина II на реабсорбцию натрия в нефроне локализован в ПК, которые реабсорбируют до 70 % профильтровавшегося в клубочках натрия. В этом сегменте нефрона ангиотензин II, в противоположность дофамину, увеличивает активность апикального Na^+/H^+ -обменника 3 типа (NHE3), а также Na^+ , HCO_3^- -переносчика и Na^+ , K^+ -АТФ-азы, обеспечивающих транспорт ионов через базолатеральные мембраны канальцевых клеток [10, 11]. В последнее время установлено, что ангиотензин II способен, в отличие от дофамина, повышать проницаемость Na^+ -каналов и увеличивать реабсорбцию натрия в собирательных трубках и других дистальных сегментах нефрона, чувствительных к действию альдостерона [13]. Можно поэтому ожидать, что предварительное подавление в почках активности РАС, естественного функционального антагониста дофаминергической системы, окажет заметное влияние на формирование почечных эффектов дофаминомиметика дофамина.

Действительно, уже первоначальные эксперименты с эналаприлом, который подавляет активность РАС и снижает уровень ангиотензина II в плазме крови и почечной ткани, показали, что предварительное введение этого препарата весьма существенно изменяет реакцию почек крыс на дофамин. Введение дофамина на фоне действия ингибитора АПФ вызывало у крыс к 80-й минуте наблюдения значительно более выраженный, чем в контрольных опытах, прирост диуреза (в 3,46 раза), который сопровождался достоверным увеличением потери натрия и калия с мочой, соответственно в 3,15 и 4,96 раз. В этих условиях наблюдали также сопоставимый с введением одного дофамина прирост клиренса инулина, в то время как величина экскретируемой фракции натрия возросла с $0,29 \pm 0,02$ до $0,78 \pm 0,08$ % ($p < 0,05$), что существенно превышает данные, полученные в контрольных опытах с одним дофамином, и свидетельствует о более значительном угнетении реабсорбции натрия в почечных канальцах. Индекс натрий/калий мочи при этом достоверно снизился, что указывает на преимущественный прирост выделения с мочой калия, по сравнению с натрием (таблица).

Весьма сходные результаты были получены и в опытах с антагонистом AT_1 -ангиотензиновых рецепторов лозартаном, несмотря на повышение в крови активности ренина, концентрации циркулирующего ангиотензина II и его содержания в ткани почек. После предварительного введения животным этого ингибитора РАС дофамин вызывал у крыс достоверный прирост диуреза в 3,27 раза, потери натрия с мочой в 3,14 раза и калийуреза в 3 раза (таблица).

В заключительной серии экспериментов реакция почек крыс на дофамин была изучена после предварительного угнетения активности РАС с помощью прямого ингибитора ренина алискирена, который снижает образование активного ренина и ангиотензина II не только в крови, но и непосредственно в почечной ткани [6, 12]. Как и в предыдущих опытах с другими ингибиторами РАС, предварительное введение животным алискирена резко повышало чувствительность почек к дофамину. Инъекция дофаминомиметика в этих условиях вызывала к 80-й минуте наблюдения достоверное увеличение диуреза в 6,57 раза с одновременным приростом выделения натрия с мочой в 7,18 раза. К этому времени величина экскретируемой фракции натрия выросла с $0,38 \pm 0,03$ до $1,69 \pm 0,12$ % ($p < 0,05$), что превышает прирост этого показателя в опытах с эналаприлом и лозартаном и свидетельствует о еще более выраженном угнетении реабсорбции этого иона в почках, чем при подавлении активности РАС с помощью этих препаратов. Одновременно под влиянием дофамина отмечали калийуретическую реакцию с достоверным приростом калийуреза в 6,95 раза, по сравнению с исходным уровнем. Индекс натрий/калий мочи при этом существенно не изменился (таблица).

Таким образом, эналаприл, лозартан и, особенно, алискирен, который, в отличие от ингибиторов АПФ и антагонистов AT_1 -ангиотензиновых рецепторов, способен дополнительно подавлять активность внутриклеточной РАС в клетках почечных канальцев [12], значительно усиливают у крыс диуретический, натрийуретический и калийуретический эффекты дофамина. В формировании этих почечных эффектов ведущее значение имеет потенцирование ингибиторами РАС угнетающего действия дофамина на процесс реабсорбции натрия в канальцах почек. Полученные данные позволяют предполагать, что почечная тканевая РАС вовлекается в механизм действия дофамина в почках, выполняя функцию модулятора, препятствующего избыточной потере воды и электролитов с мочой. Такая закономерность сохраняется при комбинации ингибиторов РАС не только с дофаминомиметиками, но и с диуретиками, β -адреноблокаторами и другими препаратами, увеличивающими диурез и выделение ионов натрия с мочой [2, 3].

ВЫВОДЫ

1. Дофамин (1 мг/кг, подкожно) вызывает у наркотизированных крыс прирост диуреза в 2,22 раза, натрийуреза в 2,15 раза и потери калия с мочой в 2,77 раза ($p < 0,05$).

2. Предварительное введение крысам ингибитора АПФ эналаприла (1 мг/кг, внутрь, 7 сут) сопровождается увеличением диуретического эффекта дофамина в 3,46 раза, натрийуреза в 3,15 раза и выделения калия с мочой в 4,96 раза ($p < 0,05$).

3. После предварительного введения животным антагониста AT_1 -ангиотензиновых рецепторов лозартана (1 мг/кг, внутрь, 7 сут) дофамин (1 мг/кг, подкожно) вызывает у крыс прирост диуреза в 3,27 раза, потери натрия с мочой в 3,14 раза и калийуреза в 3 раза ($p < 0,05$).

4. Предварительное введение крысам прямого ингибитора ренина алискирена (4 мг/кг, внутрь, 7 дней) увеличивает диуретический эффект дофамина (1 мг/кг, подкожно) в 6,57 раза, натрийуреза в 7,18 раза и выделения калия с мочой в 6,95 раза ($p < 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Национальные рекомендации ВНОК и ОССН по диагностике и лечению ХСН (третий пересмотр), *Журн. сердечная недостаточность*, **10**(2), 64 – 106 (2009).

2. Н. В. Бучнева, *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*, **10**(6), S46 – S47 (2011).
3. Л. Н. Ландарь, О. Б. Кузьмин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **76**(6), 18 – 21 (2013).
4. А. К. Макшеев, Б. М. Мирзоев, Ю. В. Вельтищев, *Бюл. экпер. биол. мед.*, **55**(4), 121 – 124 (1963).
5. С. И. Рябов, Ю. В. Наточин, *Функциональная нефрология*, Лань, СПб (1997).
6. И. Е. Чазова, В. В. Фомин, Е. М. Пальцева, *Клин. нефрол.*, **1**(1), 44 – 49 (2009).
7. I. A. Bobulescu, H. Quinones, S. M. Gisler, et al., *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, **298**(5), F1205 – F1213 (2010).
8. J. J. Gildea, X. Wang, N. Shah, et al., *Hypertension*, **60**(2), 396 – 403 (2012).
9. J. S. Grider, C. E. Ott, B. A. Jackson, *Eur. J. Pharmacol.*, **473**(2 – 3), 185 – 190 (2003).
10. P. He, I. Klein, C. C. Yun, *J. Biol. Chem.*, **285**(36), 27869 – 27878 (2010).
11. M. Mamenko, O. Zaika, D. Platonovskaya, 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).
14. O. Zaika, M. Mamenko, O. Polygin, *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, **305**(9), F1277 – F1287 (2013).

Поступила 28.02.14

INTERACTION OF RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM INHIBITORS WITH DOPAMINE IN RAT KIDNEY

O. B. Kuz'min, L. N. Landar', and N. V. Buchneva

Orenburg State Medical Academy, pr. Parkovyi 7, Orenburg, 460000 Russia

Dopamine (1 mg/kg, s.c.) causes 2.2-fold increase in diuresis ($p < 0.05$) in anesthetized rats, which is accompanied by an increase in the urinary excretion of sodium and potassium by a factor of 2.2 and 2.8, respectively ($p < 0.05$). Preliminary administration of the ACE inhibitor enalapril (1 mg/kg, p.o., for 7 days) enhances the renal dopamine response with 3.5-fold increase in its diuretic effect and increases natriuresis 3.2 times and urine potassium excretion 5 times ($p < 0.05$). After preliminary introduction of the AT_1 -angiotensin receptor antagonist losartan (1 mg/kg, p.o., for 7 days) dopamine causes 3.3-fold increase in diuresis, 3.1-fold increase in natriuresis, and 3-fold increase in kaliuresis ($p < 0.05$). Preliminary administration of the direct renin inhibitor aliskiren (4 mg/kg, p.o., for 7 days) is accompanied by 6-fold increase in the diuretic effect of dopamine and increases natriuresis 7.2 times and urine potassium excretion 7 times ($p < 0.05$). It is concluded that renin-angiotensin system (RAS) of renal tissues is involved in the mechanism of dopamine action in the kidney, acting as a modulator that prevents excessive loss of water and electrolytes with urine.

Keywords: kidney; dopamine; enalapril; losartan; aliskiren