

ФУНКЦИЯ ПОЧЕК БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ТИРОКСИНА В УСЛОВИЯХ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ БЛОКАДЫ АПФ И ОКСИДА АЗОТА

В.Н.Запорожан, С.И.Доломатов

Одесский государственный медицинский университет

Цель работы – изучение функционального состояния почек белых крыс после однократного введения экзогенного тироксина (Т4) на фоне назначения неселективного блокатора NO-синтаз или ингибиции ангиотензин-I-превращающего фермента. Работа проведена на беспородных белых крысах-самцах (масса тела 140–180 г), которых за 3 суток до введения Т4 выпаивали водным раствором каптоприла (20 мг/л) или которым в течение 3 суток до назначения Т4 вводили внутривентрикулярно водный раствор неселективного блокатора NO-синтаз – N^ω-NLA (1 мг/100 г массы тела). Натриевую соль Т4 (50 мкг/100 г массы тела) вводили однократно внутривентрикулярно на 1 %-ном крахмальном геле и через 1 ч давали 5 %-ную водную нагрузку. В полученных образцах мочи и плазмы определяли осмоляльность, а также концентрацию креатинина, нитритов, нитратов и протеинов в моче. Установлено, что после введения тироксина происходит умеренное снижение клиренса креатинина, а также усиление экскреции протеинов, осмотически активных веществ (ОАВ), нитритов и

нитратов с мочой и повышение концентрации стабильных окислов азота, в первую очередь нитратов в плазме крови. Предварительная блокада ангиотензин-I-превращающего фермента (АПФ) каптоприлом способствует увеличению диуреза, понижению экскреции почками ОАВ, нитритов и нитратов в ответ на введение Т4. Однако каптоприл существенно не влияет на степень снижения клиренса креатинина и выраженность протеинурии. Предварительная блокада синтеза NO способствует отчетливому понижению клиренса креатинина, экскреции ОАВ, нитратов и уменьшению объема диуреза в сравнении с интактными животными и крысами, получавшими только Т4.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2008. Т. 42. № 2. С. 61–65

Нервные и гуморальные системы контроля водно-солевого обмена играют важную роль в модуляции функциональной активности почек при гипертиреозе [6]. Показано, что введение тиреоидных гормонов (ТТ) здоровым людям индуцирует характерные

для гипертиреоидного состояния симптомы в течение первых 30 мин [13]. Установлено, что в условиях непродолжительного введения крысам тироксина (Т4) регистрируется повышение продукции NO [7] и активация ренин-ангиотензиновой системы (РАС) [8]. В то же время роль изменений активности оксида азота и гормонов РАС в перестройке деятельности почек после введения ТГ требует более глубокого исследования. Цель работы – изучение особенностей функционального состояния почек белых крыс в острый период после однократного введения Т4 на фоне назначения неселективного блокатора NO-синтаз или ингибиции ангиотензин-I-превращающего фермента (АПФ).

Методика

Для исследований отбирали беспородных белых крыс-самцов с массой тела 140–180 г ($n = 47$). В течение 3 суток до начала эксперимента животных содержали на зерне и воде, а за 12 ч до водной нагрузки ограничивали в потреблении пищи при свободном доступе к воде. Путем случайного отбора животных разделили на 4 группы, животных 1-й группы ($n = 10$) за 3 суток до введения тироксина выпаивали водным раствором блокатора АПФ – каптоприла (20 мг/л); крысам 2-й группы ($n = 10$) – в течение 3 суток до введения тироксина ежедневно вводили внутрижелудочно водный раствор неселективного блокатора NO-синтаз – N^G -NLA (по 1 мг/100 г массы тела) – последнее введение за 30 мин до введения тироксина. Животным 3-й группы ($n = 10$) вводили только тироксин. Натриевую соль тироксина (Т4) производства фирмы «Берлин Хеми» (Германия) из расчета 50 мкг на 100 г массы тела однократно вводили животным всех 3 групп внутрижелудочно на 1 %-ном крахмальном геле. Крысам контрольной группы ($n = 17$) вводили гель, не содержащий Т4. Деятельность почек изучали через 1 ч после введения Т4 в условиях 5 %-ной водной нагрузки [1, 3]. Мочу собирали в течение 2 ч. Выведение животных из эксперимента путем декапитации осуществляли под эфирной анестезией. Кровь стабилизировали гепарином и центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин. В полученных образцах мочи и плазмы определяли осмоляльность криоскопическим методом на осмометре 3D3 (США). Концентрацию креатинина определяли по реакции с пикриновой кислотой на спектрофотометре СФ-46 (Россия). Концентрацию эндогенных нитритов и нитратов в моче и плазме крови измеряли фотометрическим методом с использованием реактива Грисса по ранее описанной методике [2]. Концентрацию белка мочи регистрировали фотометрическим методом в реакции с сульфосалициловой кислотой. Функциональное состояние почек животных оценивали в соответствии с ранее опубликованными методами [1, 3]. Статистический

анализ полученных данных проводили с использованием критерия Стьюдента в соответствии с общепринятой методикой.

Результаты и обсуждение

Через 3 ч после введения только Т4 (3-я группа) не было существенных изменений диуреза на фоне усиления выведения почками протеинов, осмотически активных веществ (ОАВ), нитритов и нитратов, а также снижение клиренса креатинина по сравнению с контрольными крысами (табл.). Введение Т4 вызывало также понижение осмоляльности плазмы крови, умеренный прирост содержания нитритов, креатинина и выраженное повышение концентрации нитратов в плазме крови. Исследования деятельности почек в группе крыс, получавших Т4 на фоне назначения каптоприла (1-я группа) выявили статистически значимое повышение диуреза в сравнении с контрольными животными и крысами, получавшими только Т4. Результаты биохимического анализа проб мочи и плазмы крови крыс, подвергавшихся комбинированному воздействию Т4 и каптоприла, показали умеренное понижение концентрации креатинина в моче, а также достоверно более высокие уровни экскреции почками эндогенных нитритов и нитратов в сравнении с контрольными крысами. В то же время выведение почками химически стабильных окислов азота у крыс 1-й группы было ниже, чем в группе животных, получавших только Т4. При этом содержание нитритов в плазме крови у крыс 1-й группы существенно не отличалось от аналогичного параметра в 3-й группе животных, однако достоверно превышало контрольный уровень. Установлено, что комбинированное введение каптоприла и Т4 сопровождалось менее выраженным, чем в 3-й группе, повышением концентрации нитратов в плазме крови. Каптоприл не оказывал заметного влияния на величину почечной экскреции протеинов по сравнению с крысами, получавшими только Т4. Вместе с тем у крыс 1-й и 3-й групп экскреция почками белка почти в 3 раза превышала контрольные величины. Важно подчеркнуть, что назначение только Т4 или Т4 в сочетании с каптоприлом вызывало умеренное понижение клиренса креатинина. В группе животных, получавших Т4 + N^G -NLA (2-я группа), зарегистрированы наиболее высокие концентрации креатинина в моче и в плазме крови на фоне минимальных уровней клиренса креатинина. Кроме того, содержание нитритов в моче и плазме крови, а также выведение почками нитритов во 2-й группе крыс было выше, чем в контроле, однако концентрация нитратов в исследуемых биологических жидкостях и выделение почками нитратов и осмотически активных веществ были отчетливо ниже, чем у интактных животных. Дополним, что во 2-й группе животных, так же как и во всех группах крыс, по-

лучавших Т4, наблюдалось повышение экскреции почками белка.

Результаты наблюдений дают основание утверждать, что однократное введение крысам Т4 приводит к повышению экскреции почками протеинов, осмотически активных веществ, эндогенных нитритов и нитратов, что сопровождается умеренным снижением клиренса креатинина через 3 ч после

сином продукции нитритов и нитратов не противоречат данным литературы о важной роли индуцибельной NO-синтазы в процессах адаптации почек к Т4 [12]. Тем не менее экскреция почками нитритов и нитратов, а также уровни их концентраций в плазме крови крыс, получавших Т4 + каптоприл были выше, чем в контроле. Такие наблюдения дают основание заключить, что А-II-зависимая

Состояние почек белых крыс, получавших блокатор NO-синтаз или каптоприл в острый период после введения тироксина ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль n = 17	Введение Т4 + каптоприл Группа 1, n = 10	Введение Т4 + N ^ω -NLA Группа 2, n = 10	Введение только Т4 Группа 3, n = 10
Диурез, мл/ч/100 г м.т.	1,9 ± 0,1	2,4 ± 0,2 p1 < 0,05 p2 < 0,05	1,6 ± 0,1	1,8 ± 0,1
Экскреция ОАВ, ммоль/ч/100 г м.т.	0,221 ± 0,002	0,226 ± 0,005 p2 < 0,01	0,198 ± 0,009 p1 < 0,01 p2 < 0,01	0,244 ± 0,007 p1 < 0,01
Экскреция белка, мг/ч/100 г м.т.	0,056 ± 0,001	0,145 ± 0,005 p1 < 0,01	0,112 ± 0,009 p1 < 0,01 p2 < 0,05	0,139 ± 0,007 p1 < 0,01
Экскреция нитритов, ммоль/ч/100 г м.т.	0,0032 ± 0,0001	0,0065 ± 0,0004 p1 < 0,01 p2 < 0,01	0,0078 ± 0,0006 p1 < 0,01 p2 < 0,01	0,0099 ± 0,0004 p1 < 0,01
Экскреция нитратов, ммоль/ч/100 г м.т.	0,027 ± 0,001	0,080 ± 0,003 p1 < 0,01 p2 < 0,01	0,014 ± 0,001 p1 < 0,01 p2 < 0,01	0,232 ± 0,028 p1 < 0,01
Клиренс креатинина, мл/мин	573 ± 9	418 ± 23 p1 < 0,01	307 ± 19 p1 < 0,01 p2 < 0,01	407 ± 9 p1 < 0,01
Креатинин плазмы крови, ммоль/л	62 ± 2	93 ± 5 p1 < 0,01	125 ± 5 p1 < 0,01 p2 < 0,01	87 ± 2 p1 < 0,01
Осмоляльность плазмы крови,	299 ± 1	299 ± 1	293 ± 1 p1 < 0,01	293 ± 2 p1 < 0,01
Нитриты плазмы крови, ммоль/л	4,9 ± 0,1	6,3 ± 0,2 p1 < 0,01	7,1 ± 0,2 p1 < 0,01 p2 < 0,05	6,4 ± 0,1 p1 < 0,01
Нитраты плазмы крови, ммоль/л	7,2 ± 0,2	12,7 ± 0,6 p1 < 0,01 p2 < 0,01	8,9 ± 0,5 p1 < 0,01 p2 < 0,01	33,4 ± 2,9 p1 < 0,01

Примечание. n – число наблюдений; p1 – показатель достоверности отличий в сравнении с контрольной группой крыс; p2 – показатель достоверности отличий в сравнении с крысами, получавшими только Т4 (3-я группа).

назначения гормона. Выявленные изменения почечного транспорта происходят на фоне повышения концентрации нитритов и нитратов в плазме крови животных. Чтобы оценить вклад усиления активности РАС в изменения деятельности почек, после введения крысам Т4 был использован блокатор АПФ – каптоприл. Укажем, что использование каптоприла, а не лозартана (блокатора АТ1-рецепторов к ангиотензину-II (А-II) обусловлено участием АТ2-рецепторов А-II в обратной регуляции активности NO-синтаз [14]. Анализ почечной экскреции химически стабильных метаболитов оксида азота – нитритов и нитратов у крыс, получавших Т4 + каптоприл, в сравнении с животными, которым назначали только Т4, подтверждает мнение о наличии стимулирующего воздействия А-II на NO-синтазные комплексы [9]. Подчеркнем, что сроки реализации и эффективность стимуляции тирок-

стимуляция продукции оксида азота в группе крыс, получавших Т4, не является единственным путем модуляции NO-синтезирующих систем. Не исключено, что индукция тироксином синтеза NO на фоне блокады АПФ может быть результатом активации кальцийзависимых изоформ NO-синтаз вследствие усиления опосредованного транспорта кальция в клетку [13] и снижения барьерных свойств мембраны под влиянием липолитических ферментов [11, 15]. С другой стороны, изучение деятельности почек крыс, подвергшихся комбинированному воздействию Т4+N^ω-NLA, подтверждает важное регуляторное значение NO в защитной реакции почек животных в ответ на повышение активности РАС [4]. Действительно, у животных 2-й группы установлены наиболее низкие величины клиренса креатинина на фоне резкого снижения выведения почками нитратов. Кроме того, у животных 2-й группы дос-

товерно снижались диурез и экскреция ОАВ, что наряду с наиболее выраженным снижением СКФ может свидетельствовать об усилении ренальных эффектов А-II как на канальцевом, так и на сосудисто- клубочковом уровне. Вместе с тем наличие протеинурии у крыс 1, 2 и 3-й групп указывает, что однократное введение крысам Т4 сопровождается ростом почечных потерь белка. Однако патогенетические механизмы протеинурии у крыс, получавших только Т4, Т4 + каптоприл или Т4 + N^ω-NLA, по нашему мнению, могут отличаться. Опираясь на данные литературы, можно предположить, что кратковременное повышение активности РАС (2-я группа животных) вызывает прирост ренальных потерь протеинов вследствие повышения внутриклубочкового давления и прямого повреждающего воздействия на эндотелий сосудисто-клубочкового аппарата почки [5]. Между тем протеинурия на фоне комбинированного назначения Т4 + каптоприл может быть вызвана повышенной продукцией NO, снижающей барьерные свойства базальной мембраны для белков плазмы крови [10] и ослаблением реабсорбции протеинов в проксимальном сегменте нефрона. Не исключено, что повышение экскреции белка у крыс, получавших только Т4, обусловлено сочетанным влиянием А-II, оксида азота и его метаболитов на почечный транспорт протеинов.

Таким образом, установлено, что через 3 ч после перорального однократного введения крысам тироксина в количестве 50 мкг/100 г массы тела имеет место значительное усиление почечной экскреции протеинов, нитритов и нитратов на фоне умеренного понижения клиренса креатинина, а также повышение концентрации в плазме крови химически стабильных окислов азота, в первую очередь нитратов.

Предварительная блокада АПФ каптоприлом способствует увеличению диуреза, понижению экскреции почками ОАВ, нитритов и нитратов в ответ на введение Т4. Однако каптоприл существенно не влияет на степень снижения клиренса креатинина и выраженность протеинурии.

Предварительная блокада синтеза NO способствует отчетливому понижению клиренса креатинина, экскреции ОАВ, нитратов и уменьшению диуреза по сравнению с интактными животными и с крысами, получавшими только Т4.

Литература

1. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена. Барнаул, 1972.
2. Емченко Н.Л., Цыганенко О.И., Ковалевская Т.В. Универсальный метод определения нитратов в биосредах организма // Клини. и лаб. диагностика. 1994. № 6. С. 19–20.
3. Пахмурный Б.А. О механизме действия сердечных гликозидов на функцию почек и водно-солевой обмен: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Новосибирск, 1969.

4. Chin S.Y., Wang C.-T., Majid D.S., Navar L.G. Renoprotective effects of nitric oxide in angiotensin II-induced hypertension in the rat // Am. J. Physiol. Renal Physiol. 1998. V. 274. № 5. P. F876–F882.

5. Deng X., Welch W.J., Wilcox C.S. Role of Nitric Oxide in Short-term and Prolonged Effects of Angiotensin II on Renal Hemodynamics // Hypertension. 1996. V. 27. P. 1173–1179.

6. Fommei E., Iervasi G. The Role of Thyroid Hormone in Blood Pressure Homeostasis: Evidence from Short-Term Hypothyroidism in Humans // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2002. V. 87. № 5. P. 1996–2000.

7. Honda H., Iwata T., Mochizuki T., Kogo H. Changes in vascular reactivity induced by acute hyperthyroidism in isolated rat aortae // Gen. Pharmacol. 2000. V. 34. № 6. P. 429–434.

8. Ichihara A., Kobori H., Miyashita Y. et al. Differential effects of thyroid hormone on renin secretion, content, and mRNA in juxtaglomerular cells // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 1998. V. 274. № 2. P. E224–E231.

9. Kammerl M.C., Richthammer W., Kurtz A., Kramer B.K. Angiotensin II feedback is a regulator of renocortical renin, COX-2, and nNOS expression // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2002. V. 282. № 6. P. R1613–R1617.

10. Li B., Yao J., Morioka T., Oite T. Nitric Oxide Increases Albumin Permeability of Isolated Rat Glomeruli via a Phosphorylation-Dependent Mechanism // J. Am. Soc. Nephrol. 2001. № 12. P. 2616–2624.

11. Riis A.L., Gravholt C.H., Djurhuus C.B. et al. Elevated regional lipolysis in hyperthyroidism // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2002. V. 87. № 10. P. 4747–4753.

12. Rodriguez-Gomez I., Wangenstein R., Moreno J.M. et al. Effects of chronic inhibition of inducible nitric oxide synthase in hyperthyroid rats // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2005. V. 288. № 6. P. E1252–E1257.

13. Schmidt B.M., Martin N., Georgens A.C. et al. Nongenomic Cardiovascular Effects of Triiodothyronine in Euthyroid Male Volunteers // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2002. V. 87. № 4. P. 1681–1686.

14. Siragy H.M., Carey R.M. The Subtype-2 (AT₂) Angiotensin Receptor Regulates Renal Cyclic Guanosine 3',5'-Monophosphate and AT₁ Receptor-mediated Prostaglandin E₂ Production in Conscious Rats // J. Clin. Invest. 1996. V. 97. № 8. P. 1978–1982.

15. Yen P.M. Physiological and Molecular Basis of Thyroid Hormone Action // Physiol. Rev. 2001. V. 81. № 3. P. 1097–1142.

Поступила 6.03.07

RENAL FUNCTION IN WHITE RATS AFTER TIROXIN INJECTION PRECEDED BY BLOCKADE OF ACE AND NITROGEN OXIDE

V.N.Zaporozhan, S.I.Dolomatov

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2008. V. 42. № 2. P. 61–65

Purpose of this work was to study renal function in white rats following a single dose of exogenous tiroxin

(T4) on a background of non-selective NO-synthase blocker or inhibition of angiotensin-1 converting enzyme. The experiment was performed with males of outbred white rats (body mass = 140–180 g). Three days prior to T4 injection, the animals drank water solution of captopril (20 mg/l) or were injected intragastrically with water solution of non-selective NO-synthase blocker N^ω-NLA (1 mg/100 g of body mass) over 3 days preceding T4 injection. A single dose of sodium chloride T4 on 1 % starch gel (50 µg/100 g of body mass) was injected intragastrically; 5 % water loading was given one hour later. Urine and plasma samples were analyzed for osmolality; creatinine, nitrites, nitrates and proteins were measured in urine

samples. Tirozine was found to moderately decrease creatinine clearance and increase excretion of proteins, osmotically active substances (OAS), nitrites and nitrates with urine, and raise concentrations of stable nitrogen oxides, primarily nitrates in blood plasma. Pre-block of ACE by captopril intensified diuresis and inhibited renal excretion of OAS, nitrites and nitrates in response to T4 injection. However, captopril failed to prevent the decrease in creatinine clearance and the level of proteinuria. Pre-block of NO synthesis resulted in marked decreases in creatinine clearance, excretion of OAS and nitrites, and moderation of diuresis comparing with intact rats and rats treated with T4 only.