

Почтовый адрес:

362019,
РСО-Алания,
г. Владикавказ,
ул. Пушкинская, 40,
ФГБУН ИБМИ ВНЦ РАН и РСО-А,
Редакция журнала
«Владикавказский медико-
биологический вестник»
Тел./факс: (8672) 53-73-35
E-mail: institutbmi@mail.ru

Подписной индекс:

33124 каталога Роспечать «Газеты. Журналы»

Входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК России для публикации значимых результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (с 2010 года).

Журнал включен в *Реферативный журнал и Базы данных ВИНИТИ (с 2006 года)*. Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям *“Ulrich’s Periodical Directory”*.

Издатель
Жанна Козырева

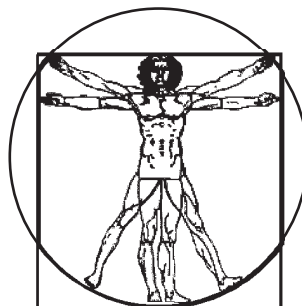
Тираж 1000 экз.

ISSN 1810-7230

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

ФГБУН Институт биомедицинских исследований
ВНЦ РАН и Правительства РСО-А

ГБОУ ВПО СОГМА Минздрава России



ВЛАДИКАВКАЗСКИЙ МЕДИКО- БИОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Ежеквартальный рецензируемый научно-теоретический журнал, основанный в 2001 году

ТОМ
XVII
ВЫПУСК 26
2013

ВЫПУСК

26

СОДЕРЖАНИЕ

ИНФОРМАЦИЯ

III школа по хронобиологии и хрономедицине..... 8

РАЗДЕЛ 1. ВРЕМЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

Хроноритмологические особенности нефропротекторных свойств аторвастатина..... 9
Зеленюк В. Г., Заморский И. И.

Межсистемный десинхронизм у больных с абстинентным алкогольным синдромом..... 13
Рагозин О. Н., Косарев А. Н., Татаринцев П. Б.

Сезонная характеристика показателей гемостаза, микроциркуляции в норме и на фоне приема комплексных фитоадаптогенов в эксперименте..... 18
Датиева Ф. С.

РАЗДЕЛ 2. ИССЛЕДОВАНИЯ И РАЗРАБОТКА НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ

Влияние флавоноидов корня солодки на эффекторные лимфоциты мышей в реакции контактной чувствительности..... 28
Албегова Д. З., Павлова С. И., Кягова А. А., Цицуашвили М. Д., Козлов И. Г.

Влияние разных дозировок сульфата меди на функции почек и процессы свободно радикального окисления у крыс..... 33
Дигурова А. В., Брин В. Б., Гурина А. Е., Габолоева Н. А.

Влияние полихроматического поляризованного света на состояние гуморального звена иммунитета при дозированных ожогах открытым пламенем..... 40
Зяблицев С. В., Ельский В. Н., Стрельченко Ю. И.

РАЗДЕЛ 1

ВРЕМЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

УДК 615.272:612.017.2

Буковинский государственный
медицинский университет,
Черновцы, Украина

ХРОНОРИТМОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕФРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ АТОРВАСТАТИНА

*Зеленюк В. Г., Заморский И. И.**

Bukovinian State Medical University,
Chernivtsi-city, Ukraine

THE CHRONORHYTHMOLOGIC FEATURES OF ATORVASTATIN RENOPROTECTIVE PROPERTIES

Zeleniuk V. G., Zamorskii I. I.

Изучено влияние аторвастатина в дозе 20 мг/кг при острой почечной недостаточности (ОПН) на некоторые параметры функций почек крыс в зависимости от времени введения препарата. Рабдомиолитическую ОПН моделировали введением 50% раствора глицерола внутримышечно в дозе 10 мл/кг. Выявлено, что аторвастатин увеличивал диурез у животных с ОПН с максимальным эффектом при введении препарата в 08.00 часов и меньшим эффектом в 20.00. При этом увеличивался мезор скорости клубочковой фильтрации (СКФ) на 39% ($p < 0,05$) с антифазным характером архитектоники ритма протеинурии. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о нефропротекторном действии аторвастатина, зависящим от времени его введения: максимальное увеличение диуреза, СКФ и уменьшение протеинурии приходилось на ночной и утренний периоды суток.

Ключевые слова: острая почечная недостаточность, аторвастатин, нефропротекция, хронофармакодинамика.

The effect of atorvastatin at a dose of 20 mg/kg on some parameters of the renal function in rats with acute renal failure (ARF) depending on the time of drug administration was studied. Rhabdomyolytic ARF was modeled by intramuscular injection of 50% glycerol solution at a dose of 10 ml/kg. As has been found in our experiments, atorvastatin increases diuresis in animals with ARF with maximal efficacy at 08.00 and minimal efficacy at 20.00. Herewith, the glomerular filtration rate (GFR) mesor increases by 39% ($p < 0,05$) with the antiphase character of the rhythm of proteinuria. The experimental data indicate dependence of the renoprotective action of atorvastatin on the time of its administration: maximum increase in urine output, GFR and decrease in proteinuria fall on the night and morning periods of the day.

Key words: acute renal failure, atorvastatin, renoprotection, chronopharmacodynamics.

* Зеленюк В. Г. – аспирант кафедры фармакологии (vzeleniuk@gmail.com); Заморский И. И. – д. м. н., профессор, зав. кафедрой фармакологии (zamorskii@mail.ru).

ВВЕДЕНИЕ

Почки относятся к органам с четкой циркадианной организацией функций. В условиях физиологической нормы днем превалирует экскреция воды, электролитов, продуктов азотистого обмена, а ночью – титрированных кислот, аммиака и ионов водорода [5, 6, 17]. С помощью морфологического исследования показано, что у крыс, являющихся типичными ночными животными, уровень метаболизма и биосинтетической активности в клетках дистального нефрона в ночной период времени существенно превосходит дневной, этим объясняют различие функциональной активности почек крыс в разное время суток [1]. Изучение нефротропных и, в особенности, нефропротекторных свойств препаратов с учетом их суточного влияния на почки, актуально в связи с высокой смертностью вследствие острой почечной недостаточности (ОПН) [4].

В настоящее время фармакологические свойства статинов широко изучаются для возможности применения при повреждении почек [11]. Большинство производителей статинов рекомендуют принимать их вечером на основе физиологических исследований, которые демонстрируют, что холестерин в основном синтезируется при низком его поступлении с пищей. Тем не менее, клинические исследования с использованием аторвастатина не обнаружили существенных различий в концентрации холестерина среди пациентов, принимающих статины утром, и теми, кто принимает их вечером [18]. В эксперименте на животных нужно учитывать, что крысы – это ночные животные, поэтому при выборе времени введения препаратов стоит учитывать биоритмы грызунов. Известно, что практически у всех организмов существуют биологические ритмы, связанные с циклом свет/темнота. Так, потребление пищи у крыс происходит в темное время суток, с чем связывают высокий уровень гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, глюкокортикоидов [7, 14]. Установлено, что у крыс ферменты, вовлеченные в синтез холестерина и желчных кислот, находятся в кластере генов (среди которых определены генные транскрипты ГМГ-КоАредуктазы, скваленэпоксидазы, CYP7A1) с максимальным выражением в 4.00, что совпадает с периодом активности животных [8]. Соответственно, существующая практика приема статинов перед сном [16] может быть поставлена под сомнение, поскольку имеющиеся данные показывают, что у людей

максимальная активность ГМГ-КоАредуктазы приходится примерно на 10.00 [10]. В противоположность этому, пик биосинтеза холестерина находится между 00.00 и 3.00 [11]. Данные, полученные Almonetal [8], согласуются с данными Nagwoodetal [10], указывающие на то, что активность этого фермента достигает пика в течение активного периода приема пищи, которое, в случае крыс, происходит в темное время суток в отличие от светового периода для человека.

Несмотря на то, что концентрация аторвастатина в плазме крови при приеме вечером, при утреннем его приеме уменьшение плазменного уровня холестерина липопротеидов низкой плотности не зависит от времени приема препарата. К тому же, в контексте кратковременности терапии статинами при ОПН, что являлось предметом наших исследований, нефротропные свойства препаратов проявляются скорее за счет их плейотропного фармакологического воздействия, чем вследствие гиполипидемического эффекта [12]. Учитывая изложенное целью исследования стало изучение зависимости между проявлением нефропротекторных свойств аторвастатина при экспериментальной ОПН у крыс и временем его введения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на 72 нелинейных самцах белых крыс массой 160–200 г, которые находились в условиях вивария с постоянным поддержанием температуры и влажности, при световом режиме с чередованием по 12 часов света и темноты, на стандартном рационе питания. Всех животных разделили на 4 группы с целью введения препарата с 6-часовым интервалом на протяжении суток: в 8.00, 14.00, 20.00 и 2.00 часа. Каждая группа включала подгруппу интактного контроля, модельной патологии и леченных аторвастатином животных. Аторвастатин вводили однократно внутривентрикулярно в дозе 20 мг/кг в 1% растворе крахмала из расчета 1 мл суспензии на 100 г массы через 40 мин после моделирования ОПН. Глицероловую почечную недостаточность (рабдомиолитическая модель ОПН) вызывали введением 50% раствора глицерола внутримышечно из расчета 1 мл на 100 г массы, распределяя всю дозу поровну между задними конечностями. Функциональное состояние почек и действие аторвастатина оценивали через 24 часа на фоне смоделированной гипергидратации организма (энтеральная водная нагрузка в объеме 5% от массы тела) по показателям диуреза, скорости

клубочковой фильтрации (СКФ), экскреции белка, а также по концентрации продуктов липидного обмена в плазме крови (общий холестерин (ОХ), β -липопротеиды (β -ЛП)).

Содержание креатинина в моче определяли методом Поппера, белка в моче – по реакции с сульфосалициловой кислотой. Концентрацию ОХ в плазме крови определяли ферментативным методом [15], а концентрацию β -ЛП – турбодиметрическим методом Бурштейна-Самая [2]. По окончании эксперимента животных декапитировали под эфирным наркозом с соблюдением требований Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» [9]. Статистическую обработку полученных данных проводили в программах «Statistica 6.0», «Excel 2007» и «Косинор-анализ 2.4» с использованием непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни с предшествующей оценкой нормальности распределения показателей с помощью теста Шапиро-Уилка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У интактных животных отмечали акрофазы уровней ОХ и β -ЛП в плазме крови в 02.00 и

08.00 соответственно, что согласуется с данными исследований экспрессии генов печени крыс [8]. В условиях ОПН, вызванной рабдомиолизом, наблюдали незначительное возрастание мезора уровня ОХ на 21% и β -ЛП на 17%, что подтверждает роль дислипидемии в патогенезе ОПН. Известно, что гипер- и дислипидемия инициируют дисфункцию эндотелия и мезангиальных клеток, цитотоксичность, пролиферативные процессы в стенках сосудов, стимулируют хемотаксис Т-лимфоцитов и моноцитов, высвобождение цитокинов, факторов роста, хемотрактантов, активных форм кислорода [3], что углубляет тяжесть протекания разных болезней. В наших исследованиях даже однократное введение аторвастатина приводило к снижению ОХ и β -ЛП в плазме крови ниже показателей интактного контроля. Так, мезор концентрации ОХ снизился по сравнению с показателем группы животных с ОПН без введения препарата на 26,8%, а мезор уровня β -ЛП – на 26,6%. Архитектоника ритма уровня ОХ имела антифазный характер относительно хронограмм интактных животных. Следует отметить, что максимальное снижение уровней ОХ и β -ЛП под действием аторвастатина отмечали в 08.00 и 02.00, соответственно.

Таблица

Мезор и амплитуда хроноритмов некоторых показателей функционального состояния почек и обмена липидов на фоне ОПН и введения аторвастатина ($M \pm m$, $n=6$)

Показатель	Интактный контроль		Модельная патология		Аторвастатин	
	Мезор	Амплитуда	Мезор	Амплитуда	Мезор	Амплитуда
Диурез, мл/2 ч.	3,97 \pm 0,11	30,0% \pm 1,17	2,90 \pm 0,08*	19,4% \pm 0,5*	3,57 \pm 0,13**	23,4% \pm 1,1
СКФ, мкл/мин	377,7 \pm 8,53	13,3% \pm 0,4	248,0 \pm 14,8*	58,4% \pm 2,6*	344,7 \pm 29,5**	22,6% \pm 1,3**
Концентрация белка в моче, г/л	0,014 \pm 0,002	13,1% \pm 0,1	0,051 \pm 0,006*	14,2% \pm 0,3	0,026 \pm 0,003**	19,0% \pm 0,2**
Концентрация ОХ в плазме крови, мг/дл	57,53 \pm 1,01	17,5% \pm 0,5	69,62 \pm 4,57*	17,9% \pm 0,3	54,87 \pm 2,24**	12,2% \pm 0,5
Концентрация β -ЛП в плазме крови, у.е.	18,15 \pm 0,37	17,0% \pm 0,5	21,18 \pm 0,55*	13,5% \pm 0,5	16,73 \pm 1,17**	10,9% \pm 0,7

Примечания: * – достоверность различий по сравнению с данными интактного контроля ($p < 0,05$); ** – достоверность различий по сравнению с данными животных с ОПН без введения аторвастатина ($p < 0,05$); ОПН – острая почечная недостаточность; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; ОХ – общий холестерин; β -ЛП – β -липопротеиды.

Хроноритмы экскреторной функции почек (по показателю диуреза) у контрольных животных носили синусоидальный характер и циркадианную периодичность с максимальным показателем диуреза в 14.00, батифазу наблюдали в 20.00. СКФ также подвергалась изменениям на протяжении суток с акрофазой в 14.00 и ба-

тифазой в 20.00. Суточный ритм протеинурии был однофазным с невысокой амплитудой колебаний – 13,1%.

Рабдомиолитическая ОПН характеризовалась уменьшением мезора диуреза на 37% по сравнению с контрольной группой, с акрофазой и батифазой, аналогичными группе интактных

животных. Амплитуда ритма снижалась в 1,54 раза. Изменения диуреза были обусловлены нарушением фильтрационного процесса в почках. СКФ снижалась во все периоды суток, но самое значимое падение, в 2 раза, отмечали в 08.00, что повлияло на повышение амплитуды в 4,4 раза. Мезор СКФ был на 52,2% ниже, чем у животных контрольной группы. ОПН проявлялась также значительной протеинурией: мезор концентрации белка в моче повышался в 3,6 раза, при этом архитектура ритмов несущественно отличалась от контрольных хронограмм, а амплитуда повысилась только на 1,1%. Изученные показатели свидетельствуют о тяжелом поражении почек миоглобиновыми цилиндрами и клеточным детритом вследствие рабдомиолиза.

Введение животным с модельной патологией аторвастатина приводило к улучшению функционального состояния почек. Мезор диуреза увеличивался на 23% по сравнению с группой животных с патологией без введения препарата. Максимальный диурез под влиянием аторвастатина отмечали в 08.00, батифаза при-

ходила на 20.00. Амплитуда ритмов диуреза незначительно повышалась на 4%, что свидетельствует о тенденции к выравниванию ритма. Восстанавливалась и СКФ, о чем можно судить по увеличению мезора на 39%. Статистически достоверной была нормализация амплитуды СКФ: уменьшение в 2,6 раза по сравнению с группой животных с ОПН. Снижение протеинурии при введении аторвастатина было значительным и проявлялось уменьшением мезора почти в 2 раза. Архитектура ритма протеинурии имела антифазный характер относительно хронограмм остальных групп животных с акрофазой в 20.00 и батифазой в 08.00.

Итак, выявленные в нашем эксперименте ренопротекторные свойства аторвастатина при рабдомиолитической ОПН, проявившиеся в увеличении диуреза, скорости клубочковой фильтрации и уменьшении протеинурии в ночной и утренней периоды суток, можно связать с хроноритмами активности ГМГ-КоАредуктазы и почек, а также плейотропными фармакологическими свойствами этого статина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брюханов В. М., Зверева А. Я. Роль почки в регуляции суточных ритмов организма // Нефрология. 2010. 14. № 3. С. 17–31.
2. Горячковский А. М. Клиническая биохимия. Одесса: Астропринт, 1998. 608 с.
3. Дудар І., Величко М. Ренопротекція: реальні можливості сьогодення // Ліки України. 2004, № 9. С. 18–24.
4. Ермоленко В. М., Николаев А. Ю. Острая почечная недостаточность: руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. С. 40–49.
5. Пішак В. П., Висоцька В. Г., Кривчанська М. І., Черновська Н. В. Організація хроноритмів екскреторної та кислотовидільної функцій нирок білих щурів // Буковинський медичний вісник, 2008. Т. 12. № 4. С. 105–107.
6. Семененко С. Б. Добова організація кислоторегулювальної функції нирок за умов блокади синтази оксиду азоту // Бук. мед. вісник, 2009. Т. 13. № 4. С. 244–246.
7. Almon R. R., DuBois D. C., Jusko W. J. A microarray analysis of the temporal response of liver to methylprednisolone: a comparative analysis of two dosing regimens // Endocrinology, 2007. № 148. P. 2209–2225.
8. Almon R. R. et al. Circadian variations in rat liver gene expression: relationships to drug actions // J. Pharm. Exp. Ther., 2008. Vol. 326. № 3. P. 700–716.
9. European convention for the protection of the vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg, 1986. 52 p.
10. Harwood H. J. Jr., Bridge D. M., Stacpoole P. W. In vivo regulation of human mononuclear leukocyte 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase: Studies in normal subjects // J. Clin. Invest., 1987. № 79. P. 1125–1132.
11. Kurukulasuriya L. R. et al. Review: HMG CoA reductase inhibitors and renoprotection: the weight of the evidence // Ther. Adv. Cardiovasc. Dis., 2007. Vol. 1. № 1. P. 49–59.
12. Parker T. S. et al. Mevalonic acid in human plasma: relationship of concentration and circadian rhythm to cholesterol synthesis rates in man // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1982. № 79. P. 3037–3041.
13. Nesic Z. Acute protective effects of different doses of simvastatin in the rat model of renal ischemia-reperfusion injury // Acta Veterinaria (Beograd), 2008. Vol. 58. № 5–6. С. 413–427.
14. Dardente H. et al. Phenotype of Per1- and Per2-expressing neurons in the suprachiasmatic nucleus of a diurnal rodent (*Arvicantisansorgei*): comparison with a nocturnal species, the rat // Cell Tissue Res., 2002. № 310. P. 85–92.
15. Schettler G., Nussel E. Arbeitsmed. Sozialmed // Chol. Preventiv. Med., 1975. 10. P. 25.
16. Staels B. When the Clock stops ticking, metabolic syndrome explodes // Nat. Med., 2006. № 12. P. 54–55.
17. Stow L. R., Gumz M. L. The circadian clock in the kidney // J. Am. Soc. Nephrol., 2011. № 22. P. 598–604.
18. Wallace A., Chinn D., Rubin G. Taking simvastatin in the morning compared with in the evening: randomized controlled trial // BMJ. 2003. Vol. 327. P. 788.