

РОЛЬ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОГО ЧИННИКА РЕЛАКСАЦІЇ — ОКСИДУ АЗОТУ (II) У МЕХАНІЗМІ ДІЇ ТІОТРИАЗОЛІНУ НА НИРКИ

О.В.Геруш, О.Ю.Дудчак, І.В.Геруш

Буковинська державна медична академія

Ключові слова: нирки; функція; тіотриазолін; оксид азоту (II)

В експериментах на 29 самцях білих щурів з масою тіла 140-200 г з'ясована роль NO-залежних механізмів регуляції діяльності нирок у реалізації ниркових ефектів тіотриазоліну. Для цього було проведено серію експериментів за умов стимуляції вивільнення NO шляхом введення щурам у шлунок впродовж 7 днів паралельно з тіотриазоліном L-аргініну у дозі 100 мг/кг в об'ємі 5 мл/кг, який є біологічним субстратом та активатором утворення NO. Групою порівняння були щури, яким впродовж 7 днів вводили лише L-аргінін, та контрольні тварини, яким вводили розчинник. На 7-й день експерименту дослідним та контрольним тваринам через 1 год після введення відповідних препаратів здійснювали водне навантаження в об'ємі 5% від маси тіла. Встановлено, що ренальні ефекти тіотриазоліну не мають безпосередньої залежності від утворення в нирках NO, в той час як антиоксидантна дія тіотриазоліну зумовлює блокаду залежної від оксиду азоту (II) внутрішньониркової генерації ангіотензину II, що і пояснює діуретичний та натрійуретичний ефекти досліджуваного препарату.

Публікації останніх років свідчать, що в механізмі дії багатьох лікарських засобів важливу роль відіграє оксид азоту (II). Дія одних препаратів реалізується внаслідок пригнічення активності ферменту NO-синтази і відповідно утворення NO, ефект інших навпаки — через підсилення синтезу даної сполуки [12, 14, 15]. Це приводить до відповідних функціональних змін органів та систем, на які діють певні лікарські препарати [5, 8].

З оксидом азоту (II), що міститься в лікарських засобах та вивільняється у процесі їх метаболізму, пов'язують і механізм дії деяких кардіоваскулярних препаратів, зокрема органічних нітратів (нітрогліцерину, сустаку, нітросорбіту та ін.) [7]. Виходячи з того, що між серцево-судинною системою та функціональною активністю нирок існує тісний взаємозв'язок, а лікарські засоби, що впливають на роботу серця та стан судин можуть змінювати і

функцію нирок, можна припустити, що і вплив на нирки нового вітчизняного кардіо- та гепатопротекторного засобу — тіотриазоліну також може опосередковуватися через NO.

Відомо, що тіотриазолін володіє діуретичним ефектом і має властивості нефропротектора [13]. Водночас залишається нез'ясованою участь систем регуляції водно-сольового обміну в ренальних ефектах тіотриазоліну та роль NO в цих реакціях. Теоретичними підставами для дослідження цього аспекту проблеми дії досліджуваного препарату було те, що тіотриазолін є водорозчинним антиоксидантом [3], а оксид азоту — кисневим радикалом [6], який може безпосередньо впливати на судинно-клубочковий апарат і канальцевий відділ нефрону [4, 10].

Мета дослідження полягала у з'ясуванні ролі NO-залежних механізмів регуляції діяльності нирок у реалізації ниркових ефектів тіотриазоліну.

Матеріали та методи

Експерименти проведені на 29 самцях білих щурів з масою тіла 140-200 г, які знаходились на стандартному раціоні віварію в умовах сталої температури та вологості. Згідно з уніфікованим планом дослідження за 4 дні до початку експерименту тварин переводили на стандартний за вмістом іонів натрію режим харчування (зерно пшениці), доступ до води не обмежували. В усіх серіях дослідів щурам у шлунок за допомогою зонду вводили тіотриазолін виробництва АТ "Галичфарм" (Україна) у дозі 100 мг/кг в об'ємі 5 мл/кг маси тіла. Контрольним тваринам вводили аналогічний об'єм розчинника.

Для з'ясування участі ендотеліального релаксуючого чинника — оксиду азоту (NO) у механізмі діуретичної та натрійуретичної дії тіотриазоліну було проведено серію експериментів за умов стимуляції вивільнення NO. Для цього щурам впродовж 7 днів паралельно з тіотриазоліном у шлунок через зонд вводили L-аргінін у дозі 100 мг/кг в об'ємі 5 мл/кг,

Таблиця

**Вплив тіотриазоліну на показники функції нирок у щурів
за одночасного тривалого введення L-аргініну ($\bar{x} \pm S_x$)**

Показники	Умови досліджу		
	Контроль, n=11	L-Аргінін, n=9	Тіотриазолін+L-аргінін, n=9
Діурез, мл/2 год/100 г	3,28±0,13	3,63±0,14	4,15±0,16 p<0,01 p ₁ <0,05
Екскреція іонів калію, мкмоль/2 год/100 г	18,52±1,57	18,09±1,77	40,41±4,52 p<0,01 p ₁ <0,01
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100 г	188,00±12,06	257,40±28,20 p<0,05	271,39±15,00 p<0,01
Відносна реабсорбція води, %	85,26±0,94	87,10±1,44	87,04±0,66
Екскреція іонів натрію, мкмоль/2 год/100 г	1,29±0,06	1,59±0,16	5,46±0,79 p<0,001 p ₁ <0,01
Фільтраційний заряд іонів натрію, мкмоль/хв/100 г	25,00±2,32	37,60±3,89 p<0,05	34,78±2,55 p<0,05
Відносна реабсорбція іонів натрію, %	99,95±0,003	99,96±0,006	99,87±0,022 p<0,01 p ₁ <0,01
Коефіцієнт співвідношення концентрацій іонів натрію і калію в сечі, од.	0,071±0,005	0,088±0,004 p<0,05	0,138±0,019 p<0,05 p ₁ <0,05
Кліренс безнатрієвої води, мл/2 год/100 г	3,27±0,13	3,62±0,14	4,11±0,16 p<0,01
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл, C _{ср}	0,69±0,04	0,66±0,08	2,01±0,28 p<0,01 p ₁ <0,01
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/хв/100 мкл, C _{ср}	11,27±0,44	12,79±0,27 p<0,01	11,08±0,34 p ₁ <0,01
Дистальний транспорт іонів натрію, мкмоль/хв/100 мкл, C _{ср}	1,93±0,08	1,89±0,21	1,62±0,07 p<0,05
pH сечі	6,53±0,10	6,17±0,12 p<0,05	6,38±0,16
Екскреція активних іонів водню, нмоль /100 мкл, C _{ср}	0,60±0,16	1,27±0,25 p<0,05	1,14±0,26

Примітки:

- 1) p — ступінь вірогідності показників порівняно з контролем;
- 2) p₁ — ступінь вірогідності показників порівняно з дією L-аргініну;
- 3) n — число спостережень.

який є біологічним субстратом та активатором для утворення NO [2]. Групою порівняння були щури, яким впродовж 7 днів вводили лише L-аргінін, та контрольні тварини, яким вводили розчинник. На 7-й день експерименту дослідним та контрольним тваринам через 1 год після введення відповідних препаратів здійснювали водне навантаження: щурам у шлунок через 1 год після останнього введення препарату вводили підігріту (37°C) водогінну воду в об'ємі 5% від маси тіла, після чого збирали сечу впродовж 2 год. У подальшому проводили евтанацію тварин шляхом декапітації, кров збирали у пробірки з гепарином, центрифугували при швидкості 3000 об/хв. У плазмі крові та сечі визначали концентрацію креатиніну методом Поппера за реакцією з пікриновою кислотою, іонів натрію та калію методом фотометрії полум'я на ФПЛ-1. Визначення pH сечі проводили на

мікробіоаналізаторі "Redelkys" (Угорщина) з розрахунком екскреції активних іонів водню [1].

Розрахунки показників функції нирок проводили за формулами О.Шюка [9]. Статистичну обробку матеріалу здійснювали методами параметричної статистики за допомогою програми "Statgraphics" (США).

Результати та їх обговорення

Результати дослідження свідчать, що L-аргінін не впливає на рівень водного діурезу та екскрецію іонів калію, не змінює реабсорбцію води, але підвищує швидкість клубочкової фільтрації (табл.). Відповідно до збільшення швидкості клубочкової фільтрації (C_{ср}) зростає фільтраційний заряд іонів натрію, але показники їх абсолютної і стандартизованої екскреції залишаються сталими, що зумовлено підвищенням інтенсивності проксимальної реаб-

сорбції іонів натрію. Кліренс безнатрієвої води і дистальний транспорт іонів натрію не змінювалися, а коефіцієнт співвідношення концентрацій у сечі іонів натрію і калію зростає на 23,9%. Водночас спостерігалось зменшення pH сечі і дворазове збільшення стандартизованої за об'ємом клубочкового фільтрату екскреції активних іонів водню.

Отже, отримані дані свідчать, що L-аргінін впливає переважно на судинно-клубочковий апарат нефрону, причому під його впливом відбувається активація механізму клубочково-каналцевого балансу — підвищення фільтраційного завантаження нефронів іонами натрію супроводжується адекватною інтенсифікацією їх транспорту в проксимальних каналцях при активації натрійзалежних механізмів ацидифікації сечі.

На фоні зазначених змін діяльності гломерулярного і каналце-

вого відділів нефрону тіотриазолін викликав діуретичну реакцію — об'єм вторинної сечі зростає відносно такого у щурів, які отримували лише L-аргінін, і був вищим за контрольний рівень. Причому реабсорбція води не змінювалася, а швидкість клубочкової фільтрації підвищувалася відносно контролю, хоча і не відрізнялася достовірно від такої у тварин, яким вводили L-аргінін. Це дозволяє зробити висновок, що діуретичні ефекти тіотриазоліну не опосередковані аргінін-NO-залежними механізмами збільшення швидкості клубочкової фільтрації. Водночас можна припустити, що додаткове збільшення фільтраційного завантаження нефронів обумовлено пригніченням утворення NO тіотриазоліну, що блокує стимулюючий ефект останнього на синтез і секрецію реніну юкстагломерулярними клітинами з відповідним зменшенням внутрішньониркової генерації ангіотензину II. Останній, як відомо, стимулює проксимальну реабсорбцію іонів натрію, що є одним із механізмів реалізації клубочково-канальцевого балансу [11]. Отри-

мані дані свідчать, що у тварин, які отримували тіотриазолін на фоні введення L-аргініну, реабсорбція іонів натрію в проксимальних відділах нефрону знижувалася до контрольних величин, хоча фільтраційний заряд іонів натрію при цьому перевищував контроль на 39,1%. Тобто у даному випадку не відбувається реалізації механізму клубочково-канальцевого балансу, що і призводить до зменшення відносної реабсорбції іонів натрію. Слід зауважити, що триразове підвищення екскреції іонів натрію, стандартизованої за об'ємом клубочкового фільтрату, відбувається внаслідок пригнічення їх транспорту у дистальних канальцях, тоді як проксимальна реабсорбція іонів натрію не відрізняється від контрольних показників. Підвищення коефіцієнта співвідношення концентрацій іонів натрію і калію в сечі підтверджує припущення про те, що тіотриазолін викликає пригнічення внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи. Водночас спостерігається збільшення кліренсу безнатрієвої води, що є адекватною реакцією нирок на

втрати іонів натрію з сечею. Збільшення екскреції іонів калію у даному випадку є результатом відомого ефекту "діуретичного калій-урезу" [1], тобто не залежить від активності ренін-ангіотензинової системи. Процеси ниркового кислотовиділення зменшуються до контрольних величин у відповідності зі зниженням проксимального канальцевого транспорту іонів натрію.

ВИСНОВКИ

Ренальні ефекти тіотриазоліну безпосередньо не залежать від утворення в нирках NO, в той час як антиоксидантна дія тіотриазоліну зумовлює блокаду залежної від оксиду азоту (II) внутрішньониркової генерації ангіотензину II, що і пояснює діуретичний та натрійуретичний ефекти досліджуваного препарату.

Обґрунтованою є перспектива подальших досліджень у цьому напрямку щодо з'ясування механізмів впливу ренін-ангіотензинової системи на продукцію ендотеліального чинника релаксації (NO) та з'ясування дії нових фармакологічних препаратів на ці системи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вандер А. Физиология почек / Пер. с англ. — С.-Пб: Питер, 2000. — 256 с.
2. Васильева Е.М., Баканов М.И., Марков Х.М. //Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1999. — Т. 128, №9. — С. 321-323.
3. Васильева Н.В., Мещишен І.Ф., Мудрик З.А. //Укр. наук.-мед. молодіжний журн. — 1998. — №2-3. — С. 38-41.
4. Гоженко А.І., Куксань Н.І., Погоріла І.В. //Мед. хімія. — 2002. — Т. 4, №4. — С. 65-68.
5. Ремизова М.И. //Вестник службы крови России. — 2000. — №2. — С. 53-57.
6. Серая И.П., Нарциссов Я.Р. //Успехи соврем. биол. — 2002. — Т. 122, №3. — С. 249-258.
7. Староверов И.И. //Рус. мед. журн. — 1999. — Т. 7, №15. — С. 724-727.
8. Шимановский Н.Л., Гуревич К.С. //Международ. мед. журн. — 2000. — Т. 6, №1. — С. 104-107.
9. Шюк О. Функциональное исследование почек. — Прага: Авиценум, 1981. — 344 с.
10. Dedeoglu I.O., Springate J.E. //Clin. and Exp. Hypertens. — 2001. — Vol. 23, №3. — P. 267-275.
11. Golin R., Genovesi S., Castoldi G. et al. //Arch. Ital. Biol. — 1999. — Vol. 137, №4. — P. 289-297.
12. Heller R., Munsher-Paulig F., Grabner R., Till U.J. //Biol. Chem. — 1999. — Vol. 274, №12. — P. 8254-8260.
13. Pinyazhko O.R., Kucharchuk O.L., Stets O.V. //Aktuality v nefrologii. — 1998. — №1. — P. 85.
14. Read S.J., Manning P., McNeil C.J. et al. //Brain Res. — 1999. — Vol. 847, №1. — P. 1-8.
15. Taterek S., Fidecka S. //Pol. J. Pharmacol. — 2002. — Vol. 54, №1. — P. 27-34.

Адреса для листування: 58000, м. Чернівці,
пл. Театральна, 2. Тел. (0372) 55-16-30.
Буковинська державна медична академія

Надійшла до редакції 20.02.2004 р.