

ФАРМАКОЛОГИЯ ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

КОМБИНАЦИЯ ТАУРИНА С ЦИНКА ДИАСПАРТАТОМ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ МЕТАБОЛИЗМА В НЕФРОНАХ И ФУНКЦИИ ПОЧЕК У КРЫС С КОНТРАСТ-ИНДУЦИРОВАННОЙ НЕФРОПАТИЕЙ

О. Н. Басалай, Е. Ч. Михальчук, С. М. Зиматкин, М. И. Бушма¹

Изучено нефрозащитное действие комбинации таурина с цинка диаспарта-том (таурин) у крыс с контраст-индуцированной нефропатией. Установлено дозозависимое нефрозащитное действие комбинации таурина (20 г/моль в смеси) с цинка диаспарта-том (1 г/моль в смеси), вводимых в желудок (250 и 500 мг/кг) в течение 14 дней у крыс с контраст-индуцированной (амидотризоат натрия и меглюмина, внутривенно 800 мг/кг/день, 14 дней) нефропатией.

Ключевые слова: крысы; амидотризоат натрия и меглюмина; нефропатия; комбинация таурина с цинка диаспарта-том; нефрозащитное действие.

ВВЕДЕНИЕ

Рентгеноконтрастные лекарственные средства (высокоосмолярные ионные — амидотризоат натрия и меглюмина, а также низкоосмолярные неионные — йогексол и др.) используют при проведении урографии, ангиографии и компьютерной томографии [10]. Их широкое применение (особенно первых) в значительной степени ограничено у пациентов с риском развития нефропатии [13]. Согласно рекомендациям Европейского общества урогенитальных радиологов контраст-индуцированная нефропатия — нефротоксичность, вызываемая контрастными средствами и являющаяся состоянием, при котором повреждение функции почек (повышение креатинина в сыворотке более чем на 25 % или более 44 мкмоль/л) происходит в течение 3 дней, следующих за внутривенным применением контрастного средства при отсутствии альтернативных причин [12]. Способом ее профилактики является гидратация (0,9 % раствором натрия хлорида, 1 мл/кг/ч или натрия гидрокарбонатом, 154 мэкв/л) [7]. Кроме того, нефрозащитным действием обладают антиоксиданты (ацетилцистеин, кислота аскорбиновая) и средства, усиливающие почечный кровоток (аминофиллин, теофиллин, допамин, фенолдопам) [6]. Однако в связи с отсутствием необходимых клинических доказательств, они не рекомендованы для применения в клинической практике.

Ранее нами показано, что введение крысам таурина в течение 2 недель ослабляет проявления деструкции корковых нефронов (КН), вызываемой сулемой [1]. В механизме его нефрозащитного действия играют роль антиоксидантные свойства обоих компонентов, а также осморегулирующее и мембраностабилизирующее

действие таурина [2, 3]. В настоящем исследовании изучено его нефрозащитное действие при аналогичном режиме введения по отношению к преимущественно пораженным юкстамедуллярным нефронам (контраст-индуцированная нефропатия) [11].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на 32 беспородных крысах-самцах массой 200–250 г в соответствии с Хельсинской декларацией о гуманном обращении с животными (питомник УО “Гродненского государственного медицинского университета”, Гродно, Беларусь). Животные получали сбалансированный по нутриентам гранулированный корм вивария, мясные субпродукты, овощи (морковь, капуста) и воду *ad libitum*. Комбинацию таурина (20 г/моль – 2,5 г) с цинка диаспарта-том (1 г/моль – 0,35 г) (таурин в капсулах для доклинических испытаний: таурин – 500 мг, цинка диаспарта-том – 70 мг, крахмал – 20 мг, магния стеарат – 5 мг; производитель ООО “Фармлэнд”, Беларусь) вводили в желудок через зонд в виде взвеси в слизи крахмала в дозах 250 и 500 мг/кг/день в течение 14 дней. Амидотризоат натрия и меглюмина (триомбраст в виде 76 % водного раствора в ампулах по 20 мл, производитель ОАО “Фармак”, Украина) вводили внутривенно в дозе 800 мг/кг/день отдельно и параллельно с таурином [1].

Через 2 ч после последнего введения веществ животных помещали в обменные клетки для сбора мочи на 24 ч. Затем животных умерщвляли декапитированием, собирали кровь, извлекали левую почку.

Методы оценки активности ферментов в почках. Одни кусочки почек фиксировали в ацетоне, заключали в парафин и определяли активность щелочной фосфатазы (ЩФ) по Г. Гомори, другие — замораживали в жидком азоте и определяли активность кислой фосфатазы (КФ) по Г. Гомори, сукцинатдегидрогеназы (СДГ)

¹ Учреждение образования “Гродненский государственный медицинский университет” МЗ Республики Беларусь, 230005, Беларусь, Гродно, ул. Горького, 80.

по N. Nachlas, et al., лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и никотинамидадениндинуклеотиддегидрогеназы (НАДН-ДГ) по R. Hess [9]. Активность ферментов оценивали по оптической плотности получаемого осадка хромогена с помощью микроскопа Axioscop 2 plus (C. Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры LeicaFC 320 (LeicaMicrosystems, Германия), программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit. Flow, США).

Методы оценки функции почек. В плазме крови определяли содержание мочевины (энзиматический уреазный метод), креатинина (метод Илька с пикриновой кислотой); в моче — мочевой кислоты (энзиматический уриказный метод), мочевины и креатинина (см. выше), клиренс последнего (проба Реберга), pH (метод "сухой химии"), содержание белка (биуретовый метод) [4].

Количественную оценку полученных результатов проводили методом непараметрической статистики Манна-Уитни с использованием пакета программ "Statistica" 6.0.437.0 для Windows (StatSoft, Inc., США), лицензионный номер 31415926535897 [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нефротоксическое действие амидотризоата натрия и меглюмина. Активность СДГ и ЛДГ, ЩФ и НАДН-ДГ в эпителиоцитах, выстилающих просвет проксимальных извитых канальцев (ПИК) КН, снижается в среднем на 44 %, $p = 0,001$, а КФ — не изменяется. В плазме повышается содержание мочевины, мочевой кислоты и креатинина на 53, 29 и 45 %, $p = 0,001$. Экскреция с мочой мочевины, креатинина, а также клиренс последнего снижаются соответственно на 20, 36, 37 %, $p = 0,001$. Регистрируется протеинурия и полиурия (таблица). Между ингибированными активностями ЩФ, КФ и НАДН-ДГ (с одной стороны) и сниженным клиренсом креатинина (с другой) выявлены ($r = 0,72 - 0,80$, $p = 0,001$) положительные корреляционные взаимосвязи. Следовательно, по степени снижения клиренса креатинина можно судить о выраженности ингибирования в почечной паренхиме активности вышеуказанных ферментов.

Нефрозащитное действие тауцина. Тауцин в дозе 250 мг/кг оказывает нефрозащитное действие. Ингибированная активность СДГ, ЛДГ и ЩФ повышается соответственно на 67 % ($p = 0,001$), 20 % ($p = 0,005$) и

Показатели нефротоксичности у крыс, получавших амидотризоат натрия и меглюмина (внутрибрюшинно, 800 мг/кг/день, 14 доз) отдельно, и в комбинации с тауцином (в желудок в виде взвеси в слизи крахмала, 250 и 500 мг/кг/день, 14 доз), Me (Q25 — Q75)

| Изучаемый показатель | Контроль | Амидотризоат натрия и меглюмина | | |
|--------------------------------|----------------------|---------------------------------|--------------------------------------|---|
| | | + слизь крахмала | + тауцин, 250 мг/кг | + тауцин, 500 мг/кг |
| Почка | | | | |
| СДГ | 0,40 (0,35, 0,46) | 0,18 (0,16, 0,23) 0,001 | 0,30 (0,28, 0,32) 0,004 (0,001) | 0,35 (0,32, 0,37) 0,6 (0,001) [0,04] |
| ЛДГ | 0,37 (0,35, 0,40) | 0,20 (0,19, 0,22) 0,001 | 0,24 (0,23, 0,26) 0,001 (0,005) | 0,33 (0,32, 0,36) 0,05 (0,001) [0,04] |
| ЩФ | 0,67 (0,65, 0,69) | 0,41 (0,40, 0,44) 0,001 | 0,56 (0,54, 0,58) 0,001 (0,001) | 0,61 (0,59, 0,66) 0,03 (0,001) [0,005] |
| НАДН-ДГ | 0,35 (0,34, 0,38) | 0,23 (0,20, 0,25) 0,001 | 0,34 (0,31, 0,37) 0,3 (0,001) | 0,41 (0,39, 0,45) 0,02 (0,001) [0,001] |
| Плазма | | | | |
| Мочевина (ммоль/л) | 3,6 (3,4, 3,9) | 5,5 (5,4, 5,9) 0,001 | 5,1 (4,8, 5,4) 0,001 (0,05) | 4,4 (4,2, 4,6) 0,002 (0,001) [0,01] |
| Мочевая кислота (мкмоль/л) | 94 (91, 97) | 121 (117, 126) 0,001 | 101 (97, 105) 0,01 (0,001) | 99 (94, 103) 0,1 (0,01) [0,4] |
| Креатинин (мкмоль/л) | 71 (69, 72) | 103 (100, 104) 0,001 | 109 (107, 111) 0,001 (0,01) | 79 (75, 82) 0,002 (0,001) [0,001] |
| Моча | | | | |
| Мочевина (ммоль/л) | 215 (213, 219) | 173 (171, 175) 0,001 | 197 (193, 201) 0,002 (0,001) | 210 (203, 214) 0,1 (0,001) [0,01] |
| Белок (г/л) | 0,021 (0,019, 0,023) | 0,170 (0,160, 0,180) 0,001 | 0,169 (0,166, 0,173) 0,001 (0,8) | 0,108 (0,107, 0,110) 0,001 (0,001) [0,001] |
| Креатинин (ммоль/л) | 2,11 (2,08, 2,16) | 1,36 (1,35, 1,37) 0,001 | 1,81 (1,79, 1,84) 0,001 (0,001) | 2,21 (2,19, 2,22) 0,001 (0,001) [0,001] |
| Клиренс (мл/мин) | 0,171 (0,164, 0,174) | 0,107 (0,106, 0,108) 0,001 | 0,176 (0,175, 0,178) 0,07 (0,001) | 0,244 (0,241, 0,245) 0,001 (0,001) [0,001] |
| Суточный диурез (мл/100 г/сут) | 2,3 (2,1, 2,6) | 5,9 (5,8, 6,2) 0,001 | 5,2 (4,7, 6,0) 0,001 (0,09) | 5,5 (5,3, 5,9) 0,001 (0,04) [0,5] |

Примечание. Первая строка цифр — значения Me и (в скобках) — 25–75 % квартилей; вторая — значения p : без скобок — в сравнении с контрольными, в круглых скобках — с получавшими амидотризоат натрия и меглюмина, в квадратных скобках — с получавшими амидотризоат натрия и меглюмина в комбинации с тауцином в дозе 250 мг/кг крысами. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые ($p < 0,05$) значения.

37 % ($p = 0,001$), а НАДН-ДГ — нормализуется. В плазме снижается содержание мочевой кислоты на 17 %, $p = 0,001$, а экскреция мочевины и креатинина повышается (на 14 и 34 %, $p = 0,001$). Клиренс последнего возрастает на 64 %, $p = 0,001$ (таблица).

Двукратное увеличение дозы таурина сопровождается усилением его нефрозащитных свойств. Сравнительный анализ параметров крыс 2 групп, получавших его в дозах 250 и 500 мг/кг, свидетельствует о том, что дозозависимо активизируются как метаболические процессы в нефронах (СДГ, ЩФ и НАДН-ДГ), так и улучшается функция органа (судя по более выраженному снижению в плазме содержания мочевины и креатинина и повышению в моче мочевины, мочевой кислоты, креатинина; клиренса последнего) (таблица). Между повышенной экскрецией с мочой мочевины и активностью ЩФ, КФ и НАДН-ДГ регистрируются ($r > 0,76$, $p = 0,001$) положительные корреляционные взаимосвязи.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о нефротоксическом действии амидотризоата натрия и меглюмина в больших дозах, проявляющемся ингибированием активности ключевых ферментов метаболизма в почках и функции органа, что согласуется с литературными данными [14]. В механизме его нефротоксического действия играет роль активация генерации активных форм кислорода, повреждающих митохондрии эпителиоцитов ПИК КН [5].

Сравнительный анализ 2 групп крыс, получавших таурин в дозах 250 и 500 мг/кг, свидетельствует о его дозозависимом нефрозащитном действии.

Нефрозащитное действие таурина, по-видимому, обусловлено его дезинтоксикационными, антиоксидантными и мембраностабилизирующими свойствами, способностью регулировать уровень кальция и осмотическое давление в клетках [3].

В реализации нефрозащитных свойств цинка может играть его кофакторная роль в составе более 200 ферментов клеточного метаболизма. Кроме того, металл является активатором ферментов-антиоксидантов: супероксиддисмутазы (кофактор) и глутатионпероксидазы (посттрансляционный модулятор) [2].

ВЫВОДЫ

1. Амидотризоат натрия и меглюмина (внутрибрюшинно, 800 мг/кг/день, 14 доз) оказывает нефротокси-

ческое действие у крыс, проявляющееся ингибированием в эпителиоцитах ПИК КН активности СДГ, ЛДГ, ЩФ, НАД-ДГ на 55, 46, 39, 34 %. $p = 0,001$ и снижением экскреторной функции органа (повышение содержания мочевины, мочевой кислоты, креатинина в плазме на 53, 29 и 45 %, $p = 0,001$ и белка в моче в 8 раз, $p = 0,001$; суточного диуреза на 157 % $p = 0,001$, и снижение — мочевины и креатинина в моче, клиренса последнего в среднем на 31 %, $p = 0,001$).

2. Комбинация таурина с цинка диаспаратом, вводимая в желудок (250 и 500 мг/кг, 14 дней), оказывает дозозависимое нефрозащитное действие, проявляющееся в увеличении активности ферментов в почках (СДГ, ЩФ, НАДН-ДГ) на 17 % ($p = 0,04$), 9 % ($p = 0,005$), 21 % ($p = 0,001$); экскреции мочевины на 7 %, $p = 0,01$ и снижении в плазме содержания мочевины на 14 %, $p = 0,01$ и креатинина на 28 %, $p = 0,001$.

ЛИТЕРАТУРА

1. О. Н. Басалай, *Материалы ежегодной научно-практической конференции студентов и молодых ученых "Актуальные проблемы медицины"*, Гродно (2015), сс. 49 – 51.
2. В. М. Шейбак, Л. Н. Шейбак, *Биологическая роль цинка и перспективы медицинского применения цинк-содержащих препаратов*, Гродно (2003).
3. В. М. Шейбак, Л. Н. Шейбак, *Мед. новости*, № 10, 65 – 75 (2005).
4. В. С. Камышников, *Методы клинических лабораторных исследований*, МЕДпресс-информ, Москва (2009).
5. Г. В. Волгина, *Нефрология и диализ*, 8(1), 324 – 331 (2006).
6. Г. В. Волгина, *Нефрология и диализ*, 8(2), 176 – 183 (2006).
7. И. Г. Каюков, А. В. Смирнов, В. А. Добронравов, *Нефрология*, 11(3), 93 – 104 (2007).
8. О. Ю. Реброва, *Статистический анализ медицинских данных*, МедиаСфера, Москва (2002).
9. Э. Пирс, *Гистохимия теоретическая и прикладная*, "Иностранная литература", Москва (1962).
10. Ю. А. Поляев, А. Л. Юдин, Н. Л. Шимановский, *Применение контрастных средств в лучевой диагностике*, "Калганов", Москва (2010).
11. С. Caldararu, K. Christopher, M. Dogaru, et al., *Farmacia*, 7(1), 5 – 16 (2009).
12. H. S. Thomsen, S. K. Morcos, *ESUR Contrast Media Safety Committee. Eur Radiol.*, № 9, 738 – 740 (1999).
13. M. W. Waybill, P. N. Waybill, *J. Vasc. Interv. Radiol.*, № 12, 3 – 9 (2001).
14. T. Gleeson, S. Bulughapitiya, *Am. J. Roentgenol.*, 183(6), 1673 – 1689 (2004).

Поступила 29.07.15

COMBINATION OF TAURINE WITH ZINC DIASPARTATE FOR CORRECTION OF METABOLISM DISTURBANCES IN NEPHRONS AND RENAL FUNCTION IN RATS WITH CONTRAST-INDUCED NEPHROPATHY

O. N. Basalai, E. Ch. Mikhalchuk, S. M. Zimatkin, and M. I. Bushma

Grodno State Medical University, Ministry of Public Health of the Republic of Belarus, ul. Gorkogo 80, Grodno, 230005, Republic of Belarus

The nephroprotective properties of a combination of taurine with zinc diaspertate (taucin) in rats with contrast-induced nephropathy have been estimated. It is established that the combination of taurine with zinc diaspertate (20 and 1 g/mol, respectively, ingested in doses 250 and 500 mg/kg in the stomach during 14 days) produces a dose-dependent nephroprotective action on rats with contrast-induced (sodium and meglumin amidotrizoates, 800 mg/kg/day intraperitoneally, 14 days) nephropathy.

Keywords: rats; sodium amidotrizoate; meglumin amidotrizoate; nephropathy; taurine combination with zinc diaspertate; nephroprotective properties.