

© Баринов Э.Ф., Волошин В.В., Сулаева О.Н.

УДК 591.461.2:599.323.4].084.1-003.96:612.017

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ КОРРЕКЦИИ РЕНАЛЬНЫХ ДИСФУНКЦИЙ БЛОКАТОРОМ АТ₁-РЕЦЕПТОРОВ ПОСЛЕ ОБСТРУКЦИИ МОЧЕТОЧНИКА

Э.Ф.Баринов, В.В.Волошин, О.Н.Сулаева

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького

ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ КОРЕКЦІЇ РЕНАЛЬНИХ ДИСФУНКЦІЙ БЛОКАТОРОМ АТ₁-РЕЦЕПТОРІВ ПІСЛЯ ОБСТРУКЦІЇ СЕЧОВОДА

Резюме. З метою оцінки ефективності застосування блокатора АТ₁-рецепторів для корекції порушень осморегуляції проведено аналіз функціонального стану постобструктивної нирки в щурів з різною активністю РАС і eNOS, оціненої в тесті *in vitro* за ефективною концентрацією ангіотензину II, що індукувала 50% агрегацію тромбоцитів, та амплітуді модулюючих ефектів L-NAME і L-аргініну. Показано, що реакція РАС і eNOS при зворотному розладі уродинаміки має індивідуальний характер. Призначення Лозартану тваринам з гіперактивністю РАС і eNOS зумовлює менший ступінь альтерації, і, оптимізуючи внутрішньоклітинні механізми реалізації саногенетичних процесів, сприяє ранньому відновленню функції нирки й ефективності її концентраційного апарату.

Ключові слова: нирка, дисфункції, Лозартан, експеримент.

Нарушение уродинамики и повышение давления в чашечно-лоханочной системе ведут к сдавлению пирамид мозгового вещества и повышению внутритубулярного давления, что определяет активацию тубуло-гломерулярной системы почки [1]. Последнее подразумевает увеличение продукции ренина и образования ангиотензина I, конвертируемого ферментом эндотелия в активную форму – ангиотензин II (АнгII). Позитивным результатом данной реакции является снижение гломерулярной перфузии, СКФ и объемной загрузки канальцев. Однако повышение уровня АнгII может иметь и негативные последствия, учитывая вазоконстрикторный, проагрегантный, провоспалительный и профиброгенный эффекты данного гормона [2]. Учитывая высокую вероятность развития ишемии, альтерации, воспаления и фиброза в условиях высокой активности ренин-ангиотензиновой системы (РАС), в целях нефропротекции предлагается использовать ингибиторы ангиотензин-конвертирующего фермента (АКФ) [3]. Однако изучение их фармакокинетики позволило выяснить ряд побочных эффектов. Один из них связан с повышением уровня

брадикинина при ингибировании АКФ [4]. Оказалось, что стимуляция продукции NO не перевешивает негативных последствий, связанных с нарушением гемодинамики и потенцированием воспалительной реакции, вызванной нарушением уродинамики. Тем более, что дилатация канальцев, ишемия эндотелия и высокий уровень АнгII являются стимуляторами активности eNOS. Разработка и клиническая апробация блокаторов АТ₁-рецепторов позволяет купировать патогенетические эффекты АнгII, избегая недостатков, связанных с использованием ингибиторов АКФ, а также с индивидуальными особенностями состояния системы eNOS-NO-протеинкиназа G.

Цель исследования. Оценить эффективность применения блокатора АТ₁-рецепторов – Лозартана с целью коррекции нарушений осморегуляции при различной активности РАС и eNOS.

Материал и методы. Работа выполнена на 80 белых крысах линии Вистар массой 220±15 г. В контрольную группу вошли 10 интактных крыс, 70 крысам моделировали острую обструкцию мочеточника (ОМ) в условиях гексеналового наркоза. После срединной лапаротомии рассекали стенку

мочевого пузыря и через устье левого мочеточника в его просвет проводили ангиокатетер. Катетер проводили под кожей, свободный конец выводили на шею и присоединяли к пластиковой пробирке для сбора мочи. Брюшную стенку послойно ушивали. Через 2 суток катетер закрывали на 48 ч, что воспроизводило острое нарушение пассажа мочи, затем восстанавливали отток мочи из левой почки.

О состоянии PAC судили по чувствительности AT_1 -рецепторов в тесте *in vitro*, которую оценивали по эффективной концентрации АнгII, вызывающей 50 % агрегацию тромбоцитов. Оценку состояния eNOS проводили на основании ингибиторного анализа при использовании стимулятора (L-аргинин) и ингибитора (L-NAME) активности фермента. У интактных крыс EC_{50} Анг-II составила $0,85 \pm 0,05$ мкМ. После 48-часовой ООМ данный показатель повышался. Результаты *in vitro* теста продемонстрировали наличие индивидуальных особенностей активности изученных систем и гетерогенность их реакции на ООМ, что позволило разделить экспериментальных животных на группы.

Для дальнейших исследований ренальных дисфункций отобрали животных с повышением уровня EC_{50} АнгII на 10-35 % (1 группа). Об активности eNOS судили по амплитуде изменения агрегации тромбоцитов при добавлении ингибитора и стимулятора фермента: L-NAME стимулировал АнгII-индуцированную агрегацию тромбоцитов на 20-30 %, а стимулятор отменял ее на 9-17 %. Во 2-ю группу вошли крысы с повышением EC_{50} АнгII (на 36-112 %), при этом проагрегантный эффект L-NAME составлял 35-43 %, тогда как L-аргинин отменял агрегацию тромбоцитов лишь на 3-7 %, что можно трактовать как исходно высокий уровень активности eNOS [5]. Часть этих крыс была отобрана в 3-ю группу животных, которым с 1-го дня эксперимента назначали Лозартан путем добавления в питьевую воду из расчета 10 мг/кг в день в течение двух недель.

Оценку осмоконцентрационной функции постобструктивной почки проводили через 7, 14 и 30 суток после устранения ООМ в базальных условиях (фон) и после 24-часовой водной депривации. Животных помещали в индивидуальные клетки, ограничивая доступ к воде, фиксируя объем выделенной мочи из катетера, введенного в мочеточник. Это позволяло трактовать результаты применительно к функциональному состоянию постобструктивной почки (без участия контралатеральной почки). Концентрацию креатинина в пробах мочи и плазмы определяли фотометрически на спектрофотометре СФ-46 (Россия) в реакции с пикриновой кислотой. Осмолярность оценивали криоскопическим методом на осмометре "ОМКА ИЦ-01". Концентрацию натрия в моче и плазме определяли на

фотометре ФПЛ-1 методом пламенной фотометрии. Для анализа парциальных функций почек использовали следующие показатели: диурез, СКФ, экскреторная фракция натрия (EF_{Na}) и воды (EF_{H_2O}), клиренс осмотически активных веществ (C_{osm}), натрия (C_{Na}) и воды свободной от натрия (C_{NaH_2O}). Максимальную реабсорбцию осмотически свободной воды ($T_{H_2O}^c$) и концентрационный индекс ($KI = U_{osm}/P_{osm}$) рассчитывали по общепринятым формулам [6]. Полученные результаты обрабатывали статистически.

Результаты исследования и их обсуждение. При водной депривации у крыс 3-й группы через 7 суток после устранения ООМ диурез снижался на 19,7 % ($p < 0,05$). При этом эффективность антидиуреза относительно 2-й группы оказалась на 19,69 % ($p < 0,05$) выше, хотя оставалась на 29,27 % ниже, чем у интактных животных ($p < 0,01$). Улучшение антидиуретической реакции у крыс с высоким уровнем активности PAC и eNOS после коррекции Лозартаном было обусловлено повышением уровня концентрирования мочи. Об этом свидетельствовало повышение КИ на 14,67 % по сравнению с животными без фармакологической коррекции. Однако прирост U_{osm}/P_{osm} в постобструктивной почке крыс 3-й группы составил лишь 17,89 % ($p < 0,05$), что оказалось на 26,15 % меньше, чем у интактных животных ($p < 0,01$) и на 6,05 % ниже, чем у крыс 1-й группы. Несколько неожиданным является результат оценки $T_{H_2O}^c$. Этот показатель повышался на 15,56 % ($p < 0,05$) и лишь на 8,33 % превышал значение во 2-й группе. При этом уровень реабсорбции осмотически свободной воды в условиях антидиуреза у крыс 3-й группы был на 24,64 % ниже, чем у интактных животных ($p < 0,01$). Утешительным фактом является недостоверность отличий данного критерия у крыс 3-й и 1-й группы. Можно утверждать, что низкие значения $T_{H_2O}^c$, отражающие эффективность работы противоточно-множительной системы внутренней медуллы, наиболее уязвимой к патогенетическим факторам нарушения уродинамики, отражают степень первоначальной альтерации и медленное восстановление тубулярных структур ВМ. Учитывая межгрупповую вариабельность диуреза, целесообразно использовать для анализа отношение $T_{H_2O}^c/V$. В 3-й группе данное отношение было на 34,25 % больше, чем во 2-й группе ($p < 0,01$), но оставалось на 41,67 % ($p < 0,01$) и 9,26 % ($p < 0,05$) мень-

ше, чем в контроле и у животных 1-й группы соответственно.

Через 14 суток в постобструктивной почке крыс 3-й группы снижение диуреза после ВД составило 27,14 % в сравнении с фоновыми значениями ($p < 0,01$). К концу ВД U_{osm}/P_{osm} возрастал на 30,17 % ($p < 0,001$) и был выше, чем во 2-й группе, на 25,11 %. Интересным представляется сравнение прироста степени концентрирования мочи при ВД между 7-ми и 14-ми сутками в 3-й и 2-й группах (U_{osm}/P_{osm} составил 15,33 % ($p < 0,05$) в 3-й группе, тогда как во 2-й – всего 5,79 %). Учитывая, что механизм концентрирования основан на реабсорбции осмотически свободной воды, логично было бы найти подтверждение этому выводу и при анализе $T_{H_2O}^c$. Данный показатель в 3-й группе был на 11,54 % выше, чем во 2-й, что отчасти может быть связано с блокадой ингибирующего эффекта АнгII на экспрессию аквапоринов в главных клетках СТ. Сопоставление реабсорбции осмотически свободной воды в почке между 7-ми и 14-ми сутками наблюдения показало, что $T_{H_2O}^c$ во 2-й группе составил 4,17 %, а в 3-й группе – 11,54 % ($p < 0,05$). При этом прирост $T_{H_2O}^c$ относительно фоновых значений за данный период у крыс, получавших Лозартан, достигал 23,4 % ($p < 0,01$), не имея достоверных отличий от результатов в 1-й группе и на 16 % ($p < 0,05$) превышая значение $T_{H_2O}^c$ во 2-й группе. Показательным представляется сопоставление величины $T_{H_2O}^c/V$, рассчитанной в экспериментальных группах. Судя по этому критерию осмоконцентрирования, к 14-м суткам после устранения ООМ животные располагались следующим образом: интактные > 3-я > 1-я > 2-я, соответственно: 1,68 – 1,29 – 1,21 – 0,83. Следовательно, в случае применения блокатора АТ₁-рецепторов восстановление структурной целостности и внутриклеточных механизмов, определяющих эффективность реализации адаптационной реакции, направленной на усиление транспорта воды в противоточно-множительном аппарате почки на 14-е сутки восстанавливается быстрее, чем в 1-й группе.

Через 1 мес. снижение диуреза в процессе ВД было сопоставимым с динамикой показателя на предыдущем сроке наблюдения и лишь на 7,32 % ($p < 0,05$) отличалось от контроля. К концу ВД концентрационный индекс возрастал относительно фоновых значений на 32,55 %

($p < 0,001$), однако оставался ниже, чем у интактных крыс на 11,73 %. Прирост U_{osm}/P_{osm} между 14 и 30 сутками в 3-й группе замедлялся по сравнению с предыдущим сроком наблюдения и даже отставал от такового во 2-й группе (в 3-й группе U_{osm}/P_{osm} составил 3,63 % ($p > 0,01$), во 2-й – 9,41 %; $p < 0,05$). Хотя при этом КИ в условиях антидиуреза у крыс 3-й группы был на 18,5 % ($p < 0,05$) выше, чем во 2-й группе, и не отличался от показателя в 1-й группе. Аналогичный феномен наблюдался и при сопоставлении реабсорбции осмотически свободной воды в почке в данный период наблюдения ($T_{H_2O}^c$ в 3-й группе была в пределах 3,45 % ($p > 0,1$), а во 2-й – 6,0 %; $p < 0,05$). Хотя по сравнению с фоном $T_{H_2O}^c$ у крыс 3-й группы повышалась на 25 % ($p < 0,01$), дефицит данного показателя относительно контроля составил 13,04 % ($p < 0,05$). Сопоставление величины $T_{H_2O}^c/V$ показало, что согласно мощности осмоконцентрирования мочи животные располагались следующим образом: интактные > 1-я = 3-я > 2-я (соответственно: 1,68 – 1,44 – 1,36 – 1,0). Складывается впечатление, что в случае применения блокатора АТ₁-рецепторов максимальная мощность адаптационного механизма достигается за короткий промежуток времени и в дальнейшем поддерживается на оптимальном уровне. Это может быть связано с ограничением степени альтерации, достигаемым ранним назначением Лозартана. При этом цитопротекторный эффект блокатора АТ₁-рецепторов может быть связан как с купированием эффектов АнгII, так и с модуляцией продукции NO. Блокада АТ₁-рецепторов предотвращает развитие патогенетических эффектов АнгII, включая: 1) вазоконстрикцию [1], что снижает степень ишемии; 2) гиперперфузию гломерул, что предотвращает повышенную нагрузку канальцевого аппарата и потерю воды и осмолитов; 3) оксидативный стресс [7], снижение степени которого при приеме Лозартана снижает степень первичного повреждения структур нефрона и эндотелия; 4) ингибирование апоптоза [8], что ограничивает потерю клеток, способных к функционированию, и снижает объем необходимой репаративной регенерации в гломеруле и канальцах почки; 5) активацию моноцитов-макрофагов [9], способствующих развитию воспалительной реакции и тубуло-интерстициального синдрома; 6) инициацию

экспрессии TGF- β и склероз ренального интерстиция, нарушение ангиогенеза и в конечном итоге – атрофию канальцевого аппарата почки [2]. Кроме того, учитывая сопряженность PAC и NO-зависимой системы на внутриклеточном уровне, блокада AT₁-рецепторов предотвращает активацию через Ca-кальмодулиновую систему избыточную активацию продукции NO [10], имеющую место у крыс 2-й группы. В этом отношении блокаторы AT₁-рецепторов выгодно отличаются от ингибиторов АКФ. Снижение активности последнего, работающего в качестве химазы, инактивирующей брадикинин, ведет к увеличению уровня активного брадикинина с его гемодинамическими и провоспалительными эффектами [3]. Кроме того, брадикинин способен повышать активность eNOS, что у крыс 2-й группы может вести к гиперпродукции NO и усугублению его патогенетических эффектов.

И, наконец, в условиях ингибирования АКФ зарегистрировано усиление экспрессии рецепторов к эндотелину, известному в качестве мощного ренального вазоконстриктора и стимулятора апоптоза. Выявленная у крыс 2-й группы гиперактивность eNOS на фоне выраженного снижения чувствительности AT₁-рецепторов ведет к созданию в постобструктивной почке парадоксальной ситуации, когда саногенетическая регуляторная система, обеспечивающая защиту от ишемии и адаптирующая микроциркуляцию к изменениям гомеостаза, становится фактором патогенеза развития постобструктивной нефропатии.

Вывод. Назначение Лозартана ограничивает степень альтерации в ранние сроки после ООМ, что позитивно сказывается на функциональной активности почки и восстановлении ее адаптационных возможностей в поздние сроки после обструкции.

Литература

1. Chevalier R.L. Pathogenesis of renal injury in obstructive uropathy // *Curr. Opin. Pediatr.* – 2006. – V. 18, № 2. – P. 153-160.
2. Kellner D., Chen J., Richardson I. et al. Angiotensin receptor blockade decreases fibrosis and fibroblast expression in a rat model of unilateral ureteral obstruction // *J. Urol.* – 2006. – V. 176, № 2. – P. 806-812.
3. Koo J.W., Kim Y., Rozen S., Mauer M. Enalapril accelerates remodeling of the renal interstitium after release of unilateral ureteral obstruction in rats // *J. Nephrol.* – 2003. – V. 16, № 2. – P. 203-209.
4. Moridaira K., Morrissey J., Fitzgerald M., Guo G. ACE inhibition increases expression of the ETB receptor in kidneys of mice with unilateral obstruction // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2003. – V. 284, № 1. – P. 209-217.
5. Баринов Э.Ф., Бондаренко Н.Н., Сулаева О.Н., Волошин В.В. Состояние внутриклеточного сигнального пути NO-протеинкиназа G у крыс с различной чувствительностью AT₁-рецепторов при моделировании обструкции мочеточника // *Вест. неол. и восст. мед.* – 2006. – Т. 7, № 4. – С. 679-682.
6. Рябов С.И., Наточин Ю.В. Функциональная нефрология. – СПб.: Лань, 1997. – 304 с.
7. Manucha W., Carrizo L., Ruete C. Angiotensin II type I antagonist on oxidative stress and heat shock protein 70 (HSP 70) expression in obstructive nephropathy // *Cell. Mol. Biol.* – 2005. – V. 851, № 6. – P. 547-555.
8. Eskild-Jensen A., Paulsen L.F., Wogensen L., Olesen P. AT₁ receptor blockade prevents interstitial and glomerular apoptosis but not fibrosis in pigs with neonatal induced partial unilateral ureteral obstruction // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2007. – V. 292, № 6. – P. 1771-1781.
9. Баринов Э.Ф., Волошин В.В. Модуляция воспаления в почке при обструкции мочеточника путем ингибирования эффектов ангиотензина-II // *Акт. пробл. трансп. мед.* – 2007. – Т. 7, № 1. – С. 127-131.
10. Manucha W., Oliveros L., Carrizo L., Seltzer A. Losartan modulation on NOS isoforms and COX-2 expression in early renal fibrogenesis in unilateral obstruction // *Kidney Int.* – 2004. – V. 65, № 6. – P. 2091-2107.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ КОРРЕКЦИИ РЕНАЛЬНЫХ ДИСФУНКЦИЙ БЛОКАТОРОМ AT₁-РЕЦЕПТОРОВ ПОСЛЕ ОБСТРУКЦИИ МОЧЕТОЧНИКА

Резюме. С целью оценки эффективности применения блокатора AT₁-рецепторов для коррекции нарушений осморегуляции проведен анализ функционального состояния постобструктивной почки у крыс с различной активностью PAC и eNOS, оцененной в тесте *in vitro* по эффективной концентрации ангиотензина II, вызывающей 50 % агрегацию тромбоцитов, и амплитуде модулиру-

ющих эффектов L-NAME и L-аргинина. Показано, что реакция PAC и eNOS при обратимом нарушении уродинамики индивидуальна. Назначение Лозартана крысам с гиперактивностью PAC и eNOS обуславливает меньшую степень альтерации, и, оптимизируя внутриклеточные механизмы реализации саногенетических процессов, способствует раннему восстановлению функциональной полноценности почки и эффективности ее концентрационного аппарата.

Ключевые слова: почка, дисфункции, Лозартан, эксперимент.

PATHOGENETIC SUBSTANTIATION TO CORRECT RENAL DYSFUNCTION BY MEANS OF AT₁ RECEPTORS BLOCKER AFTER URETERAL OBSTRUCTION

Abstract. In order to estimate the efficacy of using AT₁ receptors blocker to correct osmoregulation disturbances an analysis of the functional condition of the postobstructive kidney in rats with a varying activity of PAC and eNOS has been carried out and evaluated with an in vitro test based on an effective concentration of angiotensin II that induced a 50 % aggregation of thrombocytes and the amplitude of

the modulating effects of L-NAME and L-arginin. It has been shown that the PAC and eNOS reaction with a reversible disturbance of urodynamics is individual. The prescription of losartan to animals with PAC and eNOS hyperactivity stipulates a lesser degree of alteration and by optimizing intracellular mechanisms of implementing sanogenetic process contributes to an early renal functional recovery and the efficacy of its concentrating apparatus.

Key words: kidney, dysfunction, losartan experiment.

M.Gorky National Medical University (Donets'k)

Надійшла 02.06.2007 р.

Рецензент – проф. Ю.С.Роговий (Чернівці)

© Павловський М.П., Шахова Т.І., Коломійцев В.І., Вишневський В.І., Лукавецький О.В., Чикайло А.Т., Маріна В.Н.

УДК 616.381-002-07-089.85

ПОЛІОРГАННА НЕДОСТАТНІСТЬ І СЕПТИЧНИЙ ШОК ЯК ПЕРШІ ПРОЯВИ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОГО ПЕРИТОНІТУ

**М.П.Павловський, Т.І.Шахова, В.І.Коломійцев, В.І.Вишневський,
О.В.Лукавецький, А.Т.Чикайло, В.Н.Маріна**

Кафедра факультетської хірургії (зав. – акад. АМН України М.П.Павловський) Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького

Резюме. Проведено аналіз клінічного перебігу, особливостей діагностики і можливостей прогнозування наслідків післяопераційного перитоніту у 287 хворих, яким виконана релапаротомія. Вивчено частоту і характер поліорганної недостатності/дисфункції і септичного шоку як перших клінічних проявів у 162 хворих на розлитий післяопераційний перитоніт та 125 хворих з інтраабдомінальними абсцесами. Застосування систем оцінки стану хворого – модифікованої шкали АРАСНЕ II і Маннгаймського індексу перитоніту, оптимальних методів діагностики, хірургічної тактики та інтенсивної терапії дозволило зменшити частоту релапаротомій від 3,6 % до 1,2 %. Летальність за останні 10 років знизилася від 45,6 % до 16,8 %.

Ключові слова: поліорганна недостатність/дисфункція, післяопераційний перитоніт, релапаротомія.

Поряд з удосконаленням діагностики і лікування критичних станів зростає летальність хворих від вторинних ускладнень. У більшості тяжких хворих розвивається поліорганна недостатність (ПОН) або поліорганна дисфункція [1-4]. Незва-

жаючи на досягнення анестезіології та інтенсивної терапії, впровадження нових методів діагностики і лікування, успіхи в операційній техніці, структура ускладнень після операцій на органах черевної порожнини та їх наслідки суттєво не