УДК 615.357:612.460

ФАРМАКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ МЕХАНІЗМУ ДІЇ ДОФАМІНУ НА КРОВОТІК І ТРАНСПОРТ НАТРІЮ В НИРКОВИХ КАНАЛЬЦЯХ ЩУРІВ

О.Б. Кузьмін, *д–р мед. наук, професор;*
Р.А. Храмова*, *канд. мед. наук, доцент;*
І.Ю. Висоцький*, *д–р мед. наук, професор*
Оренбурзька державна медична академія, м. Оренбург, Росія;
**Медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми*

Стаття присвячена вивченню впливу дофаміну на кровотік і виведення натрію нирками щурів, а також ролі ниркових кінінів, простагландинів і дофамінових рецепторів у формуванні його судинного і канальцевого ефектів.

Авторами зроблений висновок про те, що внутрішньонирковий гемодинамічний зсув і гальмування транспорту натрію в нефроні, які виникають при дії дофаміну, зумовлені збудженням ниркових постсинаптичних дофамінорецепторів і не пов'язані з активацією в нирках калікреїн–кінінової системи або збільшенням синтезу простагландинів.

Ключові слова*: нирки, кініни, простагландини, дофамінові рецептори.*

Статья посвящена изучению влияния дофамина на кровоток и выведение натрия почками крыс, а также роли почечных кининов, простагландинов и дофаминовых рецепторов в формировании его сосудистого и канальцевого эффектов.

Авторами сделан вывод о том, что внутрипочечный гемодинамический сдвиг и торможение транспорта натрия в нефроне, возникающие при действии дофамина, обусловлены возбуждением почечных постсинаптических дофаминорецепторов и не связаны с активацией в почках калликреин–кининовой системы или увеличением синтеза простагландинов.

Ключевые слова*: почки, кинины, простагландины, дофаминовые рецепторы.*

ВСТУП

Дофамін є природним катехоламіном, який як метаболітний попередник бере участь у синтезі норадреналіну і адреналіну. У найбільшій кількості він міститься в ЦНС переважно у структурах лімбічної системи та гіпоталамуса. Значний вміст дофаміну виявлений у нирках лабораторних тварин. Радіологічні дослідження з використанням ЗН–дофаміну і ЗР–галоперидолу підтвердили існування в клітинах кори, зовнішнього та внутрішнього мозкових шарів нирок щурів і морських свинок специфічних дофамінових рецепторів, кількість яких постійно зростає з поверхні всередину нирки [3, 10].

У людей і різних лабораторних тварин екзогенний дофамін викликає однакову реакцію нирок у вигляді дилатації судин і гальмування реабсорбції натрію, які супроводжуються вираженою натрійуретичною реакцією [4, 5, 12].

Механізм цього ефекту і фізіологічне значення дофаміну в нирці залишаються не з'ясованими, хоча встановлено, що одним із пускових моментів є збудження дофамінорецепторів гладкої мускулатури судинної стінки. Згідно з даними ряду авторів внутрішньонирковий гемодинамічний зсув і натрійуретична реакція при дії нейромедіатора супроводжуються збільшенням виділення із сечею калікреїну [6]. Виявлено також, що дофамін здатний стимулювати синтез ПГЕ в клітинах ниркової капілярної зони [8]. Цілком можливо, що калікреїн–кінінова система і простагландини могли втягуватися в механізм, який реалізує ефект дофаміну на функціональний стан нирок.

У даній роботі досліджена роль цих гуморальних факторів у механізмі дії дофаміну на кровотік і транспорт натрію в нирках щурів.

МЕТА РОБОТИ

Провести фармакологічний аналіз ролі ниркових дофамінорецепторів, калікреїн–кінінової системи і простагландинів у механізмі внутрішньониркового зсуву і натрійуретичної реакції, що виникають при введенні дофаміну.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Досліди виконані на білих безпородних щурах–самцях масою 150–250 г, наркотизованих тіопенталом натрію (50 мг/кг, інтраперитонеально). Після розвитку наркозу щурів фіксували на спині на операційному столі. Середнім і боковим розрізами відкривали черевну порожнину. Ліву нирку поміщали в плексигласову чашечку і для фіксації заливали розчином агар–агару, підігрітим до 40^0 С. У задню порожнисту вену і сечовий міхур вводили поліхлорвінілові катетери для інфузії сольового розчину і збору сечі.

Для вивчення динаміки кровотоку в середню зону крокового і зовнішнього мозкового шару лівої нирки вводили ніхромові біполярні електроди, запаяні в скляну оболонку. Реєстрація кровотоку здійснювалася методом імпедансної реоплетизмографії через реограф РГ4–01 з подальшимим записом реограм на 4–канальному електроенцефалографі ЄЄГП–4–02. Одночасно за допомогою платинових електродів відкритого типу у зазначених зонах ниркової тканини досліджували динаміку напруження кисню (PO_2), реєструючи полярограми на полярографах ППТ–1. Як електрод порівняння використовували срібний електрод. Локалізацію ніхромового і платинового електродів у тканині нирки перевіряли візуально після закінчення експерименту.

Для підтримки необхідного рівня діурезу внутрішньовенно вводили з постійною швидкістю 50 мкл/хв 0,9% розчин хлориду натрію, який містив 0,2% інуліну. Із сечового міхура протягом 1,5 год збирали 10–хвилинні порції сечі; із хвостової вени періодично забирали проби крові. В отриманих зразках за допомогою антронового мікрометра визначали концентрацію інуліну; вміст натрію і калію досліджували на фотометрі ПАЖ–1. Величину показників натрійуретичної функції нирок розраховували за загальноприйнятими формулами.

Функція нирок щурів вивчалась у контрольних дослідах з дофаміном, а також при комбінації його з галоперидолом, контрикалом та індометацином. Досліджувані препарати вводили однократно підшкірно: дофамін і галоперидол у дозах 1 мг/кг, контрикал – 3000 АТрЕ/кг. Індометацин щурі отримували через рот протягом 5 днів у добовій дозі 3 мг/кг.

Статистична обробка даних проведена з використанням стандартних методів варіаційної статистики. Достовірність результатів оцінювалася за допомогою критерію t Стьюдента (p) і критерію Т Вілкоксона для парних даних ($p_т$).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ін’єкція щурам дофаміну супроводжувалася характерним зсувом у кровопостачанні нирок та їх функціональному стані (табл. 1 і 2). У дозі, яка помітно не впливала на величину системного артеріального тиску, дофамін спричиняв значне збільшення кровопостачання кори і зовнішнього мозкового шару. Найбільший судинорозширювальний ефект і відповідний йому приріст кровотоку був відмічений у зовнішньому шарі мозкової речовини. Напруження кисню в досліджуваних структурах нирки суттєво не змінювалося, що, очевидно, пояснюється значним перевищенням цього показника у зазначених зонах ниркової тканини. Гемодинамічний зсув, що виникає в нирках при дії дофаміну, супроводжується вираженою діуретичною і натрійуретичною реакціями. Кліренс інуліну, що відображає об’єм клубочкової фільтрації, також значно зріс порівняно з початковим. Суттєво зросла і величина фракції натрію, яка екскретується, що безпосередньо свідчить про пригнічення реабсорбції цього іона в ниркових канальцях. Таким чином, дофамін у контрольних дослідах викликав у щурів специфічну реакцію у вигляді

дилатації судин кіркового і зовнішнього мозкового шарів та гальмування транспорту натрію в нефроні, описану раніше рядом авторів [2, 9, 11].

Таблиця 1 – Вплив галоперидолу, контрикалу та індометацину на кровотік і напруження кисню (PO_2) в кірковому та зовнішньому мозковому шарах нирок щурів при дії дофаміну

Умови експерименту	Зміни величини показників (% до контрольного рівня, ΔM±m)			
	Кірковий шар		Зовнішній мозковий шар	
	кровотік	PO_2	кровотік	PO_2
Дофамін	+48,4±8,36***, n=11	–2,9±2,20, n=9	+57,1±10,4***, n=10	–6,6±3,79, n=10
Галоперидол + + дофамін	+8,2±4,78, n=10	–4,3±2,87, n=10	+4,0±5,00, n=10	–0,7±6,37, n=10
Контрикал + + дофамін	+38,7±9,88**, n=10	+4,4±3,58, n=10	+54,3±22,0*, n=10	–3,7±6,53, n=10
Індометацин + + дофамін	+34,8±5,15***, n=10	–10,9±5,50, n=10	+45,5±15,0, n=10	–3,0±6,83, n=10
** – $p<0,05$; ** – $p<0,02$; *** – $p<0,001$*				

Таблиця 2 – Вплив галоперидолу, контрикалу та індометацину на основні показники натрійуретичної функції нирок щурів при дії дофаміну (M±m)

Умови досліду	n	Діурез (мкл/хв на 100 г)		Клубочкова фільтрація (мкл/хв на 100 г)		Екскреція натрію (мкекв/хв на 100 г)		Екскретована фракція натрію (%)	
		контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Дофамін	10	2,4±0,24	7,8±1,69*	250±18	341±24*	0,37±0,06	1,30±0,27*	1,09±0,11	2,62±0,39*
Галоперидол + дофамін	10	2,6±0,30	3,2±0,3	222±29	201±27	0,49±0,06	0,45±0,08	1,6±0,10	1,66±0,17
Контрикал + дофамін	9	2,8±0,44	10,0±1,69*	235±26	372±52*	0,33±0,04	1,46±0,35*	1,01±0,16	2,93±0,69*
Індометацин + дофамін	10	2,3±0,26	7,9±0,54*	263±28	394±37*	0,30±0,04	1,08±0,12*	0,86±0,13	2,10±0,24*
** – $p_m<0,01$*									

Першою ланкою механізму дії дофаміну є стимуляція тканинних рецепторів, серед яких найбільше розповсюджені постсинаптичні дофамінорецептори. Додатково у цей механізм можуть включатися і рецептори, чутливі до норадреналіну, оскільки відомо, що у високих концентраціях дофамін може збуджувати рецептори цього типу [1, 5, 12]. Для того щоб отримати уявлення про роль дофамінових рецепторів у механізмі судинного і канальцевого ефектів дофаміну у нирці щура, ми досліджували реакцію нирок на медіатор на фоні попередньої блокади цих рецепторів за допомогою галоперидолу. Результати експериментів показали, що введення тваринам цього препарату попереджувало збільшення кровотоку в корі і зовнішньому мозковому шарі, характерне для дії дофаміну. Об’єм клубочкової фільтрації у цих умовах мав тенденцію до деякого зниження, а величина фракції натрію, що екскретується, суттєво не змінювалася. Таким чином, дофаміноблокатор галоперидол перешкоджав як діуретичній, так і натрійуретичній реакціям, що виникають під впливом дофаміну і практично повністю усував реакцію нирок на нейромедіатор. Виходячи з цього, можна зробити висновок про те, що розширення ниркових судин і пригнічення дофаміном реабсорбції натрію в ниркових канальцях щурів є наслідком збудження постсинаптичних дофамінорецепторів ниркової тканини.

Функціональні зміни під дією дофаміну обумовлені збудженням дофамінових рецепторів різної локалізації. Згідно з літературними даними судинорозширювальний ефект нейромедіатора значною мірою зумовлений стимуляцією специфічних рецепторів гладенької мускулатури ниркових судин [7, 11]. У механізмі канальцевого ефекту дофаміну ймовірно приберуть участь ще й дофамінові рецептори,

локалізовані безпосередньо у клітинах прямого відділу проксимальних канальців. Збудження дофамінових рецепторів нирок супроводжується також підвищенням активності ниркової калікреїн–кінінової системи, яка може брати участь як судинорозширювальний фактор у кірковому і мозковому шарах нирки, що гальмує транспорт натрію у нефроні [6].

Для з'ясування ролі калікреїн–кінінової системи у дії дофаміну на функцію нирок нами досліджувались їх реакція при дії дофаміну після попереднього пригнічення активності калікреїн–кінінової системи контрикалом, інгібітором калікреїну та інших тканинних і плазмових кініноутворюючих ферментів.

Введення щурам цього препарату дещо зменшувало судинорозширювальну дію дофаміну у корі, хоча зміни були недостовірними. Приріст кровопостачання у зовнішній зоні мозкового шару в даних умовах практично відповідав контролю. Виявилося також, що гальмування активності калікреїн–кінінової системи не послаблює, а, навпаки, потенціює натрійуретичну дію нейромедіатора, яка зумовлена значним пригніченням реабсорбції натрію в ниркових канальцях. Про це свідчить значний приріст фракції натрію, яка екскретується, при одночасному введенні препаратів. Із отриманих результатів можна зробити висновок, що калікреїн–кінінова система нирок не бере участі в механізмі судинорозширювального і канальцевого ефектів дофаміну. Потенціювання контрикалом пригнічувальної дії нейромедіатора на транспорт натрію у нефроні угоджується з уявленням про ендогенні ниркові кініни як фактори, що сприяють затримці натрію в організмі [6]. Тому активацію калікреїн–кінінової системи нирок під впливом дофаміну слід, очевидно, розглядати як компенсаторну реакцію, що модулює натрійуретичний ефект цього засобу.

Виявлена у дофаміну здатність стимулювати синтез ПГЕ у клітинах капілярної зони [8] свідчить про можливість прямої участі простагландинів у дофамінергічному контролі ниркової гемодинаміки і канальцевої реабсорбції натрію. Така можливість може бути ймовірною, якщо врахувати, що $ПГЕ_2$ функціонують у нирках не тільки як вазодилататори, але й як інгібітори транспорту натрію у висхідному товстому відділі петлі Генле і збиральних трубочках, локалізованих у кірковому і зовнішньому мозковому шарах нирки.

Для аналізу ролі ниркових простагландинів у механізмі дії дофаміну на функцію нирок ми використали блокатор циклооксигенази індометацин. Отримані результати свідчить про те, що попереднє введення цього інгібітора в дозі, яка значно пригнічує активність циклооксигенази в нирках, не перешкоджає судинорозширювальній дії дофаміну в корі і зовнішньому мозковому шарі. У зазначених зонах ниркової тканини був відмічений суттєвий, хоча і дещо менш виражений приріст кровотоку порівняно з висхідним рівнем. Різниця у збільшенні кровопостачання цих зон при дії дофаміну і при поєднанні його з індометацином була недостовірною. Крім того, попереднє пригнічення синтезу простагландинів не перешкоджає і пригнічувальному впливу нейромедіатора на реабсорбцію натрію у ниркових канальцях. На фоні дії індометацину дофамін, як і в контролі, викликав значне збільшення екскреторної фракції цього іона.

Це дозволяє зробити висновок, що простагландини, які утворюються в нирках, не відіграють суттєвої ролі у дофамінергічному механізмі, причетному до розширення ниркових судин і гальмування канальцевого транспорту натрію.

ВИСНОВКИ

Отримані нами результати дозволяють вважати, що внутрішньонирковий гемодинамічний зсув і пригнічення реабсорбції натрію у нефроні при дії дофаміну зумовлені збудженням постсинаптичних дофамінових рецепторів ниркової тканини, але не пов'язані з активацією у нирках калікреїн–кінінової системи або збільшення синтезу простагландинів. Перспективним, на наш погляд, є подальше, більш глибоке вивчення механізму дії дофаміну.

SUMMARY

PHARMACOLOGICAL ANALYSIS OF MECHANISM OF ACTION OF DOPAMINE ON THE BLOOD FLOW AND TRANSPORTATION OF SODIUM IN THE RENAL TUBULES OF RATS

O.B. Kuzmin, R.A. Chramova, I.Yu. Vysotsky
Orenburg State Medical Academy, Orenburg, Russia;
Medical Institute of Sumy State University, Sumy

In anesthetized rats, dopamine (1 mg/kg) increased the blood flow in adrenal and external medullary layers of kidneys with accompanying obvious sodium–uretic response doe to inhibition of sodium reabsorption, PO_2, not changing, at that. Haloperidol (1 mg/kg) prevented the hemodynamic shift and its depressing effect on the sodium transport in the kidney channels. The inhibiting agent for kallikrein–kinin system contrical and inhibiting agent for prostaglandinsynthetase indometacin did not alter the kidney response to the neurotransmitter under study. The intrarenal hemodynamic shift and inhibition of sodium transport induced with dopamine seem to be due to stimulation of the renal postsynaptic dopamine receptors and unrelated to activation of the renal kallikrein–kinin system or augmentation of prostaglandins synthesis.

Key words: *kidneys, kinins, prostaglandins, dopamine receptors.*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кузьмін О.Б. Вплив β_1–адреноблокатора талінололу на транспорт натрію в ниркових канальцях щурів / Кузьмін О.Б., Храмова Р.А., Висоцький І.Ю. // Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2008. – Т. 1, №2. – С.22–26.
2. Храмова Р.А. Влияние анаприлина на кровоток и реабсорбцию натрия в почках / Храмова Р.А., Грибова И. В., Галян О.С. // Матеріали Міжнародної науково–практичної конференції молодих вчених, лікарів та викладачів «Актуальні питання теоретичної медицини». – Суми, 2009. – С.214.
3. Adam W.R. Dopamine receptors in the kidney/ W.R. Adam, J. Danks. – Clin. Exp. Pharmacol. and Physiol. – 1980. – Vol.7, №1. - P.60–61.
4. Bello–Reuss E. Dopamine decreased fluid reabsorption in straight portions of rabbit proximal tubule / Bello–Reuss E., Higashi Y., Kaneda Y. // Amer. J. Physiol. – 1982. – Vol. 242 (Renal, fluid electrolyte physiol. 11). – P.634–640.
5. Goldberg L.I. Connection between endogenous dopamine, dopamine receptors and sodium excretion: evidence and hypotheses / Goldberg L.I., Weder A.B. // Rec. Adv. Clin. Pharmacol. – 1980. – V. 2, Edinburg etc. –P. 149–166.
6. Levinsky N.G. The renal kallikrein–kinin system / N.G. Levinsky // Circulat. Res. – 1979. – Vol.44, №4. – P.441–451.
7. The role of dopamine in the kidnay/ Schwarts J., Imbs J.L., Schmidt M., Rouot B.. – Adv. Dopamine Res. Proc. Satell. Symp. 8th Int. Congr. Pharmacol. Okayama, July, 1981, Oxford etc. – 1982. – P. 233–241.
8. Stokes J.B. Prostaglandins and the regulation of NaCl transport across renal epithelia / J.B. Stokes // Mineral and Electrolyte Metab. – 1981. – Vol.6, №1–2. – P.35–45.
9. Parekh N. Role of prostaglandins in renal medullary circulation: response to different vasoconstrictors / N. Parekh, A.P.Zou // Am. J. Physiol. – 1996. – V. 271, № 3. – P. 653–655.
10. Wang W.Z. Comparison of the effects of dopamine1– and dopamine2–receptor agonists on the cAMP generating system in canine coronary and renal arteries / Wang W.Z., Zhao R.R., Qin F.Z. // Methods Find Exp. Clin, Pharmacol. – 1994. – Vol.16, №10. – P.691–696.
11. Luippold G. Renal effects of exogenous dopamine: modulation by renal nerves and dopamine receptor antagonists / Luippold G., Osswald H., Mühlbauer B. // Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. – 1998. – Vol.358, №4. – P.445–451.
12. Olsen N.V. Effects of dopamine on renal haemodynamics tubular function and sodium excretion in normal humans / Dan. Med. Bull. – 1998. – Vol.45, №3. – P.282–297.

Надійшла до редакції 30 травня 2010 р.