

Нефропротекторные свойства диакамфа на модели аллоксанового сахарного диабета у мышей

В.С.Штрыголь, О.В.Товчига, С.И.Мерзликин

Национальный фармацевтический университет
Харьков, Украина

У мышей с аллоксановой моделью сахарного диабета производное бензимидазола диакамф (25 мг/кг) значительно снижает летальность и проявляет гипогликемическое действие. Диакамф оказывает нефропротекторный эффект по критериям нормализации диуреза, выведения водной нагрузки, глюкозурии, протеинурии, клубочковой фильтрации и канальцевой реабсорбции, содержания креатинина в крови. По сахароснижающему и нефропротекторному действию диакамф превосходит эналаприлат в дозе 2,5 мг/кг. У интактных мышей диакамф не влияет на выделительную функцию почек. При этиленгликолевой интоксикации его нефропротекторный эффект отсутствует.

Ключевые слова: сахарный диабет, экспериментальная модель, почки, диакамф.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) — одно из наиболее распространенных заболеваний, к числу опасных осложнений которого относится нефропатия [2]. Поражение почек — главная причина инвалидизации пациентов, страдающих СД и одна из лидирующих причин смертности. В Украине нефропатия регистрируется у 21,6% больных СД 1 типа и у 5,9% больных СД 2 типа [3]. Поиск новых подходов коррекции состояния почек при СД представляет собой актуальную задачу. Одними из признанных нефропротекторов являются ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ) [2]. Нефротропные свойства нового противодиабетического средства диакамфа, производного бензимидазола [4, 6], исследованы недостаточно.

Целью исследования явилась оценка влияния диакамфа на функциональное состояние почек в интактном организме и у животных с моделью СД.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на беспородных мышках массой 15-20 г с соблюдением директивы Совета ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей.

В первой серии экспериментов исследовано влияние четырех-пятидневного введения диакамфа на выделительную функцию почек в дозе 25 мг/кг, оказывающей выраженное антигипергликемическое действие [4, 6]. В опытах со спонтанным мочеотделением животных после заключительного внутрижелудочного введения диакамфа в виде суспензии с твином-80 (из расчета 0,1 мл на 10 г массы тела) помещали на сутки в обменные клетки для сбора мочи. В нагрузочном тесте через 20-30 мин. после диакамфа в желудок вводили водопроводную воду (5% от массы тела) и собирали мочу в течение 2 ч; в контроле животные вместо диакамфа получали соответствующий объем воды.

Во второй серии опытов у мышей моделировали СД внутрибрюшинным введением 200 мг/кг аллоксана [8, 9]. Части животных через 30 мин. после инъекции аллоксана и далее ежедневно вводили в желудок диакамф (25 мг/кг) и внутрибрюшинно изотонический раствор хлорида натрия. Другая часть ежедневно получала внутрибрюшинно ИАПФ эналаприлат (ЭНАП, KRKA, Словения) в диуретической дозе 2,5 мг/кг [7] и воду в желудок для выравнивания условий эксперимента. Животным групп контрольной патологии и интактного контроля ежедневно вводили в желудок воду, внутрибрюшинно — изотонический раствор хлорида натрия. Регистрировали выжи-

ваемость в течение 3 недель и функциональное состояние почек в условиях водного диуреза в конце этого срока (в ряде случаев двукратно у одних и тех же мышей с суточным интервалом). После сбора последней двухчасовой порции мочи мышей декапитировали под наркозом (этаминал-натрий, 40 мг/кг). Определяли массовый коэффициент почек.

В плазме крови определяли глюкозу глюкозооксидазным методом, креатинин — по реакции Яффе, мочевины — по реакции с диацетилмонооксидом; белок в моче — сульфосалициловым методом, натрий и калий — фотометрией пламени. Использовали фотоэлектроколориметр КФК-2МП и пламенный фотометр ПАЖ-3. Рассчитывали скорость клубочковой фильтрации (СКФ) по эндогенному креатинину и канальцевую реабсорбцию [1].

В третьей серии опытов для проверки специфичности нефропротекторных свойств диакамфа, выявленных на модели СД, исследовали его влияние на выживаемость мышей с моделью нефротоксической острой почечной недостаточности, вызванной этиленгликолем (10 мл/кг подкожно) [5].

Результаты обрабатывали статистически по критериям *t* Стьюдента, *W* Уайта и *угловому* преобразованию *φ* Фишера. Для оценки связи между отдельными показателями использовали корреляционный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У интактных мышей диакамф не вызывал существенных изменений выделительной фун-

кции почек ни в нагрузочном тесте, ни в условиях спонтанного мочеотделения (табл. 1). Обращает на себя внимание лишь двукратное уменьшение экскреции белка в условиях водного диуреза.

Аллоксановая модель СД сопровождалась высокой летальностью: из 16 мышей группы контрольной патологии выжило только 3 (18,8%). Диакамф увеличивал выживаемость (7 из 12, или 58,3%, $p < 0,05$), несколько уступал ему эналаприлат (6 из 12, или 50%, $p < 0,05$). Тяжести течения модельного СД соответствовала динамика массы тела: в группе контрольной патологии она снизилась за 3 недели в среднем на 16,3%, под влиянием диакамфа — только на 2,6%, на фоне эналаприлата — на 6,3%.

В сравнении с интактным контролем уровень глюкозы в крови мышей с моделью СД возрос в среднем в 3,8 раза, глюкозурия — более чем вдвое (табл. 2). Отмечалась типичная для СД тенденция к полиурии, обусловленной резким угнетением реабсорбции (в среднем на 8,7%) при более чем двукратном снижении СКФ. В торможение канальцевого транспорта может вносить вклад как осмотический механизм за счет глюкозурии, так и нарушение функций канальцевого эпителия. Снижение СКФ указывает на значительное повреждение почечных клубочков. Креатинин крови повысился в среднем в 3,5 раза, меньше возрос уровень мочевины. Протеинурия увеличилась на 67% ($p < 0,05$), причем она коррелировала с уровнем глюкозы в крови ($r = 0,70$) и особенно с глюкозурией ($r = 0,73$, $p < 0,05$). Масса почек возросла в 1,14 раза. Таким образом, аллоксановая модель СД характеризуется развитием нефропа-

ТАБЛИЦА 1

Влияние диакамфа (25 мг/кг) на показатели выделительной функции почек у интактных мышей, $M \pm m$ ($n = 6$)

Показатели	Контроль	Диакамф
Тест с водной нагрузкой (5% от массы тела)		
Диурез, мл/10 г за 2 часа	0,55±0,03	0,52±0,07
Выведение водной нагрузки, %	110±6,2	108±13,3
Экскреция креатинина, мкмоль/10 г за 2 часа	0,58±0,15	0,26±0,07
Экскреция белка, мг/10 г за 2 часа	0,13±0,02	0,06±0,005 *
Спонтанное мочеотделение		
Диурез, мл/10 г за сутки	0,38±0,09	0,46±0,13
Экскреция креатинина, мкмоль/10 г за сутки	1,34±0,26	1,41±0,36
Экскреция белка, мг/10 г за сутки	0,12±0,03	0,16±0,04
Экскреция натрия, мкмоль/10 г за сутки	36,8±11,8	52,0±12,5
Экскреция калия, мкмоль/10 г за сутки	20,3±7,3	36,0±4,6
Натрий-калиевый коэффициент	2,01±0,31	1,34±0,23

Примечание: * — достоверность различий с контролем ($p < 0,05$).

ТАБЛИЦА 2

Влияние диакамфа и эналаприлата на уровень глюкозы в крови и функциональное состояние почек в условиях нагрузочного теста у мышей с моделью аллоксанового сахарного диабета, $M \pm m$ (n=6-13)

Показатели	Интактный контроль	Аллоксановый диабет (модельная патология)	Диабет + диакамф	Диабет + эналаприлат
Глюкоза крови, ммоль/л	3,67±0,64	14,11±1,92 *	5,20±1,83 #	7,44±1,54 **
Диурез, мл/10 г за 2 часа	0,59±0,036	0,69±0,038	0,49±0,082 #	0,45±0,077 #
Выведение водной нагрузки, %	117±7,09	137±7,63	96,5±16,8 #	89,8±15,4 #
Глюкоза мочи, ммоль/л	0,47±0,107	1,31±0,66	0,77±0,24	2,09±1,04
Экскреция глюкозы, мкмоль/10 г	0,28±0,069	0,73±0,282	0,28±0,064	0,49±0,18
Белок мочи, г/л	0,128±0,029	0,193±0,042	0,149±0,04	0,196±0,072
Экскреция белка, мг/10 г	0,069±0,014	0,115±0,014 *	0,079±0,017	0,094±0,024
Креатинин крови, мкмоль/л	31,6±3,89	110,9±16,1 *	46,2±16,8 #	57,3±8,16 **
Мочевина крови, ммоль/л	5,43±0,41	6,37±1,19	6,31±0,62	7,29±1,51
СКФ, мл/мин. на 10 г	0,112±0,008	0,047±0,003 *	0,093±0,008#	0,061±0,011**
Реабсорбция воды, %	95,34±0,28	87,51±1,67 *	95,41±0,24 #	91,85±1,36**^
Массовый коэффициент почек, %	1,34±0,04	1,53±0,07 *	1,44±0,08	1,47±0,09

Примечания: достоверность различий ($p < 0,05$): * — с показателем интактного контроля, # — с показателем группы модельной патологии, ^ — с показателем животных, получавших диакамф.

тии и хронической почечной недостаточности.

Диакамф значительно уменьшал гипергликемию, не достигавшую статистически значимых различий с интактным контролем, уменьшал диурез и выведение нагрузки, снижал до уровня интактных мышей почечную экскрецию глюкозы и белка, предотвращал снижение СКФ и канальцевой реабсорбции, повышение уровня креатинина в крови (табл. 2). На фоне диакамфа отмечалась нормализация концентрационной функции почек: между диурезом и концентрацией креатинина в моче, как и между диурезом и глюкозой мочи, имела место почти одинаковая обратная связь (соответственно $r = -0,83$ и $r = -0,84$, $p < 0,05$). Протеинурия не коррелировала с уровнем глюкозы крови и мочи. Масса почек превышала контрольный показатель только в 1,07 раза.

Эналаприлат проявлял антигипергликемический эффект, выраженный слабее, чем у диакамфа (табл. 2). Гликемия у мышей, получавших ИАПФ, была почти вдвое ниже, чем в группе контрольной патологии, но в 2 раза выше, чем в интактном контроле ($p < 0,05$). Количество мочи и выведение водной нагрузки, как и в группе с диакамфом, были достоверно ниже, чем в группе контрольной патологии. Глюкозурия и протеинурия были выражены больше, чем у животных, получавших диакамф. СКФ, канальцевая реабсорбция и креатинин крови на фоне эналаприлата достоверно снижались относительно показателей контрольной патологии, но, в отличие от группы диакамфа, оставались достоверно выше показателей интактных мышей. Корреляции между отдельны-

ми показателями приближались к таковым на фоне диакамфа. Масса почек недостоверно (в 1,1 раза) превышала значение интактного контроля.

Таким образом, диакамф на модели аллоксанового СД проявляет нефропротекторный эффект: уменьшает протеинурию, предотвращает снижение СКФ и канальцевой реабсорбции, нормализует уровень креатинина в крови. Нефропротекторные свойства присущи и эналаприлату, который, однако, уступает диакамфу.

С целью проверки избирательности нефропротекторного действия диакамфа при первичном токсическом поражении почек проведена оценка выживаемости мышей с моделью этиленгликолевой острой почечной недостаточности. Диакамф в этих условиях не оказал защитного эффекта — как и в группе контрольной патологии, 100% животных погибли в течение первых суток. Следовательно, нефропротекторный эффект исследуемого производного бензидазола при СД достаточно специфичен.

ВЫВОДЫ

1. Диакамф значительно повышает выживаемость мышей с аллоксановым сахарным диабетом и проявляет у них нефропротекторный эффект.
2. По выраженности нефропротекторных свойств диакамф превосходит препарат сравнения эналаприлат.
3. В интактном организме диакамф практически не влияет на функциональное состояние почек как в нагрузочном тесте, так и в условиях спонтанного диуреза.

4. Нефропротекторний ефект діакамфа в умовах сахарного діабета достатньо специфічний, поскільки не проявляється на моделі острого токсического (етиленгліколевого) поразення почек.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена. — Барнаул, 1972. — 199 с.
2. Дедов И.И., Шестакова М.В. Диабетическая нефропатия. — М.: Универсум паблшинг, 2000. — 190 с.
3. Ефимов А., Тронько Н., Соколова Л. и др. Патогенез и лечение хронических осложнений сахарного диабета // Вісник фармакології та фармацевції. — 2007. — №11. — С.27-34.
4. Мерзликін С.І. Розробка і стандартизація оригінального антидіабетичного засобу на основі (±)-цис-3-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонової кислоти: Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук. — Харків, 2004. — 36 с.
5. Товчига О.В., Штриголь С.Ю., Степанова С.І. Вплив екстракту яглиці звичайної на перебіг нефротоксичної ниркової недостатності в експерименті // Експериментальна і клінічна медицина. — 2007. — №1. — С. 33-38.
6. Черных В.Ф. Перспективы поиска новых гипогликемических средств среди производных дикарбоновых кислот и продуктов их циклизации: Автореф. дисс... д.м.н. — Москва, 1993. — 59 с.
7. Штриголь С.Ю., Шумакова В.А. Повышенное потребление натрия хлорида модулирует мочегонное действие эналаприлата у интактных крыс и на модели отечного синдрома // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2006. — Т.63, №3. — С. 32-34.
8. Baquer N.Z., Sinclair M., Kunjara S. et al. Regulation of glucose utilization and lipogenesis in adipose tissue of diabetic and fat fed animals: effect of insulin and manganese // J. Biosci. — 2003. — Vol. 28. — №2. — P. 215-221.
9. Davei G., Qingwang L., Zhiwei L. et al. Hypoglycemic effects and mechanisms of action of Cortex Ly-

cii Radicis on alloxan-induced diabetic mice // Yakugaku Zasshi. — 2007. — Vol. 127. — №10. — P. 1715-1721.

В.С.Штриголь, О.В.Товчига, С.І.Мерзликін. Нефропротекторні властивості діакамфу на моделі алоксанового цукрового діабету у мишей. Харків, Україна.

Ключові слова: цукровий діабет, експериментальна модель, нирки, діакамф.

У мишей з алоксановою моделлю цукрового діабету похідне бензімідазолу діакамф (25 мг/кг) значно знижує летальність і проявляє гіпоглікемічну дію. Діакамф чинить нефропротекторний ефект за критеріями нормалізації діурезу, виведення водного навантаження, глюкозурії, протеїнурії, клубочкової фільтрації і канальцевої реабсорбції, вмісту креатиніну в крові. За цукрознижувальною та нефропротекторною дією діакамф перевершує еналаприлат (2,5 мг/кг). У інтактних мишей діакамф не впливає на видільну функцію нирок. При етиленгліколевій інтоксикації його нефропротекторний ефект відсутній.

V.S.Shtrygol, O.V.Tovchiga, S.I.Merzlikin. The nephroprotective properties of diacamph in alloxan-induced diabetic mice. Kharkiv, Ukraine.

Key words: diabetes mellitus, experimental model, kidney, diacamph.

In alloxan-induced diabetic mice diacamph, the benzimidazole derivative, in a dose 25 mg/kg decreases the mortality and shows hypoglycemic effect. Diacamph demonstrates the nephroprotective effect by following indices normalization: diuresis, taking out of water load, glucosuraeia, proteinuraeia, glomerular filtration rate, tubular reabsorption, blood creatinine level. Diacamph surpasses the enalaprilate in dose of 2,5 mg/kg by hypoglycemic and nephroprotective action. In intact mice diacamph don't influence on kidney excretory function. In ethylenglycol intoxication nephroprotective effect of diacamph is absent.

Надійшла до редакції 20.12.2008 р.