

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.83>

ОЦЕНКА ПРИМЕНЕНИЯ ВЕРАПАМИЛА НА ФУНКЦИЮ ПОЧЕК ПОСЛЕ ИШЕМИИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

Научная статья

Вечканова Н.А.¹, Белова Л.А.², Белова О.А.³, Сидоренко С.В.⁴*, Мальшева К.Э.⁵, Наговская Е.Р.⁶, Савкина А.В.⁷, Подолова А.Д.⁸, Кривцова К.А.⁹, Беспалова В.А.¹⁰, Купцов А.Г.¹¹, Минеев К.А.¹²

^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12} Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева, Саранск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (s-f-2024[at]mail.ru)

Аннотация

В данном исследовании мы оценили применение верапамила на сохранение функции почек при ишемии в эксперименте. Результаты показывают, что верапамил не уменьшает последствия ишемического повреждения почек после тепловой ишемии. Некоторая нефропротекция наблюдалась при гипотермии почки во время ишемии. Превентивное введение верапамила также не усиливает защитный эффект гипотермии. В нашем исследовании применение верапамила не показало высокой эффективности в защите от ишемического повреждения почек, весьма очевидно, что необходим поиск фармакологических субстанций, способных ингибировать фосфолипазы и мембраносвязанные ферменты, что говорит о необходимости проведения дальнейших исследований в этой области.

Ключевые слова: почки, верапамил, ишемия.

EVALUATION OF VERAPAMIL ADMINISTRATION ON RENAL FUNCTION AFTER ISCHAEMIA UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS

Research article

Vechkanova N.A.¹, Belova L.A.², Belova O.A.³, Sidorenko S.V.⁴*, Malisheva K.E.⁵, Nagovskaya Y.R.⁶, Savkina A.V.⁷, Podolova A.D.⁸, Krivtsova K.A.⁹, Bepalova V.A.¹⁰, Kuptsov A.G.¹¹, Mineev K.A.¹²

^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12} National Research Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

* Corresponding author (s-f-2024[at]mail.ru)

Abstract

In this research, we evaluated the use of verapamil on the preservation of renal function during ischaemia in experiment. The results show that verapamil does not reduce the effects of ischaemic renal damage after thermal ischaemia. Some nephroprotection was observed when the kidney was hypothermic during ischaemia. Preventive administration of verapamil also did not enhance the protective effect of hypothermia. In our study, the use of verapamil did not show high efficacy in protecting against ischaemic kidney injury, it is very obvious that there is a necessity to search for pharmacological substances capable of inhibiting phospholipases and membrane-bound enzymes, which indicates the need for further studies in this area.

Keywords: kidneys, verapamil, ischaemia.

Введение

Ишемическая почечная дисфункция является серьезной проблемой, хотя было проделано много работы, тем не менее относительно небольшого прогресса удалось достичь в отношении механизмов и факторов, поддерживающих функциональную активность почек в условиях ишемии. Одним из методов профилактики ишемического повреждения клеток является превентивное введение фармакологических субстанций и/или лекарственных препаратов, с последующим изучением клеточного ответа на ишемию по различным параметрам. Существует гипотеза, что антагонисты кальция способны защищать почки в условиях ишемии, блокируя приток клеточного кальция и подавляя активацию мембранных и микросомальных фосфолипаз, а именно верапамил способен нивелировать негативные последствия ишемии [1], [2], [5], поэтому мы и решили проверить данную гипотезу. Цель – оценить применение верапамила, на сохранение функции почек при ишемии в эксперименте.

Методы и принципы исследования

Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных [3], [4]. Эксперимент проводился на 28 животных (нелинейные белые крысы обоего пола массой 290–325 г.). Все животные находились в стандартных условиях вивария. Всем животным был предоставлен свободный доступ к стандартному лабораторному корму и воде. Животным выполнен (наркоз), включающее интраперитонеальное введение (и/п) препаратов: «Ксилазин» (0,5 мл/кг массы тела) + «Золетил 100» (8мг/кг массы тела). Выполнялась срединная лапаротомия. Выполнялась правосторонняя нефрэктомия. Левая почка была осторожно выделена и оставлена прикрепленной только собственной сосудистой ножкой. Животные были разделены на 4 группы: Группа 1 состояла из 7 крыс, подвергнутых тепловой почечной ишемии (левую почечную артерию пережимали сосудистым зажимом в течение 60 минут). Группа 2 состояла из 7 крыс, подвергнутых холодовой почечной ишемии в течение 60 минут, охлажденный физиологический раствор помещали вокруг почки во время окклюзии левой почечной артерии. Группа 3 состояла из 7 крыс. Вокруг инфраренального отдела аорты был наложен зажим, затем в левую почку селективно было введено 0,001 мг раствора верапамила + 0,9%-2 мл раствора NaCl. В конце инфузии левую почечную

артерию пережимали сосудистым зажимом на 60 минут. Группа 4 состояла из 7 крыс, у которых инфузия верапамила (0,001 мг раствора верапамила + 0,9%-2 мл раствора NaCl) в левую почечную артерию сопровождалась холодной почечной ишемией в течение 60 минут (охлажденный физиологический раствор помещали вокруг почки во время окклюзии левой почечной артерии.) После завершения операции послеоперационная рана ушивалась. На следующем этапе происходил забор образцов крови из хвостовой вены для определения азота мочевины по стандартной методике: за 24 часа до операции, и на 1-е, 3-е, 5-е и 7-е сутки после ишемии (анализатор BS-240). После вывода животных из эксперимента путем эвтаназии, проводилось гистопатологическое исследование почек (предварительно ткани фиксировали в 10% формальдегиде, обезвоживали в спиртовой серии, обрабатывали толуолом, готовили парафиновые срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике), делали микрофотографии, отцифровывали их и оценивали изменения. Для статистической обработки был применен t-критерия Стьюдента и критерий Манна-Уитни. Результаты представлены следующим образом, $M \pm m$ (M – среднее, m – ошибка среднего). Данные принимались за статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Статистически значимых различий в титрах азота мочевины в группах за 24 часа до операции не отмечалось. Пиковый подъем титров азота мочевины произошел на 1-й день после ишемии во всех группах животных, так в группе №1 уровень азота мочевины составил $1411,5 \pm 170,6$ мкмоль/л, что статистически значимо выше в 3,4 раза в сравнении с контрольным уровнем до операции, $p < 0,05$; в группе №2 уровень азота мочевины составил $850,4 \pm 102,6$ мкмоль/л, что статистически значимо выше в 1,9 раза в сравнении с контрольным уровнем до операции, $p < 0,05$; в группе №3 уровень азота мочевины составил $1547,4 \pm 255,6$ мкмоль/л, что статистически значимо выше в 4,7 раза в сравнении с контрольным уровнем до операции, $p < 0,05$; в группе №4 уровень азота мочевины составил $833,4 \pm 119,5$ мкмоль/л, что статистически значимо выше в 2,7 раза в сравнении с контрольным уровнем до операции, $p < 0,05$. Однако увеличение титров азота мочевины было значительно меньше в группах 2 и 4 ($p < 0,05$). На 3-й день после ишемии титры азота мочевины существенно снизились, приблизившись к исходным значениям в группах №1 и №2 ($531,3 \pm 31,4$ и $513,8 \pm 31,4$ мкмоль/л, соответственно), но оставался несколько повышенным у крыс, получавших верапамил (группы №3 и №4, $735,5 \pm 153,9$ и $598,2 \pm 188,2$ мкмоль/л, соответственно), ($p < 0,05$). На 7-е сутки титры азота мочевины вернулись к исходному уровню в группах №1 и №2 ($475,8 \pm 32,4$ и $598,8 \pm 33,8$ мкмоль/л, соответственно), но оставались значительно повышенными у крыс, получавших верапамил (группы №3 и №4, $632,7 \pm 69,6$ и $820,8 \pm 85,5$ мкмоль/л, соответственно), ($p < 0,05$), что позволяет предположить, что верапамил мог замедлить восстановление после ишемического повреждения почек. У крыс, в группах №1 и №3, были характерные изменения проксимального извитого канальца: подавляющее большинство участков щеточной каемки слились вместе, образуя непрерывную единую массу, напротив, у крыс, подвергнутых холодной ишемии, наблюдалось практически полное сохранение физиологичной структуры проксимального извитого канальца. В настоящем исследовании мы оценивали превентивное введение верапамила – блокатора кальциевых каналов, на сохранение функций почек после 60 минутной почечной ишемии. Результаты показывают, что верапамил не уменьшает последствия ишемического повреждения почек после тепловой ишемии. Некоторая нефропротекция наблюдалась при гипотермии почки во время ишемии. Превентивное введение верапамила, также не усиливает защитный эффект гипотермии, о чем свидетельствуют наши данные (верапамил не обеспечил сохранения структуры в проксимальном извитом канальце ни при тепловой, ни при холодной ишемии). Полученные серийные измерения титров азота мочевины для отражения функциональных изменений почек после ишемии (хотя фильтрационная функция почки может быть более точно определена измерениями сывороточного креатинина), изменения сывороточного креатинина у крыс невелики даже при наличии острой почечной недостаточности из-за небольшого размера этого вида животных. Поэтому можно предположить, что дифференциальные функциональные нарушения у крыс могут не быть обнаружены при последовательных определениях сывороточного креатинина.

Заключение

Титры азота мочевины достигли пика в 1-е сутки после ишемии и вернулись к исходному уровню на 3-й день как при тепловой, так и при холодной ишемии (группы №1 и №2). Таким образом, в этой модели почечной ишемии увеличение титров азота мочевины, по-видимому, достоверно отражает функциональное нарушение почек, что дополнительно подтверждается нашими морфологическими результатами. Предположительно, изменение целостности мембраны может быть основным фактором, вызывающим необратимое повреждение клеток во время ишемии [6], [7]. В настоящее время интенсивно изучаются два компонента, связанные с повреждением мембраны: повышенный приток кальция через клеточную мембрану и дегградацию фосфолипидов в мембране [8], [9], [10]. Эффект гипотермии и сохранение клеточной структурно-функциональной целостности, предположительно, были обусловлены ингибированием натрий-калиевой аденозинтрифосфатазы. В нашем исследовании применение верапамила не показало высокой эффективности в защите от ишемического повреждения почек, весьма очевидно, что необходим поиск фармакологических субстанций, способных ингибировать фосфолипазы и мембраносвязанные ферменты, что говорит о необходимости проведения дальнейших исследований в этой области.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Uwai Y. Effect of renal ischemia on urinary excretion of lithium in rats / Y. Uwai, T. Suzuki, R. Kondo [et al.] // *Biopharm Drug Dispos.* — 2018. — 39(9). — P. 448–451.
2. Annink K.V. Allopurinol: Old Drug, New Indication in Neonates? / K.V. Annink, A.R. Franz, J.B. Derks [et al.] // *Curr Pharm Des.* — 2017. — 23(38). — P. 5935–5942.
3. Quadri S. Prorenin receptor mediates inflammation in renal ischemia / S. Quadri, S. Culver, H.M. Siragy // *Clin Exp Pharmacol Physiol.* — 2018. — 45(2). — P. 133–139.
4. Appendix A to the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123) : guidelines for accomodation and care of animals (Article 5 of the Convention) // Council of Europe. — 2006. — URL: <https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list?module=treaty-detail&treatynum=123> (accessed: 27.08.24).
5. Gupta N. Does intra-operative verapamil administration in kidney transplantation improve graft function / N. Gupta, M. Caldas, N. Sharma [et al.] // *Clin Transplant.* — 2019. — 33(8). — P. 13635.
6. Kajbafzadeh A.M. Establishment of colonic dialysis model in uremic rats by right nephrectomy and left partial nephrectomy / A.M. Kajbafzadeh, N. Sabetkish, S. Sabetkish // *J Pediatr Urol.* — 2018. — 14(2). — P. 159.
7. Stamp L.K. Allopurinol and kidney function: An update / L.K. Stamp, P.T. Chapman, S.C. Palmer // *Joint Bone Spine.* — 2016. — 83(1). — P. 19–24.
8. Nadolnik L.I. Indicators of the antioxidant system and lipid peroxidation in the kidneys of rats when modeling ischemia and ischemia/reperfusion / L.I. Nadolnik, I.N. Katkovskaya, O.V. Titko [et al.] // *Oxygen and free radicals : collection materials of the Scientific and Practical Conference with international participation. Grodno. May 26–27, 2022.* — Grodno : Grodno State Medical University. — 2022. — P. 121–124.
9. Alfke K. Renal ischemia / K. Alfke, O. Jansen // *Radiologe.* — 2014. — 18. — P. 100–121.
10. Feig D.I. Allopurinol and Chronic Kidney Disease. Reply / D.I. Feig // *N Engl J Med.* — 2020. — 383(17). — P. 1692.