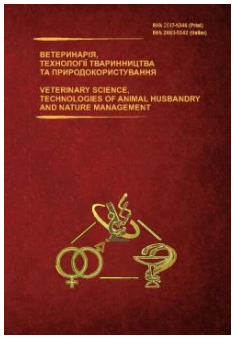

ВЕТЕРИНАРІЯ, ТЕХНОЛОГІЇ ТВАРИННИЦТВА ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ

VETERINARY SCIENCE, TECHNOLOGIES OF ANIMAL HUSBANDRY AND NATURE MANAGEMENT

ISSN 2617-8346 (Print)
ISSN 2663-5542 (Online)

doi: 10.31890/vttp.2020.06.06
http://ojs.hdzva.edu.ua/

UDC 636.02.09:599.323.4:615:616.63

Diuretic activity of methylxanthine derivative furoxane with one- and long-time use on the excretory function system of rats on the background of spontaneous diuresis

V. I. Kornienko, E. V. Ladohubets, I. V. Harkusha, O. V. Ponomarenko, E. A. Duchenko, M. V. Khomenko
Kharkiv State Zooveterinary Academy, Ukraine

Article info

Received 08.10.2020
Received in revised form 05.11.2020
Accepted 15.11.2020

Kharkiv State Zooveterinary Academy,
1, Academichna Str.,
Mala Danylivka, Dergachi district,Kharkiv region,
Ukraine, 62341
E-mail:
kornienko-valentina@ukr.net

Kornienko, V. I., Ladohubets, E. V., Harkusha, I. V., Ponomarenko, O. V., Duchenko, E. A., & Khomenko, M. V. (2020). Diuretic activity of methylxanthine derivative furoxane with one- and long-time use on the excretory function system of rats on the background of spontaneous diuresis. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 6, 36-39. DOI: 10.31890/vttp.2020.06.06.

The study of the effect of furoxane on renal activity under conditions of spontaneous diuresis was performed by the method of Berkhin. Hydrochlorothiazide was chosen as a reference drug. Furoxane and hydrochlorothiazide were administered intragastrically at a dose of 25 mg/kg for 7 days. The content of Na+ and K+in the urine was determined by flame photometry. The concentration of creatinine in the urine was studied by the method of Folin in the modification of Berkhin. The obtained results were calculated using the methods of variation statistics.

The analysis of the results shows that under one-time action of furoxane in rats the daily urination increased by 210.4 % (p <0.001), the concentration of Na+ in the urine of rats increased by 51.9 % (p <0.05), and the concentration of K+ in the urine tended to increase by 5.6 %.

Natriuresis increased 1.7 times (p <0.05), potassium - 1.23 times (p <0.05). Excretion of endogenous creatinine increased 1.49 times (p <0.05), indicating an improvement in glomerular ultrafiltration.

After administration of hydrochlorothiazide there was an increase in diuresis by 92.2 % (p <0.05), urinary Na+ concentration increased by 49% (p <0.05) and increased Na+excretion from urine by 23.3 % (p <0.05). K+ concentration in urine increased by 12.6 %, and K+excretion - by 27.5 % (p <0.05).

Thus, a single administration of furoxane at a dose of 25 mg/kg led to an increase in daily diuresis, Na+ and K+ diuresis, which indicates the potential diuretic and saluretic properties of the drug.

Long-term (7 days) furoxane administration contributed to the increase of urination in animals. After 3 days diuresis increased by 226,1 % (p <0.001), on 7th day – by 236,3 % (p <0.001).

Salures was increased: the excretion of Na+ after 3 days increased by 2.27 times (p <0,05), after 7 days - by 2,38 times (p <0,05), K+ - 1.83 times (p <0.05). The gradual increase in creatinine excretion in the dynamics of the use of furoxane, indicated a possible prolongation of the effect of furoxane.

Thus, furoxane, which by its chemical structure belongs to methylxanthine derivatives is a promising pharmacologically active substance for further study of its specific activity and safety in order to create a highly effective diuretic and implementation in clinical practice.

Key words: *furoxane, saluretic action, spontaneous diuresis, hydrochlorothiazide, water-salt exchange.*

Диуретическая активность производного метилксантина фуроксана при однократном и длительном применении на функцию выделительной системы у крыс на фоне спонтанного диуреза

В. И. Корниенко, Е. В. Ладогубец, И. В. Гаркуша, О. В. Пономаренко, Е. А. Дученко, М. В. Хоменко
Харьковская государственная зооветеринарная академия, Украина

Изучение влияния фуроксана на деятельность почек в условиях спонтанного диуреза проводили по методу Берхина. В качестве препарата сравнения был выбран гидрохлортиазид. Фуроксан и гидрохлортиазид вводили внутрижелудочно в дозе 25 мг/кг в течение 7 дней. Содержание натрия, калия в моче определяли методом пламенной фотометрии Концентрацию креатинина в моче исследовали методом Фолина в модификации Берхина. Полученные результаты вычисляли с использованием методов вариационной статистики.

Анализ результатов показывает, что при однократном введении фуроксана суточный диурез у крыс увеличился на 210,4 % (p<0,001), концентрация Na^+ в моче крыс увеличилась на 51,9 % (p<0,05), а концентрация K^+ в моче имела тенденцию к росту на 5,6 %.

Натрийурез увеличился в 1,7 раза (p <0,05), калийурез - в 1,23 раза (p <0,05). Экскреция эндогенного креатинина увеличилась в 1,49 раза (p <0,05), что свидетельствует об улучшении клубочковой ультрафильтрации.

После введения гидрохлоротиазида наблюдали увеличение диуреза на 92,2 % (p <0,05), в моче повысилась концентрация Na^+ на 49 % (p <0,05) и увеличилась экскреция Na^+ с мочой на 23,3 % (p <0,05). Концентрация K^+ в моче увеличилась на 12,6 %, экскреция K^+ - на 27,5 % (p <0,05).

Таким образом, однократное введение фуроксана в дозе 25 мг/кг привело к увеличению суточного диуреза натрий и калийуреза, что свидетельствует о потенциальных диуретических и салуретических свойствах препарата.

Длительное применение (7 суток) фуроксана способствовало росту мочеиспускания у животных. Через 3 суток диурез увеличился на 226,1 % (p <0,001), а на 7 сутки вырос на 236,3 % (p <0,001). Увеличился салурез: экскреция Na^+ через 3 суток повысилась в 2,27 раза (p <0,05), через 7 суток - в 2,38 раза (p <0,05), K^+ - в 1, 83 раза (p <0,05).

Постепенное возрастание экскреции креатинина свидетельствует о возможном пролонгированном действии фуроксана.

Таким образом, фуроксан, который по своей химической структуре относится к производным метилксантина, является перспективным фармакологически активным веществом для дальнейшего изучения его специфической активности и безопасности с целью создания высокоэффективного диуретического средства и внедрение в клиническую практику.

Ключевые слова: *фуроксан, салуретическое действие, спонтанный диурез, гидрохлортиазид, водно-солевой обмен*

Діуретична активність похідного метилксантину фуроксану за одноразового та тривалого застосуванні на функцію видільної системи щурів на тлі спонтанного діурезу

В. І. Корнієнко, О. В. Ладогубець, І. В. Гаркуша, О. В. Пономаренко, К. А. Дученко, М. В. Хоменко
Харківська державна зооветеринарна академія, Україна

В статті наведені результати експериментальних досліджень щодо впливу фуроксану за тривалого застосування на функціональний стан нирок у щурів. Встановлено, що фуроксан володіє салуретичною дією, збільшує спонтанний діурез, концентрацію іонів натрію в сечі, може мати пролонговану дію

Ключові слова*: фуроксан, салуретична дія, спонтанний діурез, гідрохлортіазид, водно-сольовий обмін.*

Вступ

Актуальність теми. Важливою проблемою сучасної експериментальної фармакології є створення більш ефективних лікарських препаратів для фармакологічної корекції порушень водно-сольового обміну.

Процеси клубочкової фільтрації та канальцевої реабсорбції регулюються нервовою та ендокринною системами організму, які на сталому рівні підтримують осмолярність і об'єм позаклітинної рідини (Shtry`gol` et al., 2012; Lang, 2006; Brandes et al., 2007).

Водно-сольовий гомеостаз досягається балансом між споживанням води та електролітів, що регулюється шляхом екскреції сечі та поту (Gozhenko, & Zhigalina–Gricenyuk, 2012; Pogorelov et al., 2009; Yu et al., 2014).

Сечоутворення завершується у дистальному відділі і збірних трубочках нефрона, де транспортні процеси контролюються гормонами. Відбувається натрійзатримувальна дія мінералокортикоїда альдостерону і водозатримувальна активність антидіуретичного гормону – вазопресину (Belovol, & Knyaz`kova, 2009; Bogolepova, & Natochin, 2005; Karabaeva, 2006).

Важливим механізмом регуляції об'єму рідини в організмі та тонусу судин є ренін-ангіотензин-адреналова система **(**РААС) і симпато-адреналова система. Активація РААС відбувається за умов ензиматичного процесу, який розпочинається зі стимуляції викиду реніну. За зниження артеріального тиску (АТ) продукція реніну зростає, що призводить до підвищення АТ за рахунок вазоконстрикторного ефекту ангіотензину-II (Natochin, 2010; Robben, Knoers, & Deen, 2004).

Вазопресин посилює реабсорбцію води в нирках, викликає констрикцію артеріол, зниження частоти серцевих скорочень та зменшення серцевого викиду. Підвищення рівня осмолярності позаклітинної рідини приводить до посилення секреції вазопресину. Зниження осмолярності гальмує секрецію вазопресину, що призводить до зменшення реабсорбції води в ниркових канальцях та виділення великої кількості сечі (Fitzharris, & Baltz, 2009; Koeppen, 2009; Andersson, Soler, & Füllhase, 2011; Bhasin, & Velez, 2016).

Для нормалізації порушеного гомеостазу при збільшенні в організмі солей і води в клініці застосовують сечогінні засоби (Brater, 2000) . Нерідко сечогінні препарати викликають побічні реакції у вигляді гіпокаліємії та несприятливо впливають на обмін глюкози, ліпідів і пуринів, що в цілому ускладнюють стан хворих та обмежують їх застосування в клінічній практиці (Oehlke, Sprysch, Rickmann, & Roussa, 2006; Barja Fidalgo et al., 1997).

Усе це дає підставу для пошуку нових більш ефективних та безпечних фармакологічних речовин (Bolda Mariano et al., 2019; Bolda Mariano et al., 2020).

На етапі фармакологічного скринінгу для доклінічного вивчення відібрана синтезована сполука з робочою назвою фуроксан, діуретична активність якої перевищувала дію гідрохлортіазиду.

Мета роботи. Дослідити діуретичну активність фуроксану за тривалого застосування на стан видільної системи щурів на тлі спонтанного діурезу.

Матеріали і методи досліджень

Вивчення впливу фуроксану на діяльність нирок за умов спонтанного діурезу проведено за методом Є. Б. Берхіна (Berxin, 1977) на трьох групах щурів по 10 голів у кожній, масою 150-180 г. Відбір тварин проводили з урахуванням коливань добового діурезу (Jin et al., 2009; Stefanov, 2001). В якості препарату порівняння був обраний гідрохлортіазид. Фуроксан і гідрохлортіазид уводили одноразово внутрішньошлунково у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80, у дозі 25 мг/кг. Контрольна група щурів у такому ж об'ємі отримувала воду та твін-80. Після введення досліджуваних субстанцій білих щурів розміщали в індивідуальні обмінні клітки, пристосовані для реєстрації кількості випитої води та виділеної сечі, де вони перебували впродовж щоденного застосування фуроксану (7 діб) та його відміни (3 доби). Кожного дня в один і той же час реєстрували кількість води, що випита та спожитого зерна, масу тварин, діурез. Одержані результати порівнювали з даними контрольної групи тварин. За показник інтенсивності сечовиділення брали кількість сечі, що виділена щурами за добу у перерахунку на 100 г маси тіла. Кількість сечі, що виділена контрольною групою щурів, приймали за 100 %. Вміст натрію, калію у сечі визначали методом полуменевої фотометрії на ПАЖ-2 (Berxin, 1977). Концентрацію креатиніну у сечі досліджували за методом Фоліна в модифікації Є. Б. Берхіна (Berxin, & Ivanov, 1972). При проведені експериментальних досліджень щури знаходилися в стандартних умовах віварія у відповідності з положеннями і вимогами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 г.) та «Загальними етичними принципами експериментів над тваринами» (Киев, 2001).

Отримані результати обчислювали з використанням методів варіаційної статистики на персональному комп'ютері із застосуванням комп'ютерних програм «Microsoft Excel 2003», «STATISTICA® for Windows 6.0». Розраховували середні значення показників ($\overline{x}$) та стандартну похибку ($S\overline{x}$). Статистичну значущість внутрішньогрупових відмінностей розраховували за критерієм t Стьюдента (Lapach, Chubenko, & Babich, 2002).

Результати та їх обговорення.

Дані експериментальних досліджень після одноразового введення фуроксану наведені в табл. 1.

Таблиця 1

Вплив одноразового уведення фуроксану (25 мг/кг) і гідрохлортіазиду (25 мг/кг) на функціональний стан нирок щурів на тлі спонтанного діурезу (M±m, n=10)

Показники	*Контроль*	*Фуроксан*	*Гідрохлортіазид*
Діурез, мл/доба/100 г	1,54 ± 0,18	4,78 ± 0,24*	2,96 ± 0,17*
Випито води, мл	17,2 ± 1,41	19,8 ± 1,52	18,2 ± 1,31
Концентрація Na^+ в сечі, ммоль/л	3,22 ± 0,21	4,89 ± 0,17*	3,97 ± 0,19
Екскреція Na^+ в сечі мкмоль/доба/100 г	4,51 ± 0,33	7,65 ± 0,32*	6,72 ± 0,21*
Концентрація K^+ в сечі, ммоль/л	208,1 ± 12,3	219,7 ± 13,4	234,50 ± 15,1
Екскреція K^+, мкмоль/доба/100 г	304,9 ± 28,7	375,2 ± 31,5	388,7 ± 27,1
Концентрація білка в сечі, мг/л	510 ± 40,6	440 ± 50,0	490 ± 80,5
Екскреція білка, мг/доба/100 г	0,75 ± 0,06	0,78 ± 0,03	0,84 ± 0,06
Концентрація креатинінув сечі ммоль/л	2,68±0,13	2,87±0,25	2,79±0,31
Екскреція креатиніну, мкмоль/доба/100 г	2,39 ± 0,12	3,56 ± 0,17*	3,56 ± 0,19

Примітка. * – p< 0,05– ступінь вірогідності порівняно з контролем.

Аналіз одержаних результатів показує, що під дією фуроксану у щурів другої групи добове сечовиділення збільшилося на 210,4 % (p<0,001), концентрація іонів натрію в сечі щурів збільшилася на 51,9 % (p<0,05), а концентрація іонів калію в сечі мала тенденцію до зростання на 5,6 %.

Натрійурез підвищився у 1,7 разу (p<0,05), калійурез – у 1,23 рази (p<0,05). Екскреція ендогенного креатиніну збільшилася в 1,49 рази (p<0,05), що свідчить про покращення клубочкової ультрафільтрації. Також у тварин збільшилася кількість випитої за добу води з 17,2±1,41 до 19,8±1,52 мл.

У третій групі, після введення гідрохлортіазиду у дозі 25 мг/кг, спостерігали збільшення діурезу на 92,2 % (p<0,05), у сечі зросла концентрація натрію на 49 % (p<0,05) та збільшилась екскреція натрію з сечею на 23,3 % (p<0,05). Концентрація калію у сечі збільшилась на 12,6 %, а також зросла екскреція калію на 27,5 % (p<0,05).

Таким чином, одноразове введення фуроксану у дозі 25 мг/кг привело до збільшення добового діурезу, натрій- та калійурезу, що свідчить про потенційні діуретичні та салуретичні властивості препарату.

У наступній серії провели вивчення функціонального стану нирок на тлі тривалого (7 діб) уведення фуроксану. Курсове застосування фуроксану сприяло зростанню сечовиділення у тварин. Через 3 доби діурез збільшився на 226,1 % (p < 0,001), а на 7 добу зріс на 236,3 % (p < 0,001). Через 3 дні після скасування застосування фуроксану діурез зменшився до вихідного стану.

Паралельно з діуретичною дією препарату збільшувався салурез: екскреція іонів натрію через 3 доби зросла у 2,27 рази (p<0,05), через 7 діб – у 2,38 рази (p<0,05), калійурез збільшився у 1,83 рази (p<0,05) (табл. 2), тобто переважало зростання натрійуретичної дії порівняно з калійуретичною, яка з часом прогресувала.

Про перевагу натрійуретичної дії над калійуретичною свідчить показник натрій-калієвого коефіцієнта сечі, який через 3 доби уведення фуроксану зріс у 1,27 рази (p<0,05). Після відміни його

застосування екскреція іонів натрію і калію зменшилася до показників контролю, хоча екскреція креатиніну залишалася ще у 1,21 рази ($p<0,05$) вищою від вихідного рівня. Поступове зростання екскреції креатиніну в динаміці застосування фуроксану, свідчать про можливу пролонгаційну дію фуроксану.

Поряд із дослідженням впливу фуроксану на функцію нирок спостерігали також за динамікою показників випитої води за добу. Результати дослідження засвідчили, що при вільному доступі до води під впливом фуроксану тварини, ймовірно, відчували спрагу, і після 7-денного введення фуроксану добове споживання води збільшилося на 38,9 %.

Висновки

1. Фуроксан володіє салуретичною дією, збільшує спонтаний діурез на 210,4 %, та у 2,28 рази перебільшує дію гідрохлортіазиду.
2. Курсове застосування фуроксану має можливу пролонговану дію, про що свідчить зростання екскреції креатиніну.

Перспективи подальших досліджень. Фуроксан, який за своєю хімічною структурою належить до похідних метилксантину, є перспективною фармакологічно активною речовиною для подальшого вивчення його специфічної активності та безпечності з метою створення високо ефективного діуретичного засобу та впровадження в клінічну практику.

References

Andersson, K. E., Soler, R., & Füllhase, C. (2011). Rodent models for urodynamic investigation. *Neurourology and Urodynamics*, 30(5), 636-646. DOI: 10.1002/nau.21108.

Barja-Fidalgo, C., Fierro, I. M., Lima, A. C. B., Da Silva, E. T., Câmara, C. D. A., & Barreiro, E. J. (1999). Anti-inflammatory Profile of N-Phenylpyrazole Arylhydrazone Derivatives in Rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51, 703-707. DOI:10.1211/0022357991773005.

Belovol, A. N., & Knyaz`kova, I. I. (2009). Rol` vazopressina v patogeneze serdechnoj nedostatochnosti . *Serce i sudini*, 3, 87-92. [in Russian]

Berxin, E. B. (1977). Metody` izucheniya vliyaniya novy`x ximicheskix soedinenij na funkciyu pochek. *Ximiko-farmacevticheskij zhurnal*, 5(11), 3-11. [in Russian]

Berxin, E. B., & Ivanov, Y. I. (1972). *Metody` e`ksperimental`nogo issledovaniya pochek i vodno-solevogo obmena*. Moskva: Medicina. [in Russian]

Bhasin, B., & Velez, J. C. Q. (2016). Evaluation of Polyuria: The Roles of Solute Loading and Water Diuresis. *Am J Kidney Dis*., 67(3), 507-511. DOI: 10.1053/j.ajkd.2015.10.021

Bogolepova, A. E., & Natochin, Y. V. (2005). Fiziologicheskij analiz funkcii pochki pri razlichny`x tipax diureza . *Nefrologiya*, 2(9), 9-15. [in Russian]

Bolda Mariano, L. N., Boeing, T., Cechinel-Filho, V., Niero, R., Mota da Silva, L., & de Souza, P. (2020). The acute diuretic effects with low-doses of natural prenylated xanthones in rats. *European Journal of Pharmacology*, 884, 173432. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173432.

Bolda Mariano, L. N., Boeing, T., da Silva, R.C.M.V.A.F, Cechinel-Filho,V., Niero, R., Mota da Silva, L., de Souza, P., & Faloni de Andrade, S. (2019). 1,3,5,6-Tetrahydroxyxanthone, a natural xanthone, induces diuresis and saluresis in normotensive and hypertensive rats. *Chem Biol Interact*., 25(311), 108778. DOI: 10.1016/j.cbi.2019.108778.

Brandes, A., Oehlke, O., Schümann, A., Heidrich, S., Thévenod, F., & Rousa, E. (2007). Adaptive redistribution of NBCe1-A and NBCe1-B in rat kidney proximal tubule and striated ducts of salivary glands during acid-base disturbances. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 293(6), 2400-2411. DOI: 10.1152/ajpregu.00208.2007.

Brater, D. (2000). Pharmacology of Diuretics. *The American Journal of the Medical Sciences*, 319(1), 38-50. DOI: 10.1097/00000441-200001000-00004.

Fitzharris, G., & Baltz, J. (2009). Regulation of intracellular pH during oocyte growth and maturation in mammals. *Reproduction*, 11, 98-111. DOI: 10.1530/REP-09-0112.

Gozhenko, A. I., & Zhigalina–Gricenyuk, M. S. (2012). Preventivny`e mexanizmy` regulyacii vodno-solevogo obmena skvoz` prizmu teorii funkcional`ny`x sistem. *Bukovins`kij medichnij visnik*, 3(63), 16(2), 80-83. [in Russian]

Jin, L. H., Andersson, K. E., Kwon, Y. H., Park, C. S., Yoon, S. M., & Lee, T. (2009). Substantial detrusor overactivity in conscious spontaneously hypertensive rats with hyperactive behaviour. *Scand J Urol Nephrol*., 43(1), 3-7. DOI: 10.1080/00365590802468750.

Karabaeva, A. Z. (2006). Al`dosteron, serdechno-sosudistaya sistema i pochki. *Nefrologiya*, 1(10), 25-33. [in Russian]

Koeppen, B. M. (2009). The kidney and acid-base regulation. *Adv. Physiol. Educ*., 33(40), 275-281. DOI: 10.1152/advan.00054.2009.

Lang, F. (2006). *Mechanisms and significance of cell volume regulation*. (Switzerland): Ed. S. Karger AG . DOI: 10.1080/07315724.2007.10719667.

Lapach, S. N., Chubenko, A. V., & Babich, P. N. (2002). *Statistika v nauke i biznese*. Kiev: Morion.[in Russian]

Natochin, Y. V. (2010). Fiziologiya cheloveka: pochka. *Fiziologiya heloveka*, 5(36), 9-18. [in Russian]

Oehlke, O., Sprysch, P., Rickmann, M., & Roussa, E. (2006). Na+/H+ exchanger isoforms are differentially regulated in rat submandibular gland during acid/base disturbances in vivo. *Cell Tissue Res*., 323(2), 253-262. DOI: 10.1007/s00441-005-0055-6.

Pogorelov, M. V., Bumejster, V. I., & Tkach, G. F. (2009). Suchasni uyavlennya pro vodno-sol`ovij obmin . *Visnik problem biologiï i medicini*, 8-14. [in Ukrainian]

Robben, J. H., Knoers, N. V., & Deen, P. N. (2004). Regulation of the vasopressin V2 receptor by vasopressin in polarized renal collecting duct cells. *Mol. Biol. Cell.*, 15(12), 5693-5699. DOI: 10.1091/mbc.E04-04-0337.

Shtrygol', S. Yu., Tovchiga, O. V., Koyro, O. O., Shchekina, E. G., Shtrygol', V. S., Bondarev, E. V., & Domar, N. A. (2012). Novye perspektivy nefroprotektsii. *Bukovins'kiy medichniy visnik*, 3 (63), 2, 35-37. [in Russian]

Stefanov, O. V. (2001). *Doklinichni doslidzhennya likars`kix zasobiv: metodichni rekomendacziï*. Kiïv: Avicena. [in Ukrainian]

Yu, W., Ackert-Bicknell, C., Larigakis, J. D., MacIver, B., Steers, W. D., Churchill, G. A., Hill, W. G., & Zeidel, M. L. (2014). Spontaneous voiding by mice reveals strain-specific lower urinary tract function to be a quantitative genetic trait. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 306(11), F1296-F1307. DOI: 10.1152 / ajprenal.00074.2014.