

Улогата на ендотелин-1 во развојот на дијабетична нефропатија индуцирана со стрептозоцин

Јасмина Тројачанец^{1*}, Димче Зафиров¹, Маја Сланинка-Мицеска¹,
Никола Лабачевски¹, Елена Костова¹, Калина Ѓорѓиевска¹,
Петар Милошевски¹, Стојмир Петров¹

¹Инстѝтут иѝ за иѝрејклиничка и клиничка фармакологија со иѝоксикологија,
Медицински факултет, Универзитет “Св. Кирил и Методиј”

Примен 2006, прифатен јуни 2006

Апстракт

Дијабетичната нефропатија претставува една од хроничните микроваскуларни компликации на дијабетот, со мултифакторијална и не до крај расветлена етиопатогенеза. Со оглед на тоа што кај пациентите со дијабет, особено кај оние со дијабетична нефропатија, се најдени зголемени вредности на ендотелин-1, се претпоставува дека истиот може да има значајна улога во развојот на дијабетичната нефропатија.

Основна цел на нашата студија беше да се детектираат промените во плазматското ниво на ендотелин-1 по експериментално индуциран дијабет, и дијабетична нефропатија кај стаорци со стрептозоцин. Со оглед на добро познатите ефекти на АКЕ-инхибиторите, во оваа студија го испитувавме и влијанието на еналаприл (АКЕ инхибитор) на плазматските концентрации на ендотелин-1, како и неговите ефекти во третманот на дијабетична нефропатија. Еднократната i.p. администрација на стрептозоцин (STZ) предизвика сигнификантно зголемување на плазматските концентрации на ендотелин-1, пропратени со јасно изразени симптоми и знаци на дијабетична нефропатија (микроалбуминурија, зголемени уринарни вредности на N-acetyl-fl-D-glucosamidase, зголемени серумски концентрации на уреа, полиурија). Четири неделниот третман со еналаприл доведе до сигнификантно намалување на плазматските концентрации на ендотелин-1 и до подобрување на симптомите и знаците на дијабетичната нефропатија. Добиените резултати потврдуваат дека ендотелин-1 може да има значајна улога во развојот и прогресијата на дијабетичната нефропатија, а АКЕ инхибиторите, односно еналаприл, можат да ја ублажат и успорат прогресијата на дијабетичната нефропатија.

Клучни зборови: ендотелин-1, стрептозоцин, еналаприл, дијабетична нефропатија, стаорци.

Вовед

Дијабетичната нефропатија, заедно со дијабетичната ретинопатија, претставуваат едни од најтешките хроничните микроваскуларни компликации на дијабетот, кои се јавуваат во покасниот стадиум на болеста, посебно кај болните со висока и нерегулирана гликемија.

Етиопатогенезата на дијабетичната нефропатија е комплексна, мултифакторијална и за сега се

уште не комплетно разјаснета. Основата на ова заболување се базира на високата нерегулирана гликемија која доведува до постепени иреверзибилни промени на малите крвни садови, а хипертензијата додатно може да ги потенцира дијабетичните васкуларни компликации. Во последно време се повеќе се смета дека пореметувањето на модуларната функција на ендотелиумот може да бидат еден од иницијалните фактор за развојот на дијабетичните васкуларни компликации (1). Ендотелијалната дисфункција може да резултира со вазоспазам, вазоконстрикција, прекумерна тромбоза и абнормална васкуларна пролиферација (2), како и со

*Јасмина Тројачанец

e-mail: pharma@mt.net.mk

Тел. 02 11 18 28; 02 16 59 66 Факс. 02 11 18 28

променета вазомоторика и пермеабилнос на ендотелот. Ендотелната дисфункција исто така доведува до леукоцитна адхезија, и инфилтрација на моноцитите, макрофагите и липопротеините во ѕидот на артериите (3). Карактеристично за ендотелната дисфункција е намаленото присуство на факторите на релаксација, као што се простаглицинот, азотниот оксид и ендотелните деривирани хиперполаризирачките фактори и зголемување на факторите на вазоконстрикција, како што се ендотелин-1, простагландин PGH_2 и тромбоксан TXA_2 , кои претставуваат главни фактори во развојот на васкуларните заболувања (4).

Голем број на испитувања покажале дека нивото на ендотелин-1 се зголемува кај дијабетичните пациенти со микроангиопатија, поради што се претпоставува дека истиот може да има значајна улога во развојот на дијабетичната нефропатија (5,6,7). Ендотелинот (ЕТ-1) е 21 аминокиселински пептид, кој се создава во васкуларните ендотелни клетки и претставува најпотентен вазоконстриктор. Постојат три изоформи на ендотелинот, како ЕТ₁, ЕТ₂ и ЕТ₃, од кои само ЕТ₁ се ослободува од хуманите ендотелни клетки (8). Покрај тоа што васкуларниот ендотел претставува главен извор на продукцијата на ендотелин, тој може да се продуцира и од други различни типови на клетки вклучувајќи ги ендотелиумот на реналните тубули, гломеруларниот мезангиум, срцевите миоцити, хипофизарните клетки, макрофагите и други (9). Ендотелин-1 делува локално за покачување на васкуларниот тонус, го регулира крвниот проток, GFR и реалсорпцијата на натриум. Понатаму, ендотелинот може да ја поремети реналната архитектоника поради неговиот ефект врз акумулацијата на екстрацелуларниот матрикс и тубулоинтерстицијална фиброза.

Со оглед на тоа што за сега не постои специфична терапија за третман на дијабетична нефропатија, а имајќи ги во предвид до сега познатите механизми и патофизиологија на настанување на истата, последните десетина години интензивно се испитуваат разни медикаментозни опции за третман на дијабетичната нефропатија. Од нив како посебно интересни се издвојуваат лековите кои делуваат пред се на синтезата на ендотелин-1, инхибиторите на ендотелин-1 како и лекови кои што делуваат поволно на хемодинамските пореметувања кои се присутни кај дијабетичната нефропатија, како што се: АКЕ инхибиторите, АТ₁ антагонистите, блокатори на ЕТ-1 рецепторите и синтетски аналози на простаглицинот.

Примарна цел на нашата студија беше да се проценат улогата на ендотелин-1 во развојот и прогресијата на дијабетичната нефропатија кај стаорци, експериментално предизвикана со стрептозоцин, како и влијанието на еналаприл на плазматските концентрации на ендотелин-1. Како секундарна цел ни беше дефинирана процената на ефектите на еналаприл во третманот на дијабетичната нефропатија.

Експериментален дел

Експериментални животиња: За изведување на експериментите кои беа предвидени во ова испитување беа користени 60 машки и женски нормотензивни стаорци од сојот Wistar (од двата пола), на возраст од 9-11 недели, со телесна тежина од 160-300 g. Стаорците се добиени по пат на размножување во шталата на Институтот за предклиничка и клиничка фармакологија со токсикологија.

Лекови: Во текот на студијата беа користени следните лекови: Streptozocin (STZ) – SIGMA-ALDRICH и Enalapril Maleat – Krka.

Експериментални протоколи: експерименталниот модел на индуцирана дијабетична нефропатија кај стаорците беше поставен со еднакратна интраперитонеална администрација на Streptozocin во доза од 60 mg/kg/t.t.. Во понатамошниот тек од испитувањето беа вклучени само стаорците кај кои нивото на глукоза во крвта беше ≥ 11 mmol/L, на гладно (наутро). Во наредните 4 недели, за да се развие дијабетична нефропатија, животните беа оставени во дијабетична состојба без никаков третман. За да се одговори на поставените цели, стаорците (n = 40) беа поделени во две групи. Кај првата (STZ) група стаорци (n = 20), со цел да се проценат симптомите и знаците на дијабетичната нефропатија и промените во плазматското ниво на ендотелин-1, истите во наредните 4 недели беа оставени без никаков третман. Со цел да се евалуира влијанието на еналаприл на нивото на ендотелин-1, како и неговите терапевски ефекти на експериментално индуцираната дијабетична нефропатија, кај втората (ENA) група стаорци, после 4 недели од администрацијата на Streptozocin, се започна со администрација на Enalapril maleat, перорално (со интрагастрична сонда), растворен во 5% глукоза, во доза од 5 mg/kg/t.t. /ден, во тек на 4 недели.

Третата група, која исто така броеше 20 стаорци, претставуваше контролна група и експерименталните животни од оваа група примаа само фи-

зилошки раствор во исти количини и временски интервали како и групите животни кои ги примаа испитуваните лекови (не дијабетични стаорци).

Мерења и анализи: во текот на испитувањето беа извршени следните мерења и анализи: одредување на плазматските концентрации на ендотелин-1 (ЕТ-1), биохемиска анализа на крвта од стаорците, која вклучуваше одредување на нивото на глюкоза и серумски креатинин; уринарни анализи кои вклучуваа: диуреза, рН на урина, албуминурија и одредување на уринарната екскреција на NAG (N-Acetyl-b-D-glucosaminidase) и параметри за процена на општиот статус на експерименталните животни кои вклучуваа (телесна тежина, внес на вода и храна, моторна активност). Сите овие мерења и анализи, со исклучок на нивото на глюкоза во крвта и телесната тежина, кај испитуваните животни се изведуваа пред почетокот на испитувањето (0-ден), после 4 и 8 недели од почетокот на испитувањето. Нивото на глюкоза во крвта се одредуваше пред почетокот на испитувањето, 72 часа после апликацијата на стрептозоцин и после 4 односно после 8 недели, додека телесната тежина на животните се мереше во неделни интервали.

Концентрацијата на ЕТ-1 се одредуваше со користење на комерцијален сет од фирмата Amersham Life Science (Biotrak Endothelin-1- (I 125) high sensitivity assay). Овој кит е погоден за одредување на ендотелин-1 во култура од клетки, серум, плазма и урина. Користи магнетна сепарација (Amerlex-M magnetic separation). Сите примероци претходно беа подложени на пурификација низ Amperep мини колони (Amersham), а потоа отчитувани со RIA техника.

Активноста на NAG во урина беше одредувана со валидизираната методата на Horak E. et al. (10), додека количината на вкупни албумини во урина се одредуваше турбидиметриски.

Статистичка обработка: од дескриптивна статистика беа користени мерките на централна тенденција и варијабилитет (средна вредност, стандардна девијација). Разликите помеѓу одредени временски точки, како и разликите помеѓу групите беа анализирани со Student-ov "t test" за зависни односно независни примероци и непараметриските тестови Mann-Whitney U-test, Wilcoxon-ov тест и Kruskal-Wallis ANOVA. Како сигнификантно значајни беа земени разликите за $p < 0.05$.

Земање на примероци на крв за хематолошки анализи: крвта од стаорците беше земена од орбиталниот синус на стаорците, во лесна етерска анес-

тезија, со венепункција, при што беа земани примероци на крв за хематолошки анализи (по 100 ml на кои е им беше додаден антикоагуланс EDTA).

Земање на примероци на урина: За да се минимизираат циркардијалните варијации на вредностите на поедини параметри, примероците на урина се земаа од 24-часовната урина (диуреза) на стаорците која се собираше со користење на метаболни кафези. Целокупната урина беше собирана во тек на 24 часа, почнувајќи од 10⁰⁰ h претпладне, па се до истото време наредниот ден.

Резултати и дискусија

Експериментално поставениот модел на индуциран дијабет кај стаорци со еднократна интраперитонеална администрација на Streptozocin во доза од 60 mg/kg/t.t. резултираше со тешка хипергликемија веќе после 72 часа од администрацијата на лекот кај најголемиот број од стаорците. Во понатамошниот тек од испитувањето беа вклучени само оние стаорци кај кои нивото на глюкоза во крв беше ≥ 11 mmol/L на гладно ($n = 40$). Просечните вредности на глюкоза во крвта кај експерименталните животни кои беа вклучени во испитувањето изнесуваа 28.11 mmol/L.

Бидејќи нашата цел беше процена на улогата на ендотелин-1 во развојот и прогресијата на дијабетичната нефропатија, а потоа и третман на дијабетична нефропатија, стаорците од двете испитувани групи: стрептозоцин (STZ) и еналаприл (ENA) во текот на целото испитување не примаа специфична терапија за дијабет, поради што вредностите на глюкоза во крвта и после 4, односно 8 недели останаа на приближно исто ниво (STZ = 28.52 mmol/L; ENA = 27.67 mmol/L), при што разликата помеѓу двете групи беше несигнификантна ($p > 0.05$).

Ваквото високо ниво на глюкоза во крвта, по 4 недели од администрацијата на стрептозоцин, како и во голем број други слични експериментални студии (11,12,13), резултираше со јасно изразени симптоми и знаци за дијабетична нефропатија кај двете испитувани групи на животни, вклучувајќи зголемено ниво на серумска уреа, изразита полиурија, микроалбуминурија и лоша општа состојба на испитуваните животни. Во групата стаорци кои во текот на испитувањето освен стрептозоцин не примаа друг лек (STZ-група), симптомите на дијабетичната нефропатија прогредираа и уште повеќе се влошија по 8 недели од администрацијата на стрептозоцин. За разлика од тоа, во групата жи-

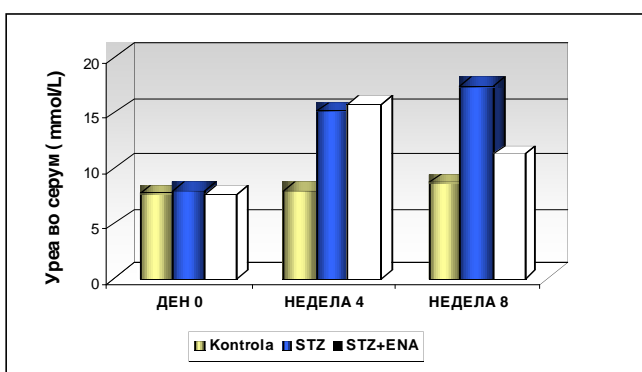
вотни кои од 4-тата до 8-та недела примаа терапија со еналаприл (ENA), евидентно беше изразито намалување и ублажување на симптомите на дијабетичната нефропатија и подобрување на нивната општа состојба.

Ниво на уреа во серум

Од биохемиските параметри за процена на општата бубрежна функција се користеше следеното на концентрациите на уреа во серум кај стаорците во текот на испитувањето. После 4 недели од администрацијата на стрептозоцин беше регистрирано сигнификантно ($p < 0.05$) зголемување на вредностите на уреа во серум кај двете испитувани групи во однос на базалните вредности и вредностите кај контролната група (7.91 ± 1.96) mmol/L. Просечните вредности на нивото на уреа кај STZ-групата изнесуваа 15.19 ± 3.8 mmol/L а кај ENA-групата 15.74 ± 5.66 mmol/L. На крајот од испитувањето, кај STZ-групата вредностите на уреа беа уште повеќе зголемени и изнесуваа 17.47 ± 6.43 mmol/L, додека кај ENA-групата, вредностите на уреа беа сигнификантно намалени во однос на вредностите по 4 недели и беа близу до базалните вредности и вредностите кај контролната група (11.31 ± 2.75 mmol/L). (Сл. 1.) Процентуално изразено, на крајот од испитувањето, вредностите на уреа кај STZ-групата во однос на базалните вредности беа зголемени за 119.5%, додека кај ENA-групата ова зголемување беше сигнификантно ($p < 0.05$) помало и изнесуваше 50.0%.

Диуреза

Администрацијата на стрептозоцин кај стаорците предизвика тешка хипергликемија, пропратена со бубрежни оштетувања, кои се манифестираа и во однос на диурезата кај стаорците. После 4 недели од администрацијата на стрептозоцин, кај двете испитувани групи беше изразито манифест-

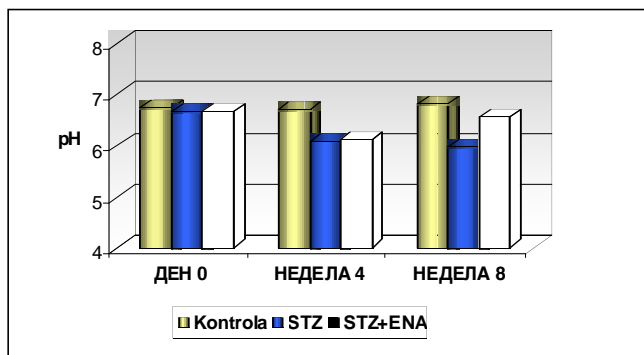


Сл. 1. Вредности на уреа во серум кај стаорците во текот на испитувањето (mmol/L)

на полиуријата, при што просечните вредности на диурезата изнесуваа: 37.14 ± 8.45 ml/24h (STZ), односно 36.86 ± 6.47 ml/24h (ENA), што изразено процентуално е речиси за 5 пати повисока во однос на базалните вредности и вредностите на диурезата кај контролната група (7.71 ± 0.95 ml/24h). По 8 недели, односно на крајот од испитувањето, вредностите на диурезата кај STZ групата иако беа нешто намалени (24.86 ± 4.98 ml/24h) во однос на вредностите на диурезата по 4 недели, тие се уште беа многу повисоки во однос на базалните вредности и вредностите кај контролната група. За разлика од тоа, кај ENA групата, вредностите на диурезата по 8 недели (17.14 ± 5.11 ml/24h) беа за повеќе од половина намалени во однос на вредностите по 4 недели и бележеа тренд на постепено нормализирање. Ваквите резултати на еналаприл во однос на диурезата, укажува на негови поволни терапевтски ефекти на оштетената бубрежна функција индуцирана со стрептозоцин.

pH на урина

Потврда за пореметената бубрежна функција како резултат на администрацијата на стрептозоцин претставуваат и резултатите во поглед на промените на pH на урината што беа регистрирани во текот на испитувањето. Администрацијата на стрептозоцин, која резултираше со развој на дијабет кај стаорците, беше пропратена и со ацидификација, односно пад на вредностите на pH на урината кај двете групи на стаорци после 4 недели. Просечните вредности на pH на урината по 4 недели кај STZ и ENA групата изнесуваа 6.11 ± 0.36 (STZ), односно 6.13 ± 0.34 (ENA), што е сигнификантно ($p < 0.05$) пониско во однос на контролната група (6.71 ± 0.30). На крајот од испитувањето, кај STZ групата pH на урината уште повеќе се намали и изнесуваше 5.99 ± 0.41 , додека кај ENA групата, вредностите на pH на урината беа скоро нормализирани и изнесуваа 6.57 ± 0.37 . Ацидификацијата на урината несомнено укажува на зголемена екскреција на киселини во состојба на дијабет, која што е најверојатно резултат на пореметениот метаболизам и гломеруларната хемодинамика на дијабетичните стаорци, а последователно на тоа и на зголемената продукција и елиминација на киселини. Слични резултати се добиени и во други експериментални студии во кои е покажано дека стрептозоцинот преку индукцијата на дијабет ја зголемува ацидификацијата на урината на стаорците (14). Од друга страна и во нашата студија се потвр-



Сл. 2. Вредности на рН на урината кај стаорците во текот на испитувањето

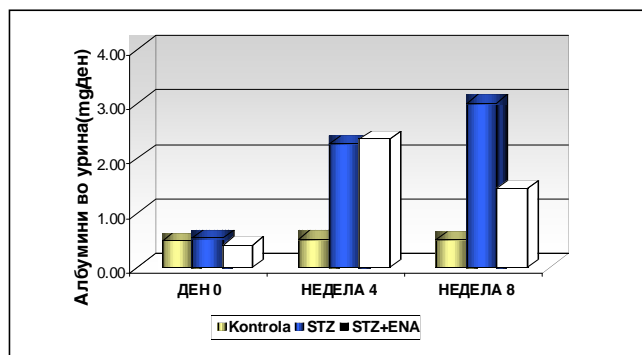
дија поволните терапевски ефекти на АКЕ инхибиторите во однос на гломеруларната хемодинамика, со оглед на тоа што третманот со еналаприл резултираше со постепено нормализирање на рН на урината на испитуваните стаорци, која претходно беше пореметена од дејството на стрептозоцин.

Албуминурија

Микроалбуминуријата претставува високо специфичен показател на бубрежната функција и е значаен параметар за рано откривање на дијабетична нефропатија.

Еднократната администрација на стрептозоцин индуцира тешка албуминурија кај сите испитувани стаорци. После 4 недели, просечните вредности на албумини во урина кај STZ и ENA стаорците беа за 4-5 пати повисоки во однос на базалните вредности и контролната група (0.518 ± 0.122 mg/24 h) и изнесуваа: 2.273 ± 0.836 mg/24 h (STZ), односно 2.347 ± 0.626 mg/24 h (ENA). На крајот од испитувањето, кај STZ групата просечните вредности на албумини во урина за 24 часа уште повеќе се зголемија и изнесуваа 3.023 ± 0.837 mg/24 h. Спротивно на тоа, во групата која примаше еналаприл (ENA), иако албуминуријата беше се уште присутна, истата бележеше тренд на опаѓање и беше за речиси преполовена во однос на претходните вредности регистрирани после 4 недели од администрацијата на стрептозоцин (1.447 ± 0.460 mg/24) (Сл. 3) што претставува високо сигнификантна ($p < 0.01$) разлика во однос на STZ групата.

Добиените резултати во однос на албуминуријата го потврдуваат значењето на овој параметар во детекцијата на дијабетичната нефропатија индуцирана со стрептозоцин, како и терапевските ефекти на еналаприл. Микроалбуминурија претставува независен предиктор на подоцнежната прогресија на нефропатијата и ризик за кардиоваскуларен



Сл. 3. Вредноста на албумини во урина кај стаорците во текот на испитувањето (mg/24h)

морбидитет и морталитет (15). Причината за појава микроалбуминурија кај дијабетичната нефропатија е зголемената пропустливост на базалната мембрана, како резултат на намалувањето на количината на протеингликанот кој е составен дел на базалната мембрана. Микроалбуминуријата во почетокот е повремена, потоа трајна. Со напредување на болеста, поради гломеруларната склероза, може да дојде до додатно влошување на бубрежната функција и до појава на изразита протеинурија и хронична бубрежна инсуфициенција.

Уринарна екскреција на NAG (N-Acetyl-b-D-glucosaminidase):

Квантифицирањето на уринарната екскреција на NAG претставува високо специфичен маркер за детекција на ренални оштетувања. Токму поради тоа и во нашата студија истиот го користевме за докажување и потврдување на функционалните бубрежни оштетувања индуцирани од администрацијата на стрептозоцин, а воедно и за процена на терапевските ефекти на еналаприл.

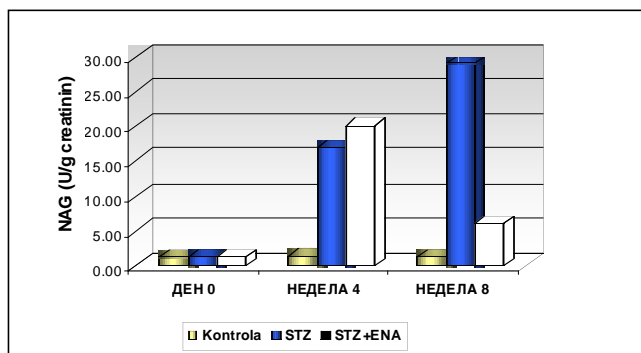
Администрацијата на стрептозоцин предизвика изразито зголемување на вредностите на NAG во урина после 4 недели, при што просечните вредности во STZ групата изнесуваа 17.13 ± 7.14 U/g/креатинин, односно 20.12 ± 8.61 U/g/креатинин кај ENA-групата. По 8 недели од администрацијата на Streptozocin, кај STZ групата вредностите на NAG беа уште повисоки и изнесуваа 29.01 ± 16.34 U/g/креатинин. За разлика од тоа, кај ENA групата беше регистрирано сигнификантно ($p < 0.01$) намалување на вредностите на NAG (6.05 ± 2.3 U/g/креатинин), иако истите беа се уште повисоки во однос на базалните вредности и контролната група (Сл. 4).

Процентуално изразено, во групата животни кои беа третирани само со стрептозоцин, на крајот од испитувањето вредностите на NAG во урина во од-

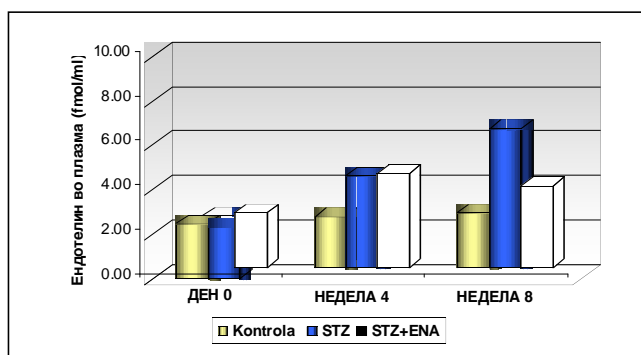
нос на базалните вредности беа зголемени за повеќе од 20 пати, а во групата која покрај Streptozocin примаше и еналаприл ова зголемување изнесуваше приближно 3.5 пати, што претставува високо сигнификантна разлика во однос на STZ групата.

Намалувањето на нивото на NAG во урина може да биде резултат на ефектите на еналаприл во поглед на намалувањето на интрагломеруларниот притисок (16) и на благото зголемување на пермеабилитетот на гломеруларната базална мембрана (17).

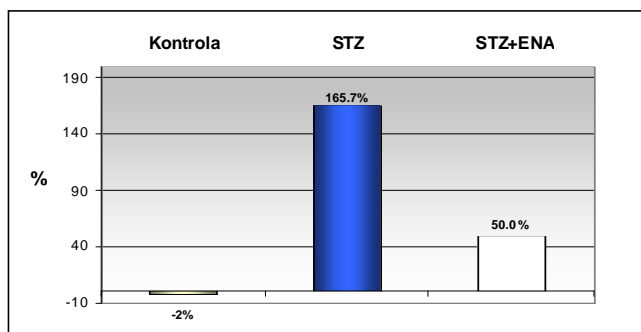
Сите овие функционални бубрежни параметри и специфични тестови за процена на бубрежни оштетувања покажуваат дека администрацијата на стрептозоцин предизвика дијабет, со изразити симптоми и знаци за дијабетична нефропатија вклучувајќи изразита албуминурија, зголемено ниво на уринарен NAG, зголемени серумски вредности на уреа, пропратени со зголемена и ацидифирана диуреза, како и лоша општа состојба на експерименталните животни. Истовремено, добиените резултати во однос на третманот со еналаприл несомнено поакжуваат и потврдуваат дека АКЕ инхибиторите можат да бидат ефикасна медикаментозна опција во подобрувањето на симптомите и знаците на дијабетичната нефропатија, односно да влијаат на прогресијата на нефропатичната дисфункција експериментално индуцирана со стрептозоцин. Ренопротективните ефекти на овие лекови не се должи само на намалувањето на системскиот крвен притисок туку и на намалувањето на интрагломеруларниот притисок, како и влијанието на другите локални вазоактивни медијатори кои шти имаат улога во развојот на дијабетичната нефропатија. Локалните ефекти на АКЕ инхибиторите се смета дека се остваруваат преку нивното влијание врз создадениот ренин и ангиотензинот II и тоа пред се во крвните садови, бубрезите, мозокот и другите ткива (18,19). Покажано е дека со блокадата на локалниот ренин-ангиотензински систем може да се намали продукцијата на проинфламаторните и просклеротичните цитокини кои може да имаат улога во прогресијата на дијабетичните микроваскуларни и тубулоинтерстицијални заболувања. Во последно време се повеќе се смета дека пореметувањето на модулаторната функција на ендотелиумот, а пред се зголемената синтеза на ендотелин-1, можат да бидат едни од иницијалните и клучни фактор за развојот на дијабетичните васкуларни компликации (1). Во неколку студии е покажано дека АКЕ инхибиторите можат поволно да делуваат на дијабетичната нефропатија



Сл. 4. Вредности на NAG во урина лај стаорците во текот на испитувањето (U/g/креатинин)



Сл. 5 Концентрации на ендотелин 1 во плазма кај стаорците во текот на испитувањето (fmol/ml)



Сл. 6. Процентуално зголемување на вредностите на ендотелин-1 на крајот од испитувањето во однос на базалните вредности

и преку намалување на ткивното и плазматско ниво на ендотелин-1 (20,21).

Токму поради тоа, нашата главна цел во оваа студија беше да се процени улогата на ендотелин-1 во развојот и прогресијата на дијабетична нефропатија, преку одредување на неговите плазматски концентрации.

Плазматски концентрации на ендотелин-1

Еднократната интраперитонеална администрација на стрептозоцин предизвика зголемување на плазматските концентрации на ендотелин-1 по 4 недели кај двете испитувани групи, при што про-

сечните вредности кај STZ групата изнесуваа 4.12 ± 0.67 fmol/ml, а кај ENA групата 4.24 ± 0.87 fmol/ml, што е сигнификатно повисоко во однос на контролната група (2.31 ± 0.40 fmol/ml). На крајот од испитувањето, кај STZ групата просечните плазматските концентрации на ендотелин-1 уште повеќе се зголемија и изнесуваа 6.27 ± 1.42 fmol/ml. Спротивно на тоа, кај ENA групата просечните плазматски вредности на ендотелин-1 беа во опаѓање и изнесуваа 3.69 ± 0.69 fmol/ml (Сл. 5).

Компаративната статистичка анализа на добиените резултати помеѓу двете групи на животни, како и во однос на базалните вредности и вредностите на овие параметри кај контролната група, покажува сигнификатно пониски ($p < 0.05$) ниво на плазматски ендотелин-1 кај ENA-групата во однос на STZ-групата. Процентуално, на крајот од испитувањето, плазматските концентрации на ендотелин-1 кај STZ-групата во однос на базалните вредности беа зголемени за 165.7%, додека кај ENA-групата ова зголемување беше сигнификатно помало и изнесуваше 50.0% ($p < 0.05$) (Сл. 6)

Ваквите резултати несомнено покажуваат дека ендотелин-1 може да има значајна улога во развојот и прогресијата на дијабетичната нефропатија индуцирана со стрептозоцин. За ендотелин-1 е познато дека предизвикува констрикција на гломеруларните и интерлобуларните артерии, како и констрикција на аферентните и еферентните артериоли (22) како и мезангијална клеточна пролиферација, што резултира со намалување на реналниот крвен волумен и гломеруларната филтрација и намалување на уринарната екскреција на натриум (23).

Од друга страна, резултатите за ефектите на еналаприл врз плазматските концентрации на ендотелин-1 и неговите повољните ефекти врз симптомите на дијабетичната нефропатија потврдуваат дека намалувањето на продукцијата на ендотелин-1 може да биде еден од неколкуте механизми преку кои АКЕ инхибиторите ги остваруваат своите ефекти кај дијабетичната нефропатија.

Слични резултати за влијанието на АКЕ инхибиторите на плазматските и ткивните концентрации на ендотелин-1 се добиени и во неколку други експериментални студии. Во овие студии превентивната примена на АКЕ инхибиторите исто така резултирала со сигнификатно намалување на микроалбуминуријата, подобрување на бубрежната функција (во однос на вредностите на NAG, серумскиот креатинин), како и сигнификатно подобру-

вање на реналната морфологија (во однос на гломеруларната и тубуларната базална мембрана, мезангиалниот матрикс, големината на гломерулите) (24,25, 26,27,28).

Исто така и голем број на клинички студии покажале дека употребата на АКЕ инхибитори кај хипертензивните пациенти со дијабет, го редуцираат нивото на албуминурија како и прогресијата на бурежното оштетување во поголем степен во однос на другите антихипертензивни лекови кои го намалуваат крвниот притисок (29,30).

Иако механизмот преку кој АКЕ инхибиторите ги намалуваат плазматските концентрации на ендотелин-1 не е потполно познат, се верува дека истиот најверојатно се остварува преку намалување на ангиотензин II, за кој пак во *In vivo* (20) и *In vitro* (21) услови е покажано дека ја стимулира продукцијата и секрецијата на ендотелин-1.

Заклучок

Добиените резултати од оваа студија потврдуваат дека ендотелин-1 може да има значајна улога во развојот и прогресијата на дијабетичната нефропатија, со оглед на тоа што плазматските концентрации на ендотелин-1 значајно се зголемуваат кај стаорците со дијабет и дијабетична нефропатија експериментално индуцирани со стрептозоцин. АКЕ инхибиторите, односно еналаприл, со своето ренопротективно дејство можат да ја ублажат и да ја успорат прогресијата на дијабетичната нефропатија, а еден од механизмите преку кој го остваруваат ова свое дејство е нивниот ефект во намалувањето на плазматските концентрации на моќниот вазоконстриктор ендотелин-1.

Литература:

1. F. Cosentino, M. Eto, P. De Paolis, B. van der Loo, et al., *Circulation*, **107**(7), 1017-23 (2003).
2. D.S. Celermajer, *Am Coll Cardio.*, **30**(2), 325-33 (1997).
3. D.Steinberg, *Circulation.*, **76**(3), 508-14 (1987).
4. J.R.Sowers, *Arch Intern Med.*, **23**;158(6), 617-21 (1998).
5. U.A. Teuscher, et al., *Journal of Hypertension*, **16**, 1279-1284 (1998).
6. R. J. Irving, J.P. Noon, G.C. Watt, D.J. Webb, B. R. Walker, *QJM*, **94**(6), 321-6 (2001)..
7. K. Kalogeropoulou, G. Mortzos, I. Migdalis, C. Velentzas, *Angiology*, **53**(3), 279-85 (2002).
8. T. Masaki, *J Cardiavasc Pharmacol*, **35**, 3-5 (2000).
9. A. Inoue, M. Yanagisawa, S. Kimura, Y. Kasuya, et al., *Proc Natl Acad Sci USA*, **86**(8), 2863-7 (1989).

10. E. Horak, S.M. Hopfer, F.W. Jr Sunderman, *Clin Chem.*, **27**(7), 1180-5 (1981).
11. A.K. Banes, S. Shaw, J. Jenkins, H. Redd et al., *Am J Physiol Renal Physiol.*, **286**(4), F653-9 (2004).
12. J. Klisic, V. Nief, L. Reyes, P.M. Ambuhl, *Nephron Physiol.*, **102**(2), p27-35 (2006).
13. M.M. Anwar, A.R. Meki, *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.*, **135**(4), 539-47 (2003).
14. F. Zaladek-Gil, M.F. Cavanal, G. Nascimento-Gomes, M.C. Silva-Rocha, M. Nutti-de-Almeida, *Braz J Med Biol Res.*, **32**(1) 107-113 (1999).
15. S.F. Dinneen, H.C. Gerstein, *Arch Intern Med.*, **157**(13), 1413-8 (1997).
16. Y. Fujiwara, E. Kitamura, S. Ochi, et al., *Contrib Nephrol.*, **95**, 12-21 (1991).
17. T.B. Weigmann, K.G. Herron, A.M. Chonko, M.L. MacDoigall, W.V. Moore, *Diabetes*, **41** 62-67 (1992).
18. Y. Doi, K. Atarashi, R. Franco-Saenz, P. Mulrow, *Clin Exp Hypert A.*, **5**(7-8), 1119-26 (1983).
19. J.D. Swales, A. Abramovici, F. Beck, R.F. Bing, M. Loudon, H. Thurston, *J Hypertension*, **1**(1), 17-22 (1983).
20. P. Moreau, L.V. d'Uscio, S. Shaw, et al., *Circulation*, **2**, 96(5), 1593-7 (1997).
21. T. Emori, Y. Hirata, K. Ohta, M. Shichiri, F. Marumo, *Biochem Biophys Res Commun.*, **14**;160(1), 93-100 (1989).
22. M.S. Simonson, S. Wann, P. Mene, G.R. Dubyak et al., *Journal of Clinical Investigation*, **83**, 708-712 (1989).
23. W.L. Miller, M.M. Redifield, Jr.J.C. Burnett, *Journal of Clinical Investigation* **83**, 317-320 (1989).
24. B. Kalender, M. Ozturk, M. Tuncdemir, O. Uysal, et al., *Acta Histochem.*, **104**(2), 123-30 (2002).
25. E. Villa, A. Rabano, L.M. Ruilope, R. Garcia-Robles, *Am J Hypertens.*, **10**(2), 202-8 (1997).
26. H. Gronbaek, I. Vogel, R. Osterby, I. Lancranjan, et al., *Kidney Int.*, **53**(1), 173-80 (1998).
27. C. Hill, A. Logan, C. Smith, H. Gronbeack, A. Flyvbjerg, *Diabetologia.*, **44**(4), 495-500 (2001).
28. B. Fabris, R. Candido, M. Carraro, F. Fior, et al., *R.Diabetes.*, **50**(11), 2619-24 (2001).
29. P. Jacobsen, S. Andersen, B.R. Jensen, H.H. Parving, *J Am Soc Nephrol.*, **14**(4), 992-9 (2003).
30. M. Mauer, B. Zinman, R. Gardiner, K.N. Drummond, et al., *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.*, **3**(4), 262-9 (2002).

Summary

Role of endothelin-1 in development of nephropathy induced with streptozocin

Jasmina Trojachanec¹, Dimche Zafirov¹, Maja Slaninka-Miceska¹, Nikola Labachevski¹, Elena Kostova¹, Kalina Georgievska¹, Petar Miloshevski¹, Stojmir Petrov¹

¹Department of Preclinical and Clinical Pharmacology and Toxicology, Medical Faculty; "Ss Cyril and Methodius", Skopje, R. Macedonia.

Key words: endothelin-1, streptozocin, enalapril, diabetic nephropathy, rats

Diabetic nephropathy is one of the chronic microvascular diabetic complications with multifactorial etiopathogenesis that has still not been completely elucidated. Having in mind that increased values of endothelin-1 have been found in patients with diabetes, and especially in those with diabetic nephropathy, it is assumed that endothelin-1 may play an important role in development of diabetic nephropathy.

The main aim of our study was to detect changes in plasma level of endothelin-1 after experimentally induced diabetes and diabetic nephropathy with streptozocin in rats. The effects of ACE inhibitors are well known and thus, we wanted to analyze the influence of enalapril (ACE inhibitor) on plasma concentrations of endothelin-1 as well as its effects in the treatment of diabetic nephropathy. Single i.p. administration of streptozocin (STZ) caused a significant increase of endothelin-1 plasma concentrations associated with distinct signs and symptoms of diabetic nephropathy (microalbuminuria, increased urine N-acetyl-D-glucosamidase, increased serum concentrations of urea and creatinine, polyuria). Four-week treatment with endothelin-1 resulted in significant reduction of endothelin-1 plasma concentrations and improved signs and symptoms of diabetic nephropathy. The results obtained have confirmed that endothelin-1 may play an important role in development and progression of diabetic nephropathy and ACE inhibitors, that is enalapril, may alleviate and delay the progression of diabetic nephropathy.