

УДК 612.465:616.36-004-092.9:615.916:[547.539.211.2 + 547.562.33]

**МОЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ И СОСТОЯНИЕ
АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПОЧЕК КРЫС
ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ НЕКОТОРЫХ ФОРМ
ПАТОЛОГИИ СОВТОЛОМ-1**

Мышкин В.А., Еникеев Д.А., Срубиллин Д.В., Галимов Д.М.
*ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»
Минздравоохранения России, Уфа, e-mail: enikeev@mail.ru*

Экспериментальное моделирование токсической гепатопатии (Патент № 2188457) и цирроза печени (Патент № 2197018) с использованием совтола-1 (техническая смесь полихлорбифенилов и хлорбензола) вызывает в почках подопытных крыс развитие единого симптомокомплекса: снижение диуреза, скорости клубочковой фильтрации, интенсивности канальцевой реабсорбции. Универсальным механизмом развития нефропатии является окислительный стресс, что подтверждается подавлением ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной системы почек крыс: снижением активности каталазы, супероксиддисмутазы, падением уровня восстановленного глутатиона и аскорбата при возрастании концентрации продуктов пероксидации – диеновых конъюгатов и активных соединений тиобарбитуровой кислоты. Более тяжелые нарушения мочевого выделительной функции и антиоксидантной системы развиваются в почках крыс с циррозом печени. Таким образом, токсическая гепатопатия и цирроз печени, моделируемые совтолом-1, сочетаются с нефротоксичностью, что требует дальнейшего изучения патогенеза сочетанных гепаторенальных повреждений и разработки на этой основе подходов к предупреждению и ограничению таких поражений.

Ключевые слова: антиоксидантная система, перекисное окисление липидов, токсическая гепатопатия, цирроз печени, совтол-1, клубочковая фильтрация, канальцевая реабсорбция, почки, нефротоксичность

**URINARY FUNCTION AND CONDITION OF THE RENAL ANTIOXIDANT SYSTEM
OF RATS DURING MODELING SOME PATHOLOGICAL FORMS WITH SOVTOL-1**

Myshkin V.A., Enikeev D.A., Srubilin D.V., Galimov D.M.
Bashkirian State Medical University, Ufa, e-mail: enikeev@mail.ru

Experimental modeling of toxic hepatopathy (Patent № 2188457) and hepatocirrhosis (Patent № 2197018) using sovtol-1 (a technical mixture of polychlorbiphenils and chlorbenzene) in the rat kidneys leads to the development of a single symptomocomplex: a decrease in diuresis, glomerular filtration rate, canalicular reabsorption intensity. A universal mechanism of nephropathy development is oxidative stress. This is confirmed by suppression of enzymatic and nonenzymatic links of the antioxidant system of rat kidneys: a decrease in catalase and superoxidismutase activity, reduced levels of recovered glutamate and ascorbate with a simultaneous increase of concentrations of lipoperoxidation products – dien conjugates and active compounds of thiobarbiturate acid. More severe damages to the urinary functions and antioxidant system occur in rat kidneys with liver cirrhosis. Thus, toxic hepatopathy and hepatocirrhosis modulated with sovtol-1 combine with nephrotoxicity. This requires further studies on the pathogenesis of combined hepatorenal disorders. Based on it, the development of approaches to prevention and limitation of such disorders is imperative.

Keywords: antioxidant system, lipid peroxidation, toxic hepatopathy, liver cirrhosis, sovtol-1, glomerular filtration, canalicular reabsorption, kidneys, nephrotoxicity

Среди типичных экотоксикантов важное место занимают полихлорированные бифенилы (ПХБ) [6]. За долгие годы интенсивного использования ПХБ в промышленности огромное количество этих соединений было внесено в окружающую среду и включено в циркуляцию природных биоценозов. Высокая опасность ПХБ для здоровья человека неоспорима, однако прогнозирование индивидуальных и популяционных рисков формирования медицинских последствий требует углубленного изучения токсогенеза ПХБ. Один из подходов к ее решению может быть основан на разработке адекватных моделей токсического действия ПХБ в эксперименте на животных. Ранее нами [7] экспериментально было показано, что печень крыс обладает чрезвычайно высокой чувствительностью к повреждающему дей-

ствию технической смеси ПХБ – совтола-1, имеющего высокое содержание хлора, что явилось основанием для создания двух новых ПХБ-индуцированных моделей патологии – токсической гепатопатии [10] и цирроза печени [11].

В ходе дальнейших исследований было установлено, что введение крысам совтола-1 в токсической дозе вызывает значительные повреждения гепаторенальной системы – нарушения функционально-метаболического состояния печени и почек, сопровождающихся активацией перекисного окисления липидов (ПОЛ) [8].

В развитии данного направления исследований целью нашей работы явилась экспериментальная оценка мочевого выделительной функции и оксидантного статуса почек крыс при введении им совтола-1 в дозах,

приводящих к развитию токсической гепатопатии и цирроза печени.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на 60 беспородных половозрелых белых крысах-самцах массой 180–230 г.

Интоксикацию вызывали воздействием технической смеси «Совтол-1», включающей хлорбифенилы и хлорбензол. Учитывая, что ведущим путем поступления полихлорбифенилов в организм человека и животных считается пероральный, экспериментальное моделирование осуществляли путем внутривенного введения совтола-1 в составе оливкового масла с помощью металлического зонда.

Все крысы были разделены на 3 группы по 20 животных в каждой группе. Самцы 2-й группы подвергались однократному воздействию совтола в дозе 150 мг на 100 г массы тела [10]. Крысы 3-й группы получали токсикант в количестве 60 мг·сут·кг⁻¹ два раза в неделю на протяжении 30 дней, в качестве питья использовали 5% раствор этанола. Животным контрольной группы вводили оливковое масло [11].

С целью оценки функционального состояния почек у животных определяли диурез по общепринятому методу без нагрузки [1, 2]. Оценка скорости клубочковой фильтрации (СКФ) проводили по клиренсу эндогенного креатинина, содержание которого в сыворотке крови и моче определяли методом Поппера с использованием набора реактивов Био-Лаб-Тест «Лаксма» (Чехия). Сбор мочи у крыс для определения минутного диуреза осуществляли в течение 4 часов в обменных клетках. СКФ и интенсивность канальцевой реабсорбции (КР) рассчитывали с использованием общепринятых формул [9]. Животных выводили из опыта под легким эфирным наркозом путем декапитации – группы 2 и 3 на 30 день. Собирали кровь, извлекали для исследования почки. В гомогенате ткани почек определяли содержание глутатиона восстановленного [4], аскорбата [13], каталазы [5] и супероксиддисмутазы [12].

Продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли методом В.Г. Гаврилова и соавт. [3] с учетом рекомендаций И.А. Волчегорского и соавт. [2].

Эксперименты проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Примечания к Приказу МЗ № 755 от 12.08.77) и «Правилами Европейской кон-

венции по защите животных, используемых для экспериментальных и научных целей». Статистическую достоверность результатов исследования оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

При анализе ткани (гомогената) почек экспериментальных животных наблюдалось выраженное угнетение антиоксидантной активности и накопления ТБК-РП (табл. 1). У крыс с токсической гепатопатией к 30 дню эксперимента активность КАТ составляла только 22% от уровня интактных животных, а активность СОД соответственно – 48,7%.

Наряду с этим в почках в 1,5 раза снижался уровень восстановленного глутатиона и в 1,39 раза уменьшалось содержание аскорбата.

Таким образом, токсическая гепатопатия, моделируемая совтолом-1, сопровождается нарушениями в ферментативном и неферментативном звене антиоксидантной системы почек.

На фоне оксидативного дисбаланса у крыс 2-й группы минутный диурез был в 1,36 раза ниже контрольных показателей. При этом существенно нарушались скорость клубочковой фильтрации и интенсивность канальцевой реабсорбции. У крыс 2-й группы СКФ не превысила 30,3%, а интенсивность КР была ниже на 12% по сравнению с показателями контроля. Аналогичная картина нарушений функционально-метаболического состояния почек развивалась у крыс 3 группы (табл. 1, 2).

Значительные и, вероятно, первичные нарушения в ферментативном и неферментативном звеньях антиоксидантной системы почек у крыс 2 и 3 групп сопровождалось нарушением метаболических процессов в клетках [8] и снижением мочевыделительной функции органа – СКФ и КР.

Таблица 1

Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в почках крыс, подвергшихся интоксикации совтолом (M ± m)

Показатели	Контроль, n = 20	Группа 2, n = 20	Группа 3, n = 20
ДК, усл. ед. оптической плотности/100 г ткани	2,0 ± 0,06	3,8 ± 0,12*	3,6 ± 0,08*
ТБК-РП, мкмоль/г	38,9 ± 1,35	57,8 ± 6,2*	6,27 ± 3,5*
КАТ, мкмоль/мин/мг белка	3,45 ± 1,50	1,76 ± 0,12*	1,71 ± 0,19*
СОД, ед./мг белка	2,79 ± 0,25	1,36 ± 0,10*	1,58 ± 0,06*
T-SH, мкг/мг белка	49,05 ± 1,42	32,42 ± 0,73*	26,45 ± 155*
Аскорбат, мкг/мг белка	2,58 ± 0,43	1,85 ± 0,14*	1,38 ± 0,12*

Примечание: * – достоверные различия ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Таблица 2

Клубочковая фильтрация и интенсивность канальцевой реабсорбции у крыс, подвергшихся интоксикации совтолом ($M \pm m$)

Показатели	Контроль, $n = 20$	Группа 2, $n = 20$	Группа 3, $n = 20$
Минутный диурез, мкл/мин	$45 \pm 0,23$	$3,3 \pm 0,5^*$	$2,6 \pm 0,43^*$
Креатинин в крови, мкмоль/л	$77,2 \pm 3,48$	$83,5 \pm 4,2^*$	$107,3 \pm 8,8^*$
Креатинин в моче, мкмоль/л	$925,0 \pm 73,5$	$645,0 \pm 88,3^*$	$678,8 \pm 72,5^*$
СКФ, мкл/мин	$54,0 \pm 2,9$	$16,4 \pm 3,4^*$	$16,42 \pm 5,4^*$
КР, %	91 %	79,8 %	84,1 %

Примечание: * – достоверные различия ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Полученные результаты подтверждают наличие у крыс с ПХБ-индуцированной патологией выраженных нефротоксических свойств, доказывают развитие окислительного стресса в почках и согласуются с ранее полученными данными, о нарушении водного обмена при воздействии совтола-1 [7, 10, 11]. Падение СКФ у животных с токсической гепатопатией и циррозом печени свидетельствуют о повреждении клубочкового аппарата почек и определяют возможные направления поиска способов патогенетической коррекции выявленных повреждений.

Список литературы

1. Берхин Е.Б. Роль почек в защите организма от ксенобиотиков // Фармакол. и токсикол. – 1986. – № 2. – С. 104–106.
2. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена. – Барнаул. – 1972. – 156 с.
3. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / И.А. Волчегорский, И.А. Долгушин, О.Л. Колесников, В.А. Цейликман. – Челябинск, 2000. – 165 с.
4. Гаврилов В.Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилов, Н.Ф. Хмара // Лабораторное дело. – 1988. – № 2. – С. 60–64.
5. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Н. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
6. Майстренко В.Н. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей / В.Н. Майстренко, Н.А. Клочев. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. – 323 с.
7. Мышкин В.А., Бакиров А.Б. Полихлорированные бифенилы и новые модели патологии печени // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2009. – № 1 (65). – С. 255–259.
8. Мышкин В.А., Еникеев Д.А., Галимов Д.М. и др. Перекисное окисление липидов и гепаторенальные повреждения у крыс при воздействии стойких загрязнителей // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 10. – С. 137–139.
9. Рябов С.Л., Наточин Ю.В. Функциональная нефрология. – СПб., 1997. – 220 с.
10. Способ моделирования токсической гепатопатии / В.А. Мышкин и др. // Патент РФ на изобретение № 2188457 по заявке № 2000103102 от 27.08.2002.
11. Способ моделирования цирроза печени / В.А. Мышкин и др. // Патент РФ на изобретение № 2197018 по заявке 2000103880 от 20.01.2003.
12. Терехина Н.А., Петрович Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная система. – Пермь, 1992. – 53 с.
13. Omega S.T. Selected methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues and fluids / S.T. Om-

age, J.W. Turuball, H.E. Sauberlide // Method in Enzymology. – 1971. – № 62. – P. 1–11.

References

1. Berkhin E.B. Rol pochek v zaschite organizma ot ksenobiotikov // Farmakol. i toksikol. 1986. no. 2. pp. 104–106.
2. Berkhin E.B., Ivanov Yu.I. Metody eksperimentalnogo issledovaniya pochek i vodno-solevogo obmena. Barnaul. 1972. 156 p.
3. Volchegorskiy I.A., Dolgushin I.A., Kolesnikov O.L., Tseylikman V.A. Eksperimentalnoe modelirovanie i laboratornaya otsenka adaptivnykh reaktsiy organizma. Chelyabinsk., 2000. 165 p.
4. Gavrilov V.B. Izmerenie dienovykh konyugatov v plazme krovi po UF-pogloscheniyu hepta-novykh i izopropanolnykh ekstraktov / V.B. Gavrilov, A.R. Gavrilov, N.F. Khmara // Laboratornoe delo. 1988. no. 2. pp. 60–64.
5. Korolyuk M.A. Metod opredeleniya aktivnosti katalazy / M.A. Korolyuk, L.I. Ivanova, I.N. Mayorova // Laboratornoe delo. 1988. no. 1. pp. 16–18.
6. Maystrenko V.N. Ekologo-analicheskii monitoring stoykikh organicheskikh zagryazniteley / V.N. Maystrenko, N.A. Klyuev. M.: BINOM. Laboratoriya znaniy, 2004. 323 p.
7. Myshkin V.A., Bakirov A.B. Polikhlorirovannyye bifenily i novyye modeli patologii pecheni // Byulleten VSNTs SO RAMN. 2009. no. 1 (65). pp. 255–259.
8. Myshkin V.A., Enikееv D.A., Galimov D.M. i dr. Perekissnoe okislenie lipidov i gepatorenalnye povrezhdeniya u krysv pri vozdeystvii stoykikh zagryazniteley // Fundamentalnyye issledovaniya. 2011. no. 10. pp. 137–139.
9. Ryabov S.L., Natochin Yu.V. Funktsionalnaya nefrologiya. SPb. 1997. 220 p.
10. Sposob modelirovaniya toksicheskoy gepatopatii / V.A. Myshkin [i dr.] // Patent RF na izobretenie no. 2188457 po zayavke № 2000103102 ot 27.08.2002.
11. Sposob modelirovaniya tsirroza pecheni / V.A. Myshkin [i dr.] // Patent RF na izobretenie no. 2197018 po zayavke 2000103880 ot 20.01.2003.
12. Terekhina N.A., Petrovich Yu.A. Svobodnoradikalnoe okislenie i antioksidantnaya sistema. Perm, 1992. 53 p.
13. Omega S.T. Selected methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues and fluids / S.T. Omega, J.W. Turuball, H.E. Sauberlide // Method in Enzymology. 1971. no. 62. pp. 1–11.

Рецензенты:

Миннебаев М.М., д.м.н., профессор, зав. кафедрой патофизиологии Казанского государственного медицинского университета, г. Казань;

Фролов Б.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой патофизиологии Оренбургской государственной медицинской академии, г. Оренбург.
Работа поступила в редакцию 18.01.2013.