

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 616.15.511/.514:546.4/.5-019

©В.І. Швець, В.Я. Трутняк, В.А. Дорошко, М.В.Швець
Буковинський державний медичний університет

ПОРУШЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НИРОК У ЩУРІВ ІЗ МІКСТОВОЮ СВИНЦЕВО-КАДМІЄВОЮ СУБХРОНІЧНОЮ ІНТОКСИКАЦІЄЮ

ПОРУШЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НИРОК У ЩУРІВ ІЗ МІКСТОВОЮ СВИНЦЕВО-КАДМІЄВОЮ СУБХРОНІЧНОЮ ІНТОКСИКАЦІЄЮ – Застосування коригуючої суміші усуває порушення екскреторної функції нирок внаслідок розвитку тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку через покращання діяльності проксимальних ниркових канальців, що забезпечує підвищення швидкості клубочкової фільтрації і виведення із організму азотистих метаболітів.

НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧЕК У КРЫС С МИКСТОВОЙ СВИНЦОВО-КАДМИЕВОЙ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ – Применение корегулирующей смеси устраняет нарушение экскреторной функции почек вследствие развития тубулогломерулярной возвратной связи через улучшение деятельности проксимальных почечных канальцев, что обеспечивает повышение скорости клубочковой фильтрации и выведение из организма азотистых метаболитов.

RENAL DYSFUNCTIONS IN RATS WITH MIXED PLUMBUM-CADMIUM SUBCHRONIC INTOXICATION – The use of the a correcting mixture eliminates disturbances of the excretory renal function due to a break of the tubuloglomerular feedback through an improvement of the activity of the renal proximal tubules, ensuring an increase in glomerular filtration and excretion of nitrous metabolates.

Ключові слова: нирки, кадмій, свинець, функція, корекція.
Ключевые слова: почки, кадмий, свинец, функция, корекция.

Key words: kidneys, cadmium, plumbum, function, correction.

ВСТУП Регуляція водно-сольової рівноваги відбувається за участі нирок – основного ефекторного органа, що реалізує інтегративний гормонально-месенджерний регуляторний потенціал на судинно-клубочковому і канальцевому рівні організації ниркових функцій [6]. Водно-сольовий гомеостаз нирки підтримують через складні, взаємозв'язані механізми, регуляцію котрих здійснюють гормональні системи, що забезпечує високу ефективність збереження сталого балансу іонів натрію і води в організмі, порушення якого розвиваються при зривах в системах регуляції, і можуть бути зумовлені як екстраренальними чинниками, так й ураженням нирок.

Інтенсивне використання природних ресурсів призвело до прогресуючого забруднення навколишнього середовища, що в цілому ряді регіонів досягає масштабу екологічних катастроф. Навколо промислових підприємств утворюються біогемохімічні провінції з підвищеним вмістом в біосфері свинцю, фтору, ртуті, кадмію, марганцю, нікелю та інших мікроелементів, котрі постійно розширюються за рахунок трансгресії полутантів повітряними і водними шляхами [2]. Погіршення екологічного становища призвело до зростання кількості важких металів, які потрапляють в організм людини з про-

дуктами харчування та питною водою [3]. Забруднення навколишнього середовища, що виникає внаслідок науково-технічної революції, вимагає вивчення механізмів його впливу на організм людини і тварин та потребує розробки нових способів захисту від токсичної дії ксенобіотиків. Зокрема дослідженнями вмісту свинцю та кадмію у волоссі доведено збільшення рівня даних металів в організмі людини в районах виробничого забруднення навколишнього середовища [1]. Свинець і кадмій мають високу біологічну активність і кумулятивні властивості. Вміст свинцю і кадмію в біологічних середовищах людини корелює із забрудненістю ними продуктів харчування. Нефротоксична дія кожного окремого із зазначених металів досить добре вивчена, однак особливості поєднання їх токсичного впливу на нирки залишаються не з'ясованими.

Метою дослідження стало з'ясування особливостей нефротоксичної дії хлористих сполук свинцю і кадмію при субхронічній мікстовій інтоксикації білих щурів та визначити можливості комплексної корекції встановлених порушень ниркової діяльності.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Для досягнення мети експерименту проведено на 50 самцях білих щурів масою тіла (0,193±0,018) кг. Досліджували через 6 тижнів після введення хлористих сполук кадмію і свинцю (1 раз на добу впродовж двох тижнів по 0,01 мг на кг і 0,05 мг на кг відповідно) в період розвитку поліорганних та системних порушень [5]. Відразу після останнього введення солей важких металів щурам дослідно групи внутрішньошлунково протягом 14 діб вводили суспензію, що містила корегувальний комплекс лікарських засобів (лінолева кислота – 2 мг, ліноленова кислота – 2 мг, β-каротин – 4 мг, вітамін Е – 60 мг, лецитин – 5 мг, 28-стеарат – 5 мг).

У всіх серіях досліди проводили за умов водного навантаження – під час напруги функцій нирок, спрямованих на збереження сталості внутрішнього середовища організму, що створює умови для виявлення прихованих порушень функцій нирок і визначення резервів їх компенсації. Функціональний стан нирок визначали кліренс-методом оцінки діяльності судинно-клубочкового апарату та роздільно функції проксимального і дистального канальцевих відділів нефронів. Водне навантаження проводили за 2 год до евтаназії: через металевий зонд вводили у шлунок підігріту до 30 °С водогінну воду в об'ємі 5 % від маси тіла тварин. Після закінчення даного етапу досліду, під ефірним наркозом здійснювали декапітацію щурів. Кров збирали в охолоджені центрифужні пробірки з ге-

парином, центрифугували 30 хв при 3000 об./хв та відбирали плазму для визначення вмісту електролітів і креатиніну.

Концентрації іонів натрію і калію в сечі та плазмі крові визначали методом фотометрії полум'я на "ФПЛ-1", креатиніну – за реакцією з пікриновою кислотою із реєстрацією показників екстинції за допомогою фотоколориметра "КФК-2" і спектрофотометра "СФ-46". Вміст білка в сечі досліджували сульфасаліциловим методом. Аналіз і розрахунків функцій нирок проводили за відомими методами. Для оцінки канальцевого транспорту іонів натрію розраховували абсолютну і відносну його реабсорбцію: $R_{Na^+} = FF_{Na^+} - E_{Na^+}$ та $R_{Na^+} = [(FF_{Na^+} - E_{Na^+}) : FF_{Na^+}] \times 100\%$, де E_{Na^+} – екскреція, FF_{Na^+} – фільтраційний заряд натрію.

Швидкість клубочково фільтрації визначали за кліренсом ендogenous креатиніну: $GFR = (V \times U_{Cr}) : P_{Cr}$, де GFR – швидкість клубочково фільтрації, V – об'єм сечі, U_{Cr} – концентрація креатиніну в сечі, P_{Cr} – концентрація креатиніну в плазмі крові. Для інтегрально оцінки транспорту натрію в нирках використовували показники екскреції ($E_{Na^+} = U_{Na^+} \times V$) іонів натрію. Реабсорбцію води визначали за формулою: $R_{H_2O} = [(GFR - V) : GFR] \times 100\%$. Стандартизацію показників функцій нирок проводили перерахунком x абсолютних величин на одиницю маси тіла тварини або об'єму клубочкового фільтрату.

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за програмою "BioStat" з визначенням t -критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА Х ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження наведено у таблиці. Через шість тижнів після комбінованого введення хлористих сполук свинцю і кадмію діурез у дослідних щурів не відрізнявся від контролю. Водночас швидкість клубочково фільтрації зменшувалась у 2,1 раза, що призводило до накопичення креатиніну в плазмі крові, вміст якого перевищував такий у тварин контрольної групи на 78,2 %. Реабсорбція води знижувалась на 7,7 %, що і забезпечувало стабільний рівень сечовиділення. Про суттєве пошкодження ниркових канальців свідчило, перш за все, значне збільшення стандартизованого за об'ємом клубочкового фільтрату екскреції білка – даний показник був у 15,7 раза вищим за контрольні величини. Крім того, в 6,4 раза зростала стандартизована за швидкістю клубочково фільтрації екскреція іонів натрію, що призводило до суттєвого зменшення концентрації останніх у плазмі крові. Пошкодження систем транспорту іонів натрію було локалізованим на рівні проксимальних канальців, оскільки проксимальна реабсорбція іонів натрію зменшувалась на 15,8 %, тоді як x дистальний транспорт, навпаки, підвищувався на 70,5 %.

Застосування корегувального комплексу практично не впливало на показники індукованого водного діурезу у щурів зі свинцево-кадмієвою інтоксикацією, проте швидкість клубочково фільтрації зростала у 2,8 раза, що призводило до зменшення концентрації креатиніну в плазмі крові

Таблиця. Вплив корегувального комплексу на функціональний стан нирок у щурів зі свинцево-кадмієвою інтоксикацією ($\bar{x} \pm S_x$)

Показники, що вивчалися	Контроль, n=15	Інтоксикація, n=15	Інтоксикація+ корегувальний комплекс, n=20
Діурез, мл/2 год	3,92±0,11	3,80±0,17 p>0,5	3,99±0,15 p>0,7 p ₁ >0,4
Швидкість клубочково фільтрації, мкл/хв	458,43±21,05	213,74±17,63 p<0,001	588,42±25,09 p<0,001 p ₁ <0,001
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	58,31±2,06	103,88±4,79 p<0,001	67,11±2,12 p<0,01 p ₁ <0,001
Реабсорбція води, %	92,87±1,16	85,18±2,51 p<0,02	94,35±2,88 p>0,6 p ₁ <0,05
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	0,017±0,001	0,267±0,011 p<0,001	0,023±0,002 p<0,05 p ₁ <0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	0,21±0,02	1,34±0,09 p<0,001	0,41±0,03 p<0,001 p ₁ <0,001
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	137,50±0,87	130,88±0,71 p<0,001	136,25±0,79 p>0,2 p ₁ <0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/ 100 мкл клубочкового фільтрату	13,00±0,17	10,95±0,23 p<0,001	12,98±0,15 p>0,9 p ₁ <0,001
Дистальний транспорт іонів натрію, мкмоль/ 100 мкл клубочкового фільтрату	1,12±0,06	1,91±0,18 p<0,001	0,77±0,04 p<0,001 p ₁ <0,001

Примітки: 1. p – ступінь достовірності різниць показників порівняно з контролем; 2. p₁ – ступінь достовірності різниць показників порівняно з даними у дослідних групах; 3. n – число спостережень.

на 35,4 %. Варто зазначити, що у тварин, які отримували корегувальний комплекс, швидкість клубочкової фільтрації на 28,4 % перевищувала контрольний рівень, однак плазмовий вміст креатиніну теж був дещо вищим за контроль – на 15,1 %. Відсутність змін з боку діурезу у щурів даної групи пояснюється підвищенням реабсорбції води на 9,2 %, внаслідок чого показники канальцевого транспорту води не відрізнялись від контрольних величин. Під впливом корегувального комплексу в 11,6 разів зменшувалась стандартизована за об'ємом клубочкової фільтрації екскреція білка. Через такі зміни втрати білка з сечею були лише на 35,3 % більшими, ніж у тварин контрольної групи (для здорових білих щурів невисокий рівень протеїну є нормальним явищем).

Отже, застосування корегувального комплексу суттєво покращує діяльність судинно-гломерулярного апарату нирок у щурів зі свинцево-кадмієвою інтоксикацією – різке збільшення швидкості клубочкової фільтрації поєднується зі зменшенням вмісту креатиніну в плазмі крові майже до контрольних показників. Підвищення реабсорбції води є адекватним зростанню фільтраційного завантаження нефронів, що забезпечує нормальний рівень діурезу та разом зі значним зменшенням ступеня протеїну свідчить про прискорення процесів відновлення функції канальцевого ниркового епітелію.

Стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації екскреція іонів натрію за дії корегувального комплексу зменшувалась в 3,3 рази, однак залишалася вдвічі більшою за контроль. Проте такого обмеження втрат іонів натрію з сечею виявилось достатньо для нормалізації основного параметру натрієвого гомеостазу – концентрація іонів натрію в плазмі крові підвищувалась на 4,1 % і не відрізнялась від контрольних величин. Підвищення плазмового вмісту іонів натрію було асоційованим зі збільшенням x проксимальної реабсорбції на 18,5 %, внаслідок чого проксимальний транспорт іонів натрію відповідав такому у тварин контрольної групи. Дистальний транспорт іонів натрію, навпаки, зменшувався у 2,5 рази і був на 31,3 % меншим за контроль.

Таким чином, корегувальний комплекс позитивно впливає на діяльність канальцевого відділу нефронів у щурів зі свинцево-кадмієвою інтоксикацією, про що свідчить практично повне відновлення реабсорбції іонів натрію в проксимальних канальцях та нормалізація вмісту іонів натрію в плазмі крові. Зниження дистального транспорту іонів натрію у тварин даної групи є, скоріше за все, вторинним, тобто пов'язаним зі збільшенням інтенсивності транспорту іонів натрію в проксимальних відділах нефронів.

Відомо, що нирки належать до органів, котрі першими реагують на токсичний вплив металів, що пов'язано з їх детоксикаційною функцією. Морфологічно при тривалому впливі свинцю в нирках виявляються ознаки дистрофії різного ступеня вираженості, що зумовлено безпосередньою дією металу на нефроцити. Кадмій концентрується в

основному в кірковій речовині нирок. За дії кадмію в нирках виявляються поодинокі колабовані і "лапчасті" клубочки з потовщенням зовнішнього шару капсули Шумлянського-Боумена, зерниста дистрофія і десквамація епітеліоцитів звивистих канальців, поодинокі гіалінові циліндри. Навіть через 2 місяці після відміни кадмію на ультраструктурному рівні виявляється поліморфізм педикул, вакуолізація цитоплазми подоцитів за рахунок розширення цистерн гранулярного ендоплазматичного ретикулулу і накопичення в них дрібнозернистого електронно-щільного матеріалу. В епітелію дних клітинах юктагломерулярного апарату виявляється помірна гіперплазія, в епітелі проксимальних і дистальних канальців – виражена зерниста дистрофія та некробіоз, у просвіті канальців накопичуються гіалінові циліндри. Однією з перших лабораторних ознак хронічно кадмієвої інтоксикації є поява в сечі бета-2-мікроглобуліну, екскреція котрого збільшується в 100 разів. У проксимальних відділах нефрону кадмій пригнічує реабсорбцію низькомолекулярних білків, які вільно фільтруються в клубочках. Механізм гальмування реабсорбції пов'язаний з пригніченням натрій-калієвої АТФазно-транспортної системи. Підвищення рівня кадмію в крові тісно корелює з підвищенням екскреції бета-2-мікроглобуліну. Надалі, в результаті пригнічення канальцевої реабсорбції, розвиваються глюкозурія, генералізована аміноацидурія і ензимурія. Пізніше формується змішана протеїнурія, що супроводжується зниженням кліренсу ендogenous креатиніну [7].

Показано, що більшість важких металів мають властивості викликати деструкцію мембран, що виникає або внаслідок прямого первинного пошкодження структурних елементів, або внаслідок порушень клітинного метаболізму. Важкі метали, що потрапили в нефроцити, зруйнують клітинні ультраструктури та порушують метаболічні процеси. Підвищення активності лізосомальних гідролаз сприяє розвитку вторинного токсичного ефекту, що в поєднанні зі змінами активності інших ферментів і призводить до порушення функції нирок [4].

За нашими даними, субхронічна свинцево-кадмієва інтоксикація нагадує прояви нефротоксично гостро ниркової недостатності, яка виникає під впливом великих доз хлористих сполук кадмію або свинцю. Характерними ознаками такої токсичної нефропатії є різке зниження швидкості клубочкової фільтрації з накопиченням креатиніну в плазмі крові до ступеня уремії. Механізм порушення екскреторної функції нирок у даному випадку пов'язаний з ураженням проксимальних канальців, що призводить до збільшення трафіку іонів натрію і хлору в ділянку *macula densa* і активації внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи. Надалі в клітинах юктагломерулярного апарату зростає генерація ангіотензину II, який викликає тонічну конструкцію приносячих артеріол кортикальних клубочків, через що і відбувається різке зниження швидкості клубочкової фільтрації [5].

При гострому пошкодженні нирок важкими металами спочатку активуються гормональні регуля-

торні системи. Надалі канальцевий рівень регуляції функції нирок змінюється на еволюційно більш ранній – клубочковий, що зумовлено активацією ренін-ангіотензиново системи з наступним зменшенням ниркового кровотоку і клубочково фільтрації за механізмом тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку. Ступінь зниження кровотоку визначається співвідношенням ангіотензину II і простагландинів, котре модулюється системним впливом, зокрема взаємодією вазопресину і ангіотензину II на рівні циклооксигеназно системи окислювального метаболізму арахідоново кислоти [5].

Меншою мірою виражені, але подібні зміни діяльності судинно-клубочкового і канальцевого відділів нефронів ми спостерігали при субхронічній свинцево-кадмієвій інтоксикації. Отже, кадмій і свинець потенціюють нефротоксичну дію один одного, що призводить до суттєвого погіршення функціонального стану нирок навіть за ді невеликих доз зазначених металів. Серед компонентів корегувального комплексу, який пропонується нами для прискорення процесів відновлення функціонального стану нирок при свинцево-кадмієвій інтоксикації, нефропротекторною дією володіють вітамін Е, ліолева і ліолонова кислоти, тоді як такі біологічно активні речовини як β -каротин, лецитин і 28-стеарат здатні прискорювати процеси компенсаторно гіпертрофі за рахунок стимуляції внутрішньоклітинних механізмів репаративно регенерації.

ВИСНОВКИ При субхронічній мікстовій свинцево-кадмієвій інтоксикації у білих щурів впродовж 42 діб формується ниркова недостатність, яка характеризується порушенням діяльності судинно-клубочкового апарату (різке зниження швидкості клубочково фільтрації) і канальцевого відділу (при-

гнічення проксимального транспорту іонів натрію) нефронів, що призводить до розвитку помірно ретенційно гіперазотемії і гіпонатріємії. Застосування корегувально суміші усуває порушення екскреторно функції нирок внаслідок розриву тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку через покращання діяльності проксимальних ниркових канальців, що забезпечує підвищення швидкості клубочково фільтрації і виведення з організму азотистих метаболітів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Быков А.А. Оценка риска загрязнения окружающей среды свинцом для здоровья детей в России / А.А. Быков, Б.А. Ревич // Медицина труда и промышленная экология. – 2001. – № 5. – С. 6-10.
2. Додина Л.Г. Эффективность антиоксидантов и адаптогенов в повышении защитных реакций организма при воздействии факторов производственной и окружающей среды /Л.Г. Додина, Е.Е. Агамова // Медицина труда и промышленная экология. – 2000. – № 2. – С. 28-30.
3. Токсичність і мутагенна активність важких металів – забруднювачів ґрунту / Іутинська Г.О., Петруша З.В., Іваниця В.А. [та ін.] // Соврем. пробл. токсикол. – 2000. – № 2. – С. 53-56.
4. Свинец и его действия на организм / А.И. Корбакова, Н.С. Соркина, Н.Н. Молодкина [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. – 2001. – № 5. – С. 29-33.
5. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок : автореф. дис. на здобуття вчен. ступеня докт. мед. наук : спец. 14.03.04 "Патологічна фізіологія" // О.Л. Кухарчук. – Одеса, 1996. – 37 с.
6. Наточин Ю.В. Архитектура физиологических функций: тот же фундамент, новые грани / Ю.В. Наточин // Российский физиологический журнал им. И.П. Сеченова. – 2002. – Том 88, № 2. – С. 129-143.
7. Особенности комбинированного действия свинца, меди и цинка / О.Ф. Рослый, С.Г. Домнин, Т.И. Герасименко, А.А. Федорук // Медицина труда и промышленная экология. – 2000. – № 10. – С. 28-30.

Отримано 17.12.10