

В.І. Швець, к.б.н.

## КОРЕКЦІЯ ПОРУШЕНЬ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НИРОК У ЩУРІВ З МІКСТОВОЮ СВИНЦЕВО-КАДМІЄВОЮ СУБХРОНІЧНОЮ ІНТОКСИКАЦІЄЮ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Регуляція водно-сольової рівноваги відбувається за участі нирок — основного ефекторного органу, що реалізує інтегративний гормонально-месенджерний регуляторний потенціал на судинно-клубочковому і канальцевому рівні організації ниркових функцій [10]. Водно-сольовий гомеостаз нирки підтримують через складні, взаємозв'язані механізми, регуляцію котрих здійснюють гормональні системи [4,14], що забезпечує високу ефективність збереження сталого балансу іонів натрію і води в організмі, порушення якого розвиваються при зривах в системах регуляції і можуть бути обумовлені як екстрауренальними чинниками, так й ураженням нирок [7].

Інтенсивне використання природних ресурсів призвело до прогресуючого забруднення оточуючого середовища, що в цілому ряді регіонів досягає масштабу екологічних катастроф. Навколо промислових підприємств утворюються біогеохімічні провінції з підвищеним вмістом в біосфері свинцю, фтору, ртуті, кадмію, марганця, нікелю та інших мікроелементів, котрі постійно розширюються за рахунок трансгресії полутантів повітряними і водними шляхами [2,15]. Погіршення екологічного становища призвело до зростання кількості важких металів, які потрапляють в організм людини з продуктами харчування та питною водою [5]. 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 [17]. Нефротоксична дія кожного із зазначених металів досить добре вивчена [9], однак особливості поєднаного токсичного впливу на нирки залишаються не з'ясованими.

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

### Матеріали та методи

Експерименти проведені на 50 самцях білих щурів масою тіла  $0,193 \pm 0,018$  кг. Дослідження проводили через 6 тижнів після введення хлористих сполук кадмію і свинцю (1 раз на добу впродовж двох тижнів по 0,01 мг/кг і 0,05 мг/кг, відповідно) в період розвитку поліорганичних та системних порушень [8]. Відразу після останнього введення солей важких металів щурам дослідної групи внутрішньошлунково протягом 14 діб вводили суспензію, що містила корегувальний комплекс лікарських засобів (ліно-

лева кислота — 2 мг, ліноленова кислота — 2 мг,  $\beta$ -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. Кліренс-методом оцінювали діяльність судинно-клубочкового апарату та роздільно функцію проксимального і дистального канальцевих відділів нефронів [14]. Водне навантаження проводили за 2 год до евтаназії: через металевий зонд вводили у шлункову підгірті до 30 °С водогінну воду в об'ємі 5% від маси тіла тварин. По закінченні даного етапу досліду під ефірним наркозом здійснювали декапітацію щурів. Кров збирали в охолоджені центрифужні пробірки з гепарином, центрифугували 30 хв при 3000 об./хв та відбирали плазму для визначення вмісту електролітів і креатиніну.

Концентрацію іонів натрію і калію в сечі та плазмі крові визначали методом фотометрії полум'я на "ФПЛ-1", креатиніну — за реакцією з пікриновою кислотою з реєстрацією показників екстинції за допомогою фотокolorиметра "КФК-2" і спектрофотометра "СФ-46". Вміст білка в сечі досліджували сульфасаліциловим методом. Аналіз і розрахунок функцій нирок проводили за відомими методами [14]. Для оцінки канальцевого транспорту іонів натрію розраховували абсолютну і відносну його реабсорбцію:  $RFNa^+ = FFNa^+ - ENa^+$  та  $RNa^+ = [(FFNa^+ - ENa^+) : FFNa^+] \cdot 100\%$ , де  $ENa^+$  — екскреція,  $FFNa^+$  — фільтраційний заряд натрію.

Швидкість клубочкової фільтрації визначали за кліренсом ендогенного креатиніну:  $GFR = (V \cdot U_{cr}) : P_{cr}$ , де  $GFR$  — швидкість клубочкової фільтрації,  $V$  — об'єм сечі,  $U_{cr}$  — концентрація креатиніну в сечі,  $P_{cr}$  — концентрація креатиніну в плазмі крові. Для інтегральної оцінки транспорту натрію в нирках використовували показники екскреції ( $ENa^+ = UNa^+ \cdot V$ ) іонів натрію. Реабсорбцію води визначали за формулою:  $RH_2O = [(GFR - V) : GFR] \cdot 100\%$ . Стандартизацію показників функцій нирок прово-

дили перерахунком їх 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 та їх обговорення

Результати дослідження наведені у таблиці. Через 6 тижнів після комбінованого введення хлористих сполук свинцю і кадмію діурез у дослідних шурів не відрізнявся від контролю. Водночас швидкість клубочкової фільтрації зменшувалась у 2,1 рази, 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 ушкодження ниркових каналців свідчило, перш за все, значне збільшення стандартизованої за об'ємом клубочкового фільтрату екскреції білка — даний показник був у 15,7 рази вищим за контрольні величини. Крім того, в 6,4 рази зростала стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації екскреція іонів натрію, що призводило до суттєвого зменшення концентрації останніх у плазмі крові. Ушкодження систем транспорту іонів натрію було локалізованим на рівні проксимальних каналців, оскільки проксимальна реабсорбція іонів натрію зменшувалась на 15,8%, тоді як їхній дистальний транспорт, навпаки, підвищувався на 70,5%.

Застосування корегувального комплексу практично не впливало на показники індукованого водного діурезу у шурів зі свинцево-кадмієвою інтоксикацією, проте швидкість клубочкової фільтрації зростала у 2,8 рази, що призводило до зменшення концентрації креатиніну в плазмі крові на 35,4%. У тварин, які отримували корегувальний комплекс, швидкість клубочкової фільтрації на 28,4% перевищувала контрольний рівень, однак вміст креатиніну в плазмі теж був дещо вищим за контроль — на 15,1%. Відсутність змін з боку діурезу у шурів даної групи пояснюється підвищенням реабсорбції води на 9,2%, внаслідок чого показники каналцевого транспорту води не

відрізнялись від контрольних величин. Під впливом корегувального комплексу в 11,6 рази зменшувалась стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату екскреція білка. Через такі зміни втрати білка з сечею були лише на 35,3% більшими, ніж у тварин контрольної групи (для здорових білих шурів невисокий рівень протеїнурії є нормальним явищем).

Отже, застосування корегувального комплексу суттєво покращує діяльність судинно-гломерулярного апарата нирок у шурів 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 протеїнурії свідчить про прискорення процесів відновлення функції каналцевого ниркового епітелію.

Стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації екскреція іонів натрію за дії корегувального комплексу зменшувалась в 3,3 рази, однак залишалась вдвічі більшою за контроль. Проте таке обмеження втрат іонів натрію з сечею виявилось достатнім для нормалізації основного параметру натрієвого гомеостазу — концентрація іонів натрію в плазмі крові підвищувалась на 4,1% і не відрізнялась від контрольних величин. Підвищення вмісту іонів натрію в плазмі було асоційованим зі збільшенням їх проксимальної реабсорбції на 18,5%, внаслідок чого проксимальний транспорт цих іонів 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 каналцевого відділу нефронів у шурів зі свинцево-кадмієвою інтоксикацією, про що свідчать практично повне відновлення реабсорбції іонів натрію в проксимальних каналцях та нормалізація вмісту іонів натрію в плазмі крові. Зниження дистального транспорту іонів натрію у тварин даної групи є, скоріше за все, вторин-

ним, 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 їхньою детоксикаційною функцією. Морфологічно при тривалому впливі свинцю в нирках виявляються ознаки дистрофії різного ступеня вираженості, що обумовлено безпосередньою дією металу на нефроцити [9]. 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 каналців, поодинокі гіалінові циліндри [3]. Навіть через 2 місяці після відміни кадмію на ультраструктурному рівні виявляються поліморфізм педикул, вакуолізація цитоплазми подоцитів за рахунок розширення цистерн гранулярного ендоплазматичного ретикулула і накопичення в них дрібнозернистого електронощільного матеріалу. У епітеліоїдних клітинах юкстагломерулярного апарата виявляється помірна гіперплазія, в епітелії проксимальних і дистальних каналців — виражена зерниста дистрофія та некробіоз, у просвіті каналців накопичуються гіалінові циліндри [12]. Однією з перших лабораторних ознак хронічної 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 АТФазної транспортної системи. Підвищення рівня кадмію в крові тісно корелює з підвищенням екскреції бета-2-мікроглобуліну. Надалі, в результаті пригнічення каналцевої реабсорбції, розвиваються глюкозурія, генералізована аміноацидурія і ензимурія. Пізніше формується змішана протеїнурія, що супроводжується зниженням кліренсу ендogenous креатиніну [11,13].

Показано, що більшість важких металів здатні викликати дест-

**Вплив корегувального комплексу на функціональний стан нирок у щурів зі свинцево-кадмієвою інтоксикацією ( $x \pm Sx$ )**

Показники	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 <sub>1</sub> >0,4
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв	458,43±21,05	213,74±17,63 p<0,001	588,42±25,09 p<0,001 p <sub>1</sub> <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 <sub>1</sub> <0,001
Реабсорбція води, %	92,87±1,16	85,18±2,51 p<0,02	94,35±2,88 p>0,6 p <sub>1</sub> <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 <sub>1</sub> <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 <sub>1</sub> <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 <sub>1</sub> <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 <sub>1</sub> <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 <sub>1</sub> <0,001

Примітки: p — ступінь вірогідності змін показників у порівнянні з контролем; p<sub>1</sub> — ступінь вірогідності змін показників при порівнянні даних у дослідних групах.

рукцію мембран, що виникає внаслідок прямого первинного uszkodження її структурних елементів або за рахунок порушень клітинного метаболізму. Важкі метали, що потрапили в нефроцити, руйнують 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 [6].

За нашими даними, субхронічна свинцево-кадмієва інтоксикація нагадує прояви нефротоксичної гострої ниркової недостатності, яка виникає під впливом великих доз хлористих сполук кадмію або свинцю [16]. Характерними ознаками такої токсичної нефропатії є різке зни-

ження 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 область macula densa і активації внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи. Надалі в клітинах юктагломерулярного апарата зростає генерація ангіотензину II, який викликає тоничну констрикцію приносних артерійол кортикальних клубочків, через що і відбувається різке зниження швидкості клубочкової фільтрації [8].

При гострому uszkodженні нирок важкими металами спочатку активуються гормональні регуляторні системи. Надалі канальцевий рівень ре-

гуляції функції нирок змінюється на еволюційно більш ранній — клубочковий, що обумовлено активацією ренін-ангіотензинової системи з наступним зменшенням ниркового кровотоку і клубочкової 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 циклооксигеназної системи окислювального метаболізму арахідонової кислоти [8].

Подібні, але у меншій мірі виражені, зміни діяльності судинно-клубочкового і канальцевого відділів нефронів ми спостерігали при субхронічній свинцево-кадмієвій інтоксикації. Отже, кадмій і свинець по-

тенціюють нефротоксичну дію один одного, що призводить до суттєвого погіршення функціонального стану нирок навіть за дії невеликих доз зазначених металів. Серед компонентів корегувального комплексу, який ми використовували для прискорення процесів відновлення функціонального стану нирок при свинцево-кадмієвій інтоксикації, нефропротекторну дію мають вітамін Е, лінолева і ліноленова кислоти, тоді як  $\beta$ -каротин, лецитин і 28-стеарат здатні прискорювати

процеси компенсаторної гіпертрофії за рахунок стимуляції внутрішньоклітинних механізмів репаративної регенерації.

#### Висновок.

При субхронічній мікстовій свинцево-кадмієвій інтоксикації у білих щурів впродовж 42 діб формується ниркова недостатність, яка характеризується порушенням діяльності судинно-клубочкового апарата (різке зниження швидкості клубочкової фільтрації) і каналце-

вого відділу (пригнічення проксимального транспорту іонів натрію) нефронів, що призводить до розвитку помірної ретенційної гіперазотемії і гіпонатріємії. Застосування корегувальної суміші усуває порушення екскреторної функції нирок внаслідок розриву тубулогломерулярного зворотного зв'язку через покращення діяльності проксимальних ниркових каналців, що забезпечує підвищення швидкості клубочкової фільтрації і виведення з організму азотистих метаболітів.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Быков А.А., Ревич Б.А. Оценка риска загрязнения окружающей среды свинцом для здоровья детей в России // Медицина труда и промышленная экология. — 2001. — № 5. — С.6-10.
2. Додина Л.Г., Асамова Е.Е. Эффективность антиоксидантов и адаптогенов в повышении защитных реакций организма при воздействии факторов производственной и окружающей среды // Медицина труда и промышленная экология. — 2000. — № 2. — С.28-30.
3. Иванова Л., Мечкуева Л. Про учаания върху минералната обмяна при експериментална кадмиева интоксикация с повишен хранителен внос на калций и цинк // Хиг. и здравеопазв. — 1993. — № 1. — С.35-37.
4. Иванова Л.Н. Физиология почки и водно-солевого обмена: основные направления исследований в России // Успехи физиол. наук. — 1995. — Том 26, № 3. — С.3-13.
5. Іутинська Г.О., Петруша З.В., Іваниця В.А. та ін. Токсичність і мутагенна активність важких металів — забруднювачів ґрунту // Соврем. пробл. токсикол. — 2000. — № 2. — С.53-56.
6. Корбакова А.И., Соркина Н.С., Молодкина Н.Н. и др. Свинец и его действия на организм // Медицина труда и промышленная экология. — 2001. — № 5. — С.29-33.
7. Кришталь М.В., Трофімова І.М. Реактивність нирок при метаболічному ацидозі та її гормональні механізми // Фізіол. журн. — 1996. — Том 42, № 3-4. — С.84-85.
8. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис... доктора мед. наук: 14.03.05. — Одеса, 1996. — 37 с.
9. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. — М.: Медицина, 1991. — 496 с.
10. Наточин Ю.В. Архитектура физиологических функций: тот же фундамент, новые грани // Российский физиологический журнал им. И.П. Сеченова. — 2002. — Том 88, № 2. — С.129-143.
11. Пишак В.П., Кухарчук А.Л., Павлуник К.И. и др. Эмбриотоксическое, тератогенное и нефротоксическое сочетанное действие хлористых соединений кадмия, свинца и таллия / Праці наукової конференції "Актуальні пи-
- тання медичної допомоги населенню". — Чернівці, 1996. — С.43-46.
12. Подолян С.К. Влияние хлористых сполук важных металлов (талію, свинцю, кадмію, ртуті) на систему регуляції агрегатного стану крові і тканинний фібриноліз: Автореф. дис... канд. мед. наук: 14.03.04. — Київ, 1999. — 18 с.
13. Росльий О.Ф., Домнин С.Г., Герасименко Т.И., Федорук А.А. Особенности комбинированного действия свинца, меди и цинка // Медицина труда и промышленная экология. — 2000. — № 10. — С.28-30.
14. Рябов С.И., Наточин Ю.В. Функциональная нефрология. — СПб: Лань, 1997. — 298 с.
15. Сидоренко Г.И., Новиков С.М. Экология человека и гигиена окружающей среды на пороге XXI века // Гигиена и санитария. — 1999. — № 5. — С.3-6.
16. Хэммонд П.Б., Фолкс Э.К. Токсичность иона металла в организме человека и животных / Некоторые вопросы токсичности ионов металлов. — М.: Медицина, 1993. — С.131-165.
17. Цапко Е.В., Салий Н.С., Гумен М.П., Петрищенко Л.Н. Поступление свинца и кадмия в организм человека с пищевым рационом // Рациональное питание. — Киев, 1991. — Вып.26. — С.119-122.

V.I.Shvets

#### КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧЕК У КРЫС С МИКСТОВОЙ СВИНЦОВО- КАДМИЕВОЙ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ

Установлено, что при субхронической микстовой свинцево-кадмиевой интоксикации у белых крыс в течении 42 суток формируется почечная недостаточность, которая характеризуется нарушением деятельности сосудисто-клубочкового аппарата (резкое снижение скорости клубочковой фильтрации) и каналцевого отдела (угнетение проксимального транспорта ионов натрия) нефронов, что приводит к развитию умеренной ретенционной гиперазотемии и гипонатриемии. Применение корегурующей смеси устраняет нарушение экскреторной функции почек влествии развития тубулогломерулярной возвратной связи через улучшение деятельности проксимальных почечных каналцев, что обеспечивает повышение скорости клубочковой фильтрации и выведение из организма азотистых метаболитов.

V.I.Shvets

#### A CORRECTION OF RENAL DYSFUNCTIONS IN RATS WITH MIXED PLUMBUM-CADMIIUM SUB- CHRONIC INTOXICATION

It has been established that with mixed plumbum-cadmium intoxication in albino rats there develops renal failure, that is characterized by a disturbance of the activity of the vascular-glomerular apparatus (a sharp decrease of the glomerular filtration rate) and the tubular portion (inhibited proximal transport of sodium ions) nephrons, resulting in the development of moderate retentional hyperazotemia and hyponatremia. The use 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.