

© А.И.Гоженко, С.И.Доломатов, Л.В.Гончарова, Е.А.Доломатова, 2004
УДК [616.61:66.062.411].001.5

А.И. Гоженко, С.И. Доломатов, Л.В. Гончарова, Е.А. Доломатова

НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧЕК КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТОГО УГЛЕРОДА

A.I. Gozhenko, S.I. Dolomatov, L.V. Goncharova, E.A. Dolomatova

IMPAIRMENTS OF THE FUNCTIONAL STATE OF RATS' KIDNEYS AFTER INJECTION OF CARBON TETRACHLORIDE

Кафедра общей и клинической патологической физиологии Одесского государственного медицинского университета, Украина

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬЮ ИССЛЕДОВАНИЯ было изучение деятельности почек белых крыс в острый период поражения печени четыреххлористым углеродом. **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** В работе использованы беспородные белые крысы-самцы с массой тела 95–120 г. Четыреххлористый углерод вводили подкожно в количестве 0,5 мл на 100 г массы тела. Исследования функции почек проводили через 24 часа после введения CCl_4 в условиях водной нагрузки в объеме 5% от массы тела. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Установлено, что введение CCl_4 приводит к достоверному снижению величины клиренса креатинина, почечного выделения эндогенных нитритов, нитратов и кальция. Вместе с тем зарегистрировано увеличение экскреции осмотически активных веществ, белка и фосфатов. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Введение четыреххлористого углерода приводит к достоверным изменениям показателей функции почек. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что выявленные отклонения в деятельности почек обусловлены, главным образом, нарушениями канальцевого транспорта на уровне нефрона, что проявляется в увеличении почечной экскреции белка, фосфатов и осмотически активных веществ, а также в снижении концентрационно-го индекса креатинина и сопровождаются снижением скорости клубочковой фильтрации.

Ключевые слова: почки, четыреххлористый углерод, повреждения, эксперимент.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to study the functioning of the white rats' kidneys in the acute period of damage of the liver with carbon tetrachloride. **MATERIALS AND METHODS.** White male rats with body mass 95-120 g were given subcutaneous injections of carbon tetrachloride in dosage 0.5 ml per 100 g of body mass. The investigation of the renal function was performed in 24 hours after injection of CCl_4 under conditions of water load (5% of body mass). **RESULTS.** It was found that injection of CCl_4 resulted in a reliable diminution of the value of creatinin clearance, renal excretion of endogenous nitrites, nitrates and calcium. At the same time an increased excretion of osmotically active substances, protein and phosphates was registered. **CONCLUSION.** Injection of carbon tetrachloride results in reliable alterations of indices of renal functions. The results obtained allow a suggestion that the revealed declinations in renal functioning were mainly due to the impaired calcium transport at the nephron level which manifested itself as the increased renal excretion of protein, phosphates and osmotically active substances as well as the decreased concentration index of creatinin and are accompanied by a reduced glomerular filtration rate.

Key words: kidneys, carbon tetrachloride, impairments, experiment.

ВВЕДЕНИЕ

Экспериментальные и клинические наблюдения показали, что печень млекопитающих оказывает непосредственное влияние на показатели деятельности почек через гуморальные [1,2] и рефлекторные [3,4] пути регуляции физиологических функций. По данным литературы, нарушение функционального состояния печени является одним из важнейших факторов, вызывающих существенную перестройку водно-солевого обмена и деятельности почек [4]. Наблюдаемые при этом вторичные изменения функции почек получили название гепато-ренального синдрома [5]. Опубликованные данные свидетельствуют о том, что при гепатитах и циррозах параллельно степени печеночной недостаточности развиваются сдвиги гомеостатических функций почек [1], однако

функциональное состояние почек в острый период поражения печени изучено недостаточно. В связи с чем разработка экспериментальных моделей гепаторенального синдрома требует более глубокого изучения. Поэтому нами было проведено изучение деятельности почек белых крыс в острый период поражения печени четыреххлористым углеродом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы беспородные белые крысы-самцы с массой тела 95-120 г. Четыреххлористый углерод вводили подкожно в количестве 0,5 мл на 100 г массы тела. Через 24 часа после введения CCl_4 натошак животным контрольной (n=10) и экспериментальной (n=10) групп внутривенно вводили отстоявшуюся водо-

Таблица 1

Показатели ($\bar{X} \pm m$) функционального состояния почек крыс в условиях водной нагрузки через 24 часа после введения CCl_4 в количестве 0,5 мл/100 г массы тела

Исследуемые показатели	Введение CCl_4 , n=10	Контроль, n=10
Диурез, мл/ч/100 г м.т.	1,87±0,3	1,80±0,4
Белок мочи, г/л	0,069±0,007p<0,01	0,030±0,008
Экскреция белка, мг/ч/100 г м.т.	0,129±0,011p<0,01	0,051±0,009
Креатинин мочи, ммоль/л	2,06±0,27	1,66±0,20
Экскреция креатинина, ммоль/ч/100 г м.т.	3,86±0,64	3,00±0,57
Концентрационный индекс креатинина, ед.	16,5±0,22p<0,01	20,7±0,19
Осмоляльность мочи, мосм/кг H_2O	166±11p<0,01	93±7
Экскреция осмотически активных веществ, мосм/ч/100 г м.т.	0,39±0,04p<0,01	0,20±0,02
Нитриты мочи, ммоль/л	1,4±0,2	1,9±0,4
Экскреция нитритов, ммоль/ч/100 г м.т.	0,0021±0,0002p<0,05	0,0035±0,0003
Нитраты мочи, ммоль/л	6,2±0,3	7,3±0,5
Экскреция нитратов, ммоль/ч/100 г м.т.	0,0109±0,0006p<0,05	0,0137±0,0007
Фосфаты мочи, ммоль/л	6,1±0,4p<0,05	4,6±0,6
Экскреция фосфатов, ммоль/ч/100 г м.т.	11,4±0,2p<0,01	7,7±0,2

Таблица 2

Биохимические показатели ($\bar{X} \pm m$) плазмы крови крыс в условиях водной нагрузки через 24 часа после введения CCl_4 в количестве 0,5 мл/100 г массы тела

Исследуемые показатели	Введение CCl_4 , n=10	Контроль, n=10
Креатинин плазмы крови, ммоль/л	125±15p<0,01	80±7
Осмоляльность плазмы крови, мосм/кг H_2O	298±3	300±2
Нитриты плазмы крови, ммоль/л	3,9±0,5p<0,05	5,1±0,4
Нитраты плазмы крови, ммоль/л	2,4±0,3p<0,01	8,5±0,5
Фосфаты плазмы крови, ммоль/л	2,13±0,14	2,08±0,09
Клиренс креатинина, мл/мин	514±19p<0,01	621±11
Реабсорбция осмотически активных веществ, %	99,61±0,01p<0,01	99,74±0,01

Примечания: n – число наблюдений, p – показатель достоверности межгрупповых отличий.

проводную воду в объеме 5% от массы тела. Мочу собирали в течение 2 часов, затем проводили декапитацию животных под легкой эфирной анестезией, собранную кровь стабилизировали гепарином. В полученных образцах крови и мочи определяли: осмоляльность криоскопическим методом на осмометре модели 3D3 (США), концентрацию креатинина фотометрическим методом в реакции с пикриновой кислотой на спектрофотометре СФ-46 (Россия), концентрацию нитритов и нитратов в реакции с реактивом Грисса фотометрическим методом, концентрацию фосфатов в реакции с молибденовым реактивом фотометрическим методом, концентрацию кальция фотометрически с использованием наборов фирмы Bioson (ФРГ), концентрацию белка в моче определяли фотометрическим методом в реакции с сульфосалициловой кислотой. Величины почечной экскреции анализируемых веществ и результаты клиренс-методов исследований рассчитывали в соответствии с формулами, предложенными Ю.В. Наточиным (1974) и выражали в абсолютных величинах или на 100 г массы тела. Статистический анализ полученных результатов проводили общепринятым методом с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что через 24 часа после подкожного введения крысам CCl_4 в количестве 0,5 мл на 100 г м.т. регистрируются отчетливые признаки нарушения функции почек (табл.1). Отметим, что, хотя показатели диуреза не имеют достоверных межгрупповых отличий, концентрация белка и величина его экскреции у экспериментальных животных достоверно повышаются. Также выявлено увеличение осмоляльности мочи и экскреции осмотически активных веществ. Установлено, что токсическое поражение печени приводит к достоверному росту экскреции фосфатов, в то время, как выделение кальция резко снижается на фоне незначительных изменений концентраций данных веществ в плазме крови (табл. 2). Одновременно установлено, что показатели экскреции эндогенных нитритов и нитратов у экспериментальных животных ниже контрольного уровня. При этом следует принять во внимание, что введение CCl_4 приводит к уменьшению содержания окислов азота в плазме крови. Между тем расчеты, проведенные с использованием клиренс-методов, показывают, что на фоне токсического поражения печени величина клиренса креатинина достоверно ниже, чем в контрольной группе крыс.

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным литературы, патологические процессы, протекающие в печени, способны оказывать прямое влияние на функциональное состояние почек, что проявляется в изменении параметров почечного кровотока, скорости клубочковой фильтрации и канальцевого транспорта веществ [4]. Такие нарушения носят вторичный характер по отношению к основному заболеванию и наиболее отчетливо проявляются при использовании функциональных нагрузочных проб [6]. Как показывают результаты наших исследований, токсическое поражение печени четыреххлористым углеродом вызывает отчетливое нарушение деятельности почек, что проявляется в снижении величины клиренса креатинина, повышении экскреции белка и осмотически активных веществ. Необходимо отметить, что патогенетические механизмы зарегистрированных особенностей функции почек в условиях интоксикации организма CCl_4 не изучены. Нельзя исключить возможность прямого поражения почечной паренхимы, однако, уместно подчеркнуть, что найденные нами сдвиги, с одной стороны, носят умеренный характер, а с другой стороны, присутствуют признаки адекватной реакции внутрипочечных систем ауторегуляции в ответ на изменение транспортных процессов в нефроне. Более детальный анализ исследуемых показателей указывает на то, что снижение скорости клубочковой фильтрации, скорее всего, не обусловлено прямым поражением сосудисто-клубочкового аппарата нефрона. В пользу таких рассуждений можно привести следующие аргументы: установлено, что в группе экспериментальных животных зарегистрировано достоверное увеличение экскреции фосфатов. Известно, что основная часть неорганических фосфатов из люминальной жидкости реабсорбируется в проксимальном отделе нефрона [7]. Следовательно, совокупность таких признаков, как повышение экскреции фосфатов и белка [8], свидетельствует о том, что в условиях водной нагрузки у экспериментальных животных имеет место снижение проксимального транспорта веществ. Поэтому, в свою очередь, снижение клиренса креатинина, по нашему мнению, может указывать на адаптивный характер данного явления, направленного на уменьшение канальцевой загрузки веществ и предотвращение почечных потерь [9]. Действительно, на более выраженный характер нарушений функционального состояния канальцевого отдела нефрона, по сравнению с сосудисто-клубочковым аппаратом, указывает также снижение показателя реабсорбции воды и концентрационного индекса креатинина. По данным литературы, более

низкий уровень концентрационного индекса креатинина является признаком снижения концентрирующей способности почки [10]. Возможно, достоверный прирост экскреции осмотически активных веществ и более низкие параметры реабсорбции воды в группе экспериментальных животных являются следствием перегрузки транспортных возможностей дистального отдела нефрона на фоне снижения проксимальной реабсорбции веществ. В то же время имеются данные о том, что у пациентов с патологическим нарушением печени закономерно регистрируется перестройка дистального транспорта осмотически активных веществ [2]. По мнению авторов, такая особенность функции почек зависит от тяжести основного заболевания и обусловлена изменениями гепато-ренального клиренса альдостерона, влияющего на интенсивность реабсорбции натрия нефроцитами дистального сегмента нефрона. В свою очередь, включение почечного функционального резерва, т.е. увеличение фильтрационной загрузки катиона, сопровождается у таких пациентов ростом почечных потерь натрия [6]. По нашему мнению, следует обратить внимание на снижение почечной экскреции и концентрации в плазме крови нитритов и нитратов у крыс в экспериментальной группе. Сопоставление данных показателей указывает на то, что более низкие параметры почечного выделения неорганических окислов азота, скорее всего, отражают снижение системной продукции данных веществ – основных метаболитов молекулы оксида азота [11]. Актуальность изучения состояния цикла оксида азота для клинической оценки тяжести хронических заболеваний печени подтверждена данными литературы [1], однако динамика концентрации нитритов и нитратов в плазме крови и их почечной экскреции в период острой фазы требует более глубокого исследования. Не отрицая возможного прямого токсического эффекта CCl_4 на эндотелий, мы можем сделать вывод о том, что поражение печени в данных условиях приводит к значительному изменению цикла оксида азота. По данным литературы, ингибция Mn^{2+} -зависимой аргиназы печени сопровождается отчетливым снижением системной продукции NO, а также изменением показателей гемодинамики и функции почек [12]. Кроме того, полученные результаты указывают, что снижение концентрации нитратов плазмы крови носит более выраженный характер, чем нитритов, на фоне незначительных отличий показателей почечной экскреции данных веществ. Такие наблюдения могут свидетельствовать о том, что наряду с ослаблением синтеза NO под влиянием четыреххлористого углерода имеет место

изменение скорости их окисления в цепочке превращений $\text{NO} \rightarrow \text{NO}^{2-} \rightarrow \text{NO}^{3-}$. Эти данные указывают на то, что в условиях используемой экспериментальной модели снижение системной продукции NO сопровождается адаптивными изменениями в регуляции цикла оксида азота, направленными на поддержание оптимальных концентраций физиологически активного метаболита NO – нитритов во внеклеточной жидкости организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение четыреххлористого углерода приводит к достоверным изменениям показателей функции почек. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что выявленные отклонения в деятельности почек обусловлены, главным образом, нарушениями канальцевого транспорта на уровне нефрона, что проявляется в увеличении почечной экскреции белка, фосфатов и осмотически активных веществ, а также в снижении концентрационного индекса креатинина и сопровождаются снижением скорости клубочковой фильтрации.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Hori N, Okanoue T, Mori T et al. Endogenous nitric oxide production is augmented as the severity advances in patients

with liver cirrhosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1996; 23(1): 30-35

2. Jespersen B, Eiskjaer H, Jensen JD et al. Effects of high dose atrial natriuretic peptide on renal haemodynamics, sodium handling and hormones in cirrhotic patients with and without ascites. *Scand J Clin Lab Invest* 1995; 55(4): 273-287

3. Финкинштейн ЯД. Осморегулирующая система организма высших животных. Наука, Новосибирск; 1983

4. Lang F, Tschernko E, Haussinger D. Hepatic regulation of renal function. *Exp Physiol* 1992; 77(5): 663-673

5. Roberts LR, Kamath PS. Ascites and hepatorenal syndrome: pathophysiology and management. *Mayo Clin Proc* 1996; 71(9): 874-881

6. De-Santo NG, Anastasio P, Loguercio C et al. Glucagon-independent renal hyperaemia and hyperfiltration after an oral protein load in Child A liver cirrhosis. *Eur J Clin Invest* 1992; 22(1): 31-37

7. Murer H, Hernando N, Forster I, Biber J. Proximal tubular phosphate reabsorption: molecular mechanisms. *Physiol Rev* 2000; 80(4):1373-1409

8. Ратнер МЯ, Серов ВВ, Томилина НА. Ренальные дисфункции. Медицина, М., 1977

9. Гоженко АИ. Энергетическое обеспечение основных почечных функций и процессов в норме и при повреждении почек: Дис... д-ра мед. наук. Черновцы;1987

10. Шюк О. Функциональное исследование почек. Авиценум, Прага;1981

11. Wennmalm A, Benthin G, Edlund A. Metabolism and excretion of nitric oxide in humans. An experimental and clinical study. *Circ Res* 1993;73: 1121-1127

12. Sabbatini M, Pisani A, Uccello F. Arginase inhibition slows the progression of renal failure in rats with renal ablation. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 284(4):F680-F687

Поступила в редакцию 26.08.2003 г.