

© А.Ю.Жариков, О.С.Талалаева, Я.Ф.Зверев, В.В.Лампатов, О.В.Азарова, А.В.Кудинов, Ю.Г. Мотин, 2010
УДК 616.613-003.7-08.272]-092.4

*А.Ю. Жариков¹, О.С. Талалаева¹, Я.Ф. Зверев¹, В.В. Лампатов¹,
О.В. Азарова², А.В. Кудинов¹, Ю.Г. Мотин³*

РОЛЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ ТЕРАПИИ В ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НЕФРОЛИТИАЗА

*A.Yu. Zharikov, O.S. Talalaeva, Ya.F. Zverev, V.V. Lampatov, O.V. Azarova,
A.V. Kudinov, Yu.G. Motin*

THE ROLE OF ANTIOXIDANT THERAPY IN EXPERIMENTAL PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF NEPHROLITHIASIS

¹Кафедра фармакологии Алтайского медицинского университета, ²кафедра общей химии Алтайского медицинского университета, ³кафедра гистологии Алтайского медицинского университета, г. Барнаул, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬЮ РАБОТЫ явилось изучение влияния α -токоферола ацетата, классического антиоксиданта, на течение экспериментального нефролитиаза. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Самцы крыс Wistar на протяжении 3 нед получали в виде питья 1% раствор этиленгликоля, затем, в течение последующих 3 нед, на фоне продолжавшегося применения этиленгликоля им вводился внутрь масляный раствор α -токоферола ацетата в дозе 300 мг/кг. В моче, собранной за сутки, определяли концентрацию оксалата, кальция и фосфата, pH мочи, а также активность маркерных ферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ), γ -глутамилтрансферазы (ГГТ) и N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы (НАГ). На 24-й и 42-й дни эксперимента определяли показатели активности процесса свободно-радикального окисления в почках крыс, гистохимически методом Косса на почечных срезах крыс идентифицировали кальций-позитивные отложения. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Применение α -токоферола ацетата обусловило существенное облегчение течения экспериментального нефролитиаза. В значительной степени подавлялся оксидативный стресс; уменьшалась до нормальных значений активность маркерных ферментов; более чем на 60% снижалась концентрация в моче оксалат-ионов, а также снижалась до уровня, соответствующего здоровым крысам, концентрация в моче ионов кальция. Кроме того, наблюдался сдвиг pH мочи в щелочную сторону. Эти изменения привели к существенному уменьшению количества и размеров кальциевых депозитов в почках. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** В результате проведенных экспериментов установлена важная роль антиоксидантной терапии в фармакологической коррекции экспериментального нефролитиаза.

Ключевые слова: нефролитиаз, фармакологическая коррекция, антиоксидантная терапия, α -токоферола ацетат.

ABSTRACT

THE AIM. The study was undertaken to study the influence of α -tocopherol acetate, a classical anti-oxidant, in the course of experimental nephrolithiasis. **MATERIAL AND METHODS.** Wistar male rats for 3 weeks were given as a drink 1% solution ethylene glycol, then, within the next 3 weeks, amid continued use of ethylene glycol the oil solution of α -tocopherol acetate 300 mg / kg was injected. In the urine collected per day, measured the concentration of oxalate, calcium and phosphate, pH of urine and the activity of marker enzymes lactatdehydrogenase (LDH), γ -glutamyltransferase (GGT) and N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG). On the 24-th and 42-th days of the experiment was determined by the activity rate of free radical oxidation in the rat kidney. Histochemical method by Coss has been used for determination calcium-positive deposits on kidney slices of rats. **RESULTS.** Application of α -tocopherol acetate caused significant relief during the trial of nephrolithiasis. To a large extent suppressed by oxidative stress, decreased to normal values of the activity of marker enzymes, more than 60% decreased the concentration in urine oxalate ions, and decreased to the level corresponding to the healthy rats, the concentration in urine of calcium ions. In addition, pH urine it was displaced in an alkaline side. These changes resulted in a significant decrease in the number and size of calcium deposits in the kidneys. **CONCLUSION.** As a result of experiments established the important role of antioxidant therapy in the pharmacological correction of experimental nephrolithiasis.

Key words: nephrolithiasis, pharmacological correction, antioxidant therapy, α -tocopherol acetate.

ВВЕДЕНИЕ

В конце XX в. сформировался значительный интерес к изучению роли свободно-радикального

окисления (СРО) в патогенезе оксалатного нефролитиаза. Несмотря на разрозненность толкований причин оксидативного стресса, сегодня общепризнано, что активные формы кислорода (АФК) вносят весьма существенный вклад в литогенные процессы, нарушая целостность уротелия в тонком

Зверев Я.Ф. 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 40, Алтайский медицинский университет, кафедра фармакологии; Тел.: (3852) 26-08-35; E-mail: zverev@asmu.ru

отделе петли Генле, где начинается процесс камнеобразования, и в просвете собирательных трубок, где окончательно формируется ядро precipitation [1]. Кроме того, установлено, что АФК провоцируют структурную перестройку молекул ингибиторов кристаллизации, в первую очередь – протеина Тамма–Хорсфалла, что приводит к утрате их антилитогенных свойств [2, 3]. Описанные процессы создают условия, при которых под влиянием пересыщенной нерастворимыми биоминералами мочи образуются почечные конкременты [1]. Данные, подтверждающие взаимосвязь активации в почках СРО и развития оксалатного нефролитиаза, были получены ранее и в нашей лаборатории. Оказалось, что при моделировании экспериментального нефролитиаза наблюдались характерные признаки оксидативного стресса, а также ослабление антиоксидантной защиты в почках, сопровождавшиеся отложением в зоне почечного сосочка кальций-позитивных депозитов [4]. В связи с этим перспективным, на наш взгляд, направлением фармакологической коррекции оксалатного нефролитиаза может стать применение лекарственных препаратов, обладающих антиоксидантной активностью. Однако экспериментальных данных, способных внести ясность относительно эффективности антиоксидантной терапии, сегодня недостаточно. Поэтому мы решили изучить влияние α -токоферола ацетата, классического антиоксиданта, на течение экспериментального нефролитиаза, что и явилось целью настоящего исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводились на 30 самцах крыс линии Wistar, находившихся в индивидуальных клетках, приспособленных для сбора мочи, в условиях стандартной диеты. Согласно общепринятой схеме моделирования экспериментального нефролитиаза на протяжении 3 нед животные получали в виде питья 1% раствор этиленгликоля (ЭГ) [5–7]. Затем в течение последующих 3 нед на фоне продолжавшегося применения ЭГ крысам ежедневно вводился внутрь масляный раствор α -токоферола ацетата в дозе 300 мг/кг. На протяжении всего эксперимента один раз в 3–4 дня в моче, собранной за сутки, определялась концентрация ионов Ca^{2+} , PO_4^{3-} , $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, а также креатинина. Оксалат-ионы в моче определялись методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В качестве элюентов использовались 0,1% раствор серной кислоты и 80% ацетонитрил при градиенте последнего от 0 до 100%. Скорость подачи элюентов – 100 мкл/мин, объем элюирования – 1000 мкл, температура хроматографической колонки – 35°C.

Детекцию осуществляли при длине волны $\lambda=210$ нм. Расчеты проводили по методу сравнения со стандартом, используя для построения калибровочного графика раствор оксалат-ионов в концентрации 1 мг/мл (фирма «Fluka»). Ионы кальция в моче определяли методом фотоэлектроколориметрии (ФЭК) по реакции с о-крезолфталейн-комплексом при длине волны $\lambda=590$ нм. Фосфат-ионы в моче также определяли методом ФЭК. В основе данной методики лежит реакция образования фосфорно-молибден-ванадиевого комплекса, имеющего характерную желтую окраску, которая детектируется при длине волны $\lambda=440$ нм.

Кроме того, каждые 7 дней проводилось определение активности в моче маркерных ферментов повреждения почечного эпителия: лактатдегидрогеназы – ЛДГ (КФ1.1.1.27), γ -глутамилтрансферазы – ГГТ (КФ2.3.2.2), N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы – НАГ (КФ3.2.1.52). Активность ЛДГ определялась методом спектрофотометрии при длине волны $\lambda=340$ нм. В основе метода лежит реакция восстановления пирувата до молочной кислоты. Эта реакция катализируется ЛДГ, а ее скорость пропорциональна активности фермента. Каталитическая активность ГГТ, для измерения которой использовался метод ФЭК, рассчитывалась пропорционально количеству n-нитроанилина, образующегося в результате реакции взаимодействия L- γ -глутамил-3-карбоксит-4-нитроанилида и глицилглицина. Детектирование n-нитроанилина осуществляли на фотоэлектроколориметре при длине волны $\lambda=400$ нм. Определение НАГ проводилось по модифицированной методике Maruch [8]. Согласно этой методике активность НАГ пропорциональна количеству n-нитрофенола, образующегося в результате реакции гидролиза n-нитро-N-ацетил- β -глюкозамида, которую катализирует указанный фермент. Измерение количества n-нитрофенола производилось спектрофотометрически при длине волны $\lambda=400$ нм. Активность всех определяемых ферментов рассчитывалась относительно концентрации креатинина в моче, выражавшейся в мг/л, и обозначалась в единицах, как U/мг креатинина.

На 21-й и 42-й день эксперимента часть крыс подвергались декаптации путем дислокации шейного позвонка под эфирным наркозом с соблюдением требований Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей» (Страсбург, 1986 г.) и Федерального закона Российской Федерации «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г. У декапированных крыс изымались почки, которые служили матери-

Таблица 1

Влияния α -токоферола ацетата в дозе 300 мг/кг на показатели свободно-радикального окисления в условиях экспериментального нефролитиаза, $\bar{X} \pm m$

ТБРП, мкмоль	ОПА, %	КАТ, %	СОД, %	ГПО, %	ОАА, %
Интактные					
7,3 $\pm$ 0,40	54,3 $\pm$ 2,36	13,2 $\pm$ 0,66	19,6 $\pm$ 1,85	45,2 $\pm$ 1,89	20,9 $\pm$ 2,69
3 нед. заболевания					
12,9 $\pm$ 1,03*	66,8 $\pm$ 1,67*	15,5 $\pm$ 1,06	18,4 $\pm$ 1,90	30,1 $\pm$ 1,85*	18,2 $\pm$ 1,73
3 нед. лечения					
<u>2,9$\pm$0,30*</u>	<u>54,2$\pm$3,89</u>	<u>11,8$\pm$1,05</u>	<u>11,9$\pm$0,86</u>	<u>20,3$\pm$1,77*</u>	<u>38,4$\pm$4,18*</u>

Примечание. Здесь и в табл. 2 – звездочками обозначены достоверные изменения относительно интактных значений; подчеркнуты достоверные изменения относительно 3-й недели заболевания.

алом для изучения активности процессов СРО, а также для морфологических исследований.

Активность процессов СРО оценивали по совокупности показателей оксидантного и антиоксидантного статуса, которые определялись в гомогенате коркового вещества почек. Суммарный показатель концентрации всех прооксидантов и свободно-радикальных метаболитов – общую прооксидантную активность (ОПА) – оценивали по интенсивности окраски флюоресцентного комплекса, образующегося при взаимодействии продуктов перекисного окисления ТВИН-80 с тиобарбитуровой кислотой. Дополнительно определяли концентрацию в ткани малонового диальдегида (МДА) и других тиобарбитуратреактивных продуктов окисления жирных кислот (ТБРП). Для оценки антиоксидантного статуса клеток определяли показатели общей антиоксидантной активности (ОАА) и активности антиоксидантных ферментов: каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГПО). ОАА оценивали по степени ингибирования Fe^{2+} /аскорбат-индуцированного окисления ТВИН-80 гомогенатом ткани (гемолизатом эритроцитов). Активность КАТ определяли по подавлению ферментом окисления молибдата натрия перекисью водорода. Активность СОД оценивали по содержанию в пробе нитроформазана, окрашенного продукта восстановления нитротетразолия супероксидными радикалами. Маркером активности ГПО служило определение неокисленного глутатиона по цветной реакции с реактивом Элмана.

Морфологические исследования проводились при помощи метода светоптической микроскопии. В качестве фиксирующей жидкости применялся 10% раствор формалина. Для оценки изменений коркового и мозгового веществ почки срезы ткани толщиной 4–6 мкм окрашивались гематоксилином

и эозином. На срезах толщиной 10–15 мкм гистохимическим методом Косса определялось наличие соединений кальция и проводилось морфометрическое исследование величины выявленных депозитов и их количества.

Полученные результаты обрабатывали статистическим методом вариационных рядов с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные эксперименты показали, что в результате трехнедельного применения ЭГ были зафиксированы характерные признаки развития оксалатного нефролитиаза. Учитывая специфичность цели, поставленной в исследовании, в первую очередь акцентировали внимание на активации процессов СРО. Как видно из табл. 1, пик экспериментальной патологии сопровождался мощным оксидативным стрессом, при котором почти в 2 раза увеличилась концентрация в почках ТБРП и на 12,5% возросла ОПА. Кроме того, наблюдалось снижение в 1,5 раза активности ГПО, одного из основных антиоксидантных ферментов, что свидетельствует об ослаблении антиоксидантной защиты в тканях почек.

По современным представлениям, усиление свободно-радикальной активности при нефролитиазе напрямую коррелирует с пересыщением мочи оксалат-ионами [1]. В проведенных нами экспериментах были получены результаты, хорошо согласующиеся с данной точкой зрения. Из данных, представленных в табл. 2, следует, что уже на 3-й день от начала эксперимента концентрация оксалатов в моче крыс составила 1,2 $\pm$ 0,12 мг/мл, тогда как у интактных животных анионы щавелевой кислоты в моче не обнаруживались. В дальнейшем, на протяжении всего периода моделирования нефролитиаза, величина данного показателя находилась на стабильно высоком уровне в 1,0–1,4 мг/мл, что позволяет сделать вывод о выраженном пересыщении мочи ионами $C_2O_4^{2-}$.

Одновременно были зафиксированы определенные признаки пересыщения мочи ионами кальция. Из той же табл. 2 видно, что у здоровых животных в 1 мл мочи в среднем содержалось 0,8 $\pm$ 0,04 мкмоль катионов Ca^{2+} . Однако параллельно с началом применения ЭГ сформировалась тенденция к увеличению мочевого содержания данного электролита, в результате чего к исходу третьей недели эксперимента она выросла на 53% ($p < 0,001$).

Таблица 2

Влияния α -токоферола ацетата в дозе 300 мг/кг на показатели функции почек у крыс в условиях экспериментального нефролитиаза, $\bar{X} \pm t$

Дни эксперимента	Диурез, мл/сутки	Оксалат, мг/мл	Фосфат, мг/мл	Кальций, мкмоль/мл	Ph	Сг, ммоль/ сутки	ЛДГ	ГГТ	НАГ×10 ⁻³
Интактные	4,7±0,51	-	7,6±0,18	0,8±0,04	5,8±0,25	7,5±0,27	0,25±0,009	0,25±0,026	6,7±0,56
Моделирование нефролитиаза									
3-й	5,0±0,68	1,2±0,12*	6,7±0,32	1,7±0,10*	5,7±0,15	5,1±0,29*	0,33±0,025*	0,29±0,036	11,0±1,40*
7-й	5,5±1,70	1,0±0,10*	7,3±0,50	0,9±0,03	5,9±0,28	7,2±0,71			
10-й	4,4±0,82	1,1±0,12*	8,9±0,49*	1,1±0,10*	5,9±0,23	6,5±0,60			
14-й	4,9±1,13	1,4±0,09*	7,3±0,38	Не опре- делялось	5,6±0,06	7,9±0,56			
17-й	6,2±1,57	1,3±0,20*	8,6±0,52*	1,0±0,09*	5,9±0,13	8,3±0,93	0,61±0,040*	0,36±0,022*	11,0±1,18*
21-й	4,5±0,72	1,1±0,08*	7,9±0,33	1,2±0,07*	5,9±0,15	7,6±0,45			
Лечение									
3-й	5,5±0,91	1,3±0,16*	9,4±0,69*	1,3±0,04*	<u>6,9±0,31*</u>	6,5±0,45	<u>0,45±0,028*</u>	<u>0,10±0,022*</u>	<u>8,3±0,24*</u>
7-й	5,0±0,76	1,2±0,06*	7,2±0,50	1,1±0,09*	<u>7,3±0,30*</u>	7,7±0,52			
10-й	6,8±1,03	<u>0,8±0,11*</u>	7,7±0,44	<u>0,8±0,04</u>	<u>7,8±0,26*</u>	9,3±0,79*	<u>0,29±0,027</u>	<u>0,24±0,017</u>	<u>7,6±0,32</u>
14-й	6,2±1,19	<u>0,6±0,06*</u>	7,3±0,41	1,1±0,05*	Не опре- делялось	8,2±0,53			
17-й	<u>7,9±1,42*</u>	<u>0,7±0,08*</u>	6,8±0,58	<u>0,9±0,05</u>	6,0±0,19	9,3±0,80*	<u>0,28±0,024</u>	<u>0,25±0,011</u>	<u>6,2±0,46</u>
21-й	<u>8,3±1,45*</u>	<u>0,7±0,05*</u>	<u>5,7±0,42*</u>	<u>0,9±0,04</u>	6,0±0,07	<u>11,3±1,40*</u>			

На этом фоне в течение первых трех недель уровень мочеотделения, концентрация фосфат-ионов в моче и уровень экскреции креатинина существенных изменений не претерпевали.

Отметим, что описанные выше процессы происходили в условиях достаточно кислой среды мочи, поскольку значения pH мочи в этот период варьировали в диапазоне 5,6–5,9. По-видимому, данные условия можно расценивать как благоприятные для образования в почках кристаллического материала, учитывая, что оксалаты кальция различной гидратированности осаждаются из пересыщенного раствора в диапазоне pH 4,8–7,0 [9].

Наглядной демонстрацией развития патологического процесса явилось ярко-выраженное поступательное усиление активности в моче маркерных ферментов. Как видно из табл. 2, активность ЛДГ к исходу 21-го дня опыта возросла в 2,5 раза, активность ГГТ за тот же период увеличилась на 44%, а аналогичный показатель для НАГ за первые 3 нед опыта увеличился в 1,6 раза.

Веским подтверждением развития оксалатного нефролитиаза у крыс послужили результаты морфологического исследования. Оказалось, что по всему периметру почечного сосочка, в просвете собирательных трубок и прилегающем интерстиции отмечалось наличие многочисленных кальциевых депозитов (21,4 $\pm$ 4,03 в поле зрения), средний размер которых составил 16,5 $\pm$ 1,68 мкм.

Таким образом, трехнедельное применение ЭГ спровоцировало развитие у экспериментальных животных оксалатного нефролитиаза, сопровождавшегося пересыщением мочи оксалат-ионами и ионами кальция, усилением ферментативной активности в моче, активацией процесса СРО и образо-

ванием кальцийсодержащих конкрементов в почках.

На этом фоне длительное применение α -токоферола ацетата привело к существенному облегчению патологического процесса. Как и ожидалось, индуцированный на пике заболевания оксидативный стресс в значительной степени подавлялся (см. табл. 1). После проведенного курса терапии было зафиксировано резкое снижение концентрации в почечной ткани ТБРП до уровня не только в 4,5 раза ниже показателей, соответствующих 21-му дню экспериментальной патологии, но и в 2,5 раза меньше цифр, характерных для интактных животных. Кроме того, к исходу третьей недели применения антиоксиданта до нормальных значений снижалась ОПА, а также более чем в 2 раза увеличивалась ОАА.

Важно отметить (см. табл. 2), что в результате применения α -токоферола ацетата значительно ослаблялась интенсивность пересыщения мочи. Так, например, концентрация оксалат-ионов в моче уже после 10 дней введения препарата снизилась в 1,4 раза. Впоследствии этот показатель продолжал уменьшаться, и к окончанию эксперимента был на 46% ниже цифр 21-го дня заболевания.

Концентрация ионов кальция в моче также снижалась. Начиная с 10-го дня, вплоть до конца периода наблюдений, она уменьшилась до нормальных значений, соответствующих здоровым крысам.

В отношении динамики изменений концентрации в моче фосфат-ионов, следует отметить, что на протяжении практически всего периода лечения она стабильно держалась на уровне 21-го дня, а в последний день применения α -токоферола ацетата достоверно уменьшилась в 1,4 раза.

В этих условиях обращает на себя внимание, что на фоне применения α -токоферола ацетата происходил сдвиг pH мочи крыс в щелочную сторону, особенно в первые 2 нед лечения. В этот период прослеживалась четкая тенденция к увеличению pH мочи, в результате чего данный показатель вплотную приблизился к уровню 8,0.

Наглядной демонстрацией облегчения патологического процесса на фоне антиоксидантной терапии явилось многократное ослабление ферментативной активности в моче подопытных животных. Уже к исходу 2-й недели введения препарата показатели активности всех трех маркерных ферментов снижались до уровня, соответствующего таковому у здоровых крыс, после чего они не изменялись вплоть до конца эксперимента (см. табл.2).

Наконец, морфометрическое исследование выявило, что в результате трехнедельного курса применения α -токоферола ацетата количество кальциевых депозитов в области почечного сосочка уменьшилось в среднем на 20% (с $21,4 \pm 4,03$ до $17,6 \pm 2,39$ в поле зрения), а их размер – в 3,1 раза (с $16,5 \pm 1,68$ до $5,4 \pm 0,28$ мкм; $p < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что деструктивное действие свободных радикалов кислорода в отношении уротелия и почечных макромолекул, выполняющих функцию ингибиторов кристаллизации, вносит весьма существенный вклад в процесс формирования почечных конкрементов при оксалатном нефролитиазе. В одном из опубликованных ранее обзоров литературы мы подробно рассматривали возможные причины оксидативного стресса, его патогенетические механизмы и роль в развитии мочекаменной болезни [1]. Здесь же еще раз напомним, что, по современным представлениям, активацию СРО так или иначе принято связывать с пересыщением мочи оксалат-ионами. Проведенные нами эксперименты во многом подтвердили данную точку зрения (или, по крайней мере, ей не противоречили). Так, спровоцированное потреблением крысами этиленгликоля пересыщение мочи оксалат-ионами сопровождалось мощным оксидативным стрессом в почках на пике экспериментальной патологии. Параллельно наблюдалось многократное усиление ферментативной активности в моче, что свидетельствовало о массивном цитолизе нефроцитов, нарушении целостности клеточных мембран и дисфункции почечного эпителия. Очевидно, что указанные процессы взаимосвязаны, правда, из результатов нашего исследования не совсем ясно, что является причиной, а что – следствием

(справедливости ради отметим, что данный вопрос во всем мире вызывает острые дискуссии и пока далек от своего разрешения). Тем не менее, как показали результаты экспериментов, каскад развивающихся событий, в конечном счете, привел к развитию нефролитиаза, что было подтверждено морфологическими исследованиями. Учитывая вышеизложенное, логично было ожидать, что применение α -токоферола ацетата, направленное на устранение оксидативного стресса как одного из главных звеньев в цепи обозначенного выше каскада, могло бы способствовать облегчению течения экспериментального заболевания. Полученные в ходе исследования результаты в значительной мере оправдали эти ожидания.

Во-первых, являясь прямым неферментным антиоксидантом, α -токоферола ацетат нивелировал активацию СРО, что было прогнозируемо в качестве главного эффекта препарата. Важно, что на этом фоне уже после 14 дней лечения восстанавливалась нарушенная при заболевании структура почечных эпителиоцитов, а также их функциональная активность. Об этом наглядно свидетельствует динамика активности маркерных ферментов мочи, которая показала, что к исходу 2-й недели применения α -токоферола ацетата величина данного показателя для всех трех ферментов снизилась до уровня, соответствующего таковому у здоровых крыс.

Во-вторых, ежедневное введение препарата сопровождалось уменьшением концентрации в моче оксалат-ионов более чем на 60% по сравнению с периодом болезни. По-видимому, это можно объяснить следующим образом. По сути, синтез оксалат-ионов в организме происходит в результате окисления различных прекурсоров до щавелевой кислоты, происходящего в печени и контролируемого двумя ферментами – цитозольной лактатдегидрогеназой гепатоцитов и пероксидазой, локализуемой в пероксисомах [10]. Не исключено, что препарат, обладая способностью ингибировать окисление, подавляет данный процесс, ослабляя синтез оксалата и, как следствие, уменьшает его концентрацию в нефроне.

В-третьих, нельзя не обратить внимания на тот факт, что в результате проведенного курса терапии снижалась до нормы концентрация в моче крыс ионов кальция, а также уменьшалась (причем даже ниже интактных значений) мочевого фосфат-ионов. С одной стороны, вне всякого сомнения, это действие препарата – положительное, так как ослабление пересыщения мочи литогенными ионами уменьшает вероятность образования в нефроне нерастворимых биоминералов [11]. С

другой стороны полученные данные оказались во многом неожиданными, поскольку изначальных предпосылок для таких эффектов не было, учитывая, что химическое строение α -токоферола ацетата не предполагает у него способности прямо связывать ионы Ca^{2+} или PO_4^{3-} . На наш взгляд, зафиксированное действие препарата в какой-то мере может указывать на его определенное участие в регуляции кальций-фосфорного обмена, хотя, конечно, данное предположение требует дополнительных экспериментальных доказательств.

Наконец, результаты исследования выявили еще один положительный эффект α -токоферола ацетата в отношении экспериментального нефролитиаза: сдвиг pH мочи в щелочную сторону, когда на 7-й и 10-й дни опыта он соответственно превысил отметку в 7,0, а затем почти достиг 8,0 единиц. Как известно, растворимость кристаллов оксалата кальция и, в первую очередь, его наиболее стабильной формы – вевеллита, в щелочной среде возрастает, достигая своего максимума при значениях $\text{pH} > 8,5$ [9]. Поэтому с определенной долей уверенности можно предположить, что в указанный период лечения седиментация кристаллического материала из пересыщенной мочи и его последующая адгезия на уротелии была в значительной степени ослаблена.

Описанные стороны антиоксидантной терапии воплотились в главном – в уменьшении количества и размеров кальциевых депозитов. Особенно ярко это проявилось в отношении второго показателя, который за время лечения снизился более чем в 3 раза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение α -токоферола ацетата в качестве средства фармакологической коррекции экспериментального нефролитиаза облегчает течение за-

болевания за счет подавления оксидативного стресса в почечной ткани, ослабления пересыщения мочи, восстановления структуры и функциональной активности уротелия, а также уменьшения количества и размеров почечных конкрементов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Жариков АЮ, Зверев ЯФ, Брюханов ВМ, Лампатов ВВ. Механизм формирования кристаллов при оксалатном нефролитиазе. *Нефрология* 2009; 13 (4): 37-50
2. Зверев ЯФ, Жариков АЮ, Брюханов ВВ, Лампатов ВВ. Модуляторы оксалатного нефролитиаза. Ингибиторы кристаллизации. *Нефрология* 2010; 14 (1): 29-49
3. Sumitra K, Pragasam V, Sakthivel R et. al. Beneficial effect of vitamin E supplementation on the biochemical and kinetic properties of Tamm-Horsfall glycoprotein in hypertensive and hyperoxaluric patients. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1407-1415
4. Зверев ЯФ, Брюханов ВМ, Талалаева ОС и др. О роли процессов свободно-радикального окисления в развитии экспериментального нефролитиаза. *Нефрология* 2008; 12 (1): 58-63
5. Жариков АЮ, Брюханов ВМ, Зверев ЯФ, Лампатов ВВ. Современные методы моделирования оксалатного нефролитиаза. *Нефрология* 2008; 12 (4): 28-35
6. Chen DH, Kaung HL, Miller CM et al. Microarray analysis of changes in renal phenotype in the ethylene glycol rat model of urolithiasis: potential and pitfalls. *BJU Int* 2004; 94 (4): 637-650
7. Hadjzadeh MA, Khoei A, Hadjzadeh Z, Parizady M. Ethanolic extract of nigella sativa L seeds on ethylene glycol-induced kidney calculi in rats. *Urol J* 2007; 4 (2): 86-90
8. Maruch D. Rapid colorimetric assay of β -galactosidase and N-acetyl- β -glucosaminidase in human urine. *Clin Chim Acta* 1976; 73: 453-446
9. Голованова ОА, Борбат ВФ. *Почечные камни*. Мед. книга, М., 2005; 172
10. Poore RE, Hurst CH, Assimosis DG, Holmes RP. Pathways of hepatic oxalate synthesis and their regulation. *Am J Physiol* 1997; 272 (1): 289-294
11. Зверев ЯФ, Брюханов ВМ, Лампатов ВВ, Жариков АЮ. Современные представления о роли физико-химических факторов в патогенезе кальциевого нефролитиаза. *Нефрология* 2009; 13 (1): 39-50

Поступила в редакцию 02.07.2010 г.
Принята в печать 17.11.2010 г.