

© С.И.Доломатов, Н.Ю.Новиков, П.М.Клименко, И.Н.Касич, И.В.Мышко, 2016
УДК [616.61 – 08.001.5] – 092.4

*С.И. Доломатов¹, Н.Ю. Новиков¹, П.М. Клименко², И.Н. Касич²,
И.В. Мышко²*

ВЛИЯНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ 6-ПРОПИЛ-2-ТИОУРАЦИЛА НА ДИНАМИКУ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧЕК У КРЫС

¹кафедра медицинской биологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского, ²кафедра урологии Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского, Симферополь, Россия

S.I. Dolomatov¹, N.J. Novikov¹, P.M. Klymenko², I.N. Kasich², I.V. Myshko²

INFLUENCE OF LONG-TERM INJECTION OF 6-PROPYL-2-THIOURACILUM ON DYNAMICS OF INDICATORS OF RENAL FUNCTION IN RATS

¹ Department of medical biology, ²Department of urology of Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ: изучение функционального состояния почек у крыс в зависимости от продолжительности введения 6-пропил-2-тиоурацила (ПТУ). **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ:** крысам интрагастрально вводили 6-пропил-2-тиоурацил ежедневно в течение 7 или 25 сут. Деятельность почек изучали в условиях 5% водной нагрузки, из расчета 5 мл воды на 100 г массы тела. **РЕЗУЛЬТАТЫ:** установлено, что функциональное состояние почек у крыс зависит от продолжительности введения препарата. На ранних этапах эксперимента наблюдается тенденция к увеличению значений скорости клубочковой фильтрации, снижение экскреции почками осмотически активных веществ, жидкости и протеинов, уменьшение осмоляемости внеклеточной жидкости. Продолжительное введение препарата сопровождается нормализацией скорости клубочковой фильтрации, незначительным усилением протеинурии, заметным снижением экскреции осмотически активных веществ и уровня осмоляемости плазмы крови. Не найдено признаков токсического влияния пропилтиоурацила на деятельность почек у крыс. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** регистрируемые изменения функции почек обусловлены гипотиреоидным статусом и не связаны с токсическим влиянием пропилтиоурацила на деятельность почек у крыс.

Ключевые слова: крысы, функция почек, пропилтиоурацил.

ABSTRACT

THE AIM: to study of renal function in rats, depending on the duration of administration of 6-propyl-2-thiouracil. **MATERIAL AND METHODS.** Rats were administered 6-propyl-2-thiouracil orally every day for 7 or 25 days. Activity of kidneys was observed under condition of 5% water load, considering 5 ml of water to 100 g of body weight. **RESULTS.** It was established that renal function in rats depends on the duration of drug administration. In the early stages of the experiment, there is a moderate increase in the values of glomerular filtration rate, reduction of renal excretion of osmotically active substances, fluids and proteins, decrease in extracellular fluid osmolality. Long-term administration of the drug is accompanied by normalization of glomerular filtration rate, and there is no significant increase in proteinuria, and a significant reduction in the excretion of osmotically active substances and the level of plasma osmolality. There were not found signs of toxic effects of propylthiouracil on the kidney activity in rats. **CONCLUSION.** The recorded changes in renal function caused by hypothyroid status and not related to the toxic effect of propylthiouracil on the activity of rat kidneys.

Key words: rats, renal function, propylthiouracil.

ВВЕДЕНИЕ

Нарушения функции щитовидной железы является актуальной проблемой современной медицины [1–3]. Установлено, что нарушения тиреоидного статуса организма сопровождаются

резким повышением риска возникновения ренальных дисфункций [2, 4, 5]. По мнению большинства авторов, основным условием восстановления функционального состояния почек является нормализация тиреоидного статуса. Фармакологический препарат 6-пропил-2-тиоурацил (ПТУ) является селективным ингибитором монодейодиназы I типа и широко используется в современной медицине

Доломатов С.И. Россия, 295006, Симферополь, бульвар Ленина, д. 5/7. Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского. Тел.: +7(978) 807-48-57, E-mail: path888d@yandex.ru

с целью коррекции гиперфункции щитовидной железы. Результаты более ранних исследований фармакологических свойств ПТУ позволили установить, что данный препарат, помимо основного действия, обладает свойствами цитопротектора [6, 7]. Между тем, в современной литературе, наряду с упоминанием о цитопротекторных свойствах ПТУ [8], имеются отдельные сведения о том, что ПТУ может вызывать и некоторые неблагоприятные побочные ренотропные эффекты [9, 10].

Целью работы было изучение функционального состояния почек у крыс в зависимости от продолжительности введения ПТУ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперимент отбирали самцов крыс с массой тела 160–180 г. Животным на протяжении 7 дней ($n=10$) или 25 дней ($n=10$) внутрижелудочно вводили 6-пропил-2-тиоурацил (ПТУ) производства фирмы «Солвей Фармасьютикалз» (Германия) в количестве 1 мг на 100 г массы тела. Животным контрольной группы ($n=10$) проводили ложное внутрижелудочное введение препарата. Функциональное состояние почек изучали через 24 ч после прекращения назначения ПТУ в условиях водной нагрузки [11, 12]. Из эксперимента животных выводили путем декапитации под легкой эфирной анестезией. Кровь стабилизировали гепарином для биохимического анализа и ЭДТА для определения концентрации общего тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3). Цельную кровь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 20 мин, собирали плазму крови. В полученных образцах плазмы крови определяли концентрацию креатинина фотометрическим методом в реакции с пикриновой кислотой [13] на спектрофотометре «СФ-46» (Россия) и величину осмоляльности криоскопическим методом на осмометре «3D3» (США). Образцы плазмы крови, предназначенные для определения концентрации гормонов, до проведения анализа хранили в морозильной камере при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Концентрацию общего Т4 и Т3 в плазме крови определяли методом ИФА с использованием стандартных тест-систем производства фирмы «Human» (Германия) для *in vitro* диагностики. В пробах мочи определяли концентрацию белка фотометрическим методом в реакции с сульфосалициловой кислотой [14] на спектрофотометре «СФ-46» (Россия), концентрацию креатинина и величину осмоляльности. Параметры деятельности почек вычисляли с использованием ранее предложенных в литературе методов [11, 12] в расчете на 100 г массы тела. Концентрационные

индексы креатинина и осмотически активных веществ (ОАВ) рассчитывали как отношение величин концентрации креатинина и ОАВ в моче к аналогичным показателям в плазме крови.

Статистический анализ результатов выполняли с использованием пакета прикладных статистических программ Microsoft Excel 2003 (Microsoft Corporation, США). Результаты представлены в виде среднего арифметического $\pm$ ошибка средней. Статистическую значимость различий двух средних определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента; частот – χ^2 -критерия Пирсона. Оценку силы взаимосвязи количественных признаков проводили с помощью коэффициента корреляции (*r*) Пирсона. Нулевую статистическую гипотезу об отсутствии различий и связей отвергали при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что внутрижелудочное введение крысам ПТУ приводит к существенному понижению концентрации в плазме крови общего Т4 – с $5,8\pm 0,2$ мкг/дл в контрольной группе до $4,1\pm 0,2$ мкг/дл после 7-суточного и до $2,4\pm 0,1$ мкг/дл после 25-суточного назначения ПТУ, $p<0,01$. Между тем, содержание общего Т3 в плазме крови существенно не изменялось после 7-суточного назначения препарата (соответственно, $2,2\pm 0,1$ и $2,5\pm 0,1$ нг/мл, $p>0,1$), однако на 25-е сутки эксперимента уровень Т3 в плазме крови снижался до $1,2\pm 0,1$ нг/мл, $p<0,01$.

7- и 25-дневное введение крысам ПТУ не оказывает существенного влияния на показатели диуреза, концентрации креатинина в моче и темпы выделения почками креатинина в сравнении с аналогичными параметрами в контрольной группе животных (таблица). Выявлено, что на 7-е сутки эксперимента отмечается умеренный рост ($+25\%$, $p<0,05$) величины клиренса креатинина и понижение концентрации креатинина в плазме крови (-20% , $p<0,01$) с последующим восстановлением исходных значений данных показателей к 25-м суткам эксперимента. Через 7 сут после начала введения крысам ПТУ регистрируется повышение концентрационного индекса креатинина как в сравнении с контролем ($+20\%$, $p<0,05$), так и с группой животных, получавших ПТУ в течение 25 сут ($+40\%$, $p<0,01$). Также установлено, что на протяжении всего эксперимента не наблюдается прироста экскреции почками протеинов, напротив, на 7-е сутки эксперимента происходит уменьшение значений экскреции почками белка, стандартизированной на 1 мл клубочкового фильтрата, в сравнении с контролем (-30% , $p<0,05$). Однако к 25-м суткам эксперимента прослеживается

Таблица

Деятельность почек крыс в условиях экспериментального гипотиреоза, М±m

Исследуемый показатель	Контроль, n=10	ПТУ 7 сут, n=10	ПТУ 25 сут, n=10
	1	2	3
Диурез, мл/ч на 100 г м.т.	1,9±0,2	2,0±0,1	2,2±0,1
Клиренс креатинина, мкл/мин	524±37	639±27 p2/1<0,01	519±27
Креатинин мочи, мкмоль/л	1168±59	1164±68	1142±49
Экскреция креатинина, мкмоль/ч на 100 г м.т.	2,6±0,2	2,3±0,2	2,5±0,2
Белок мочи, мг/л	34±3	29±3	39±4
Экскреция белка, мг/ч на 100 г м.т.	0,069±0,007	0,057±0,004	0,087±0,012
Стандартизированная экскреция белка, мг/1мл клубочкового фильтрата	(2,2±0,2) · 10 ⁻³	(1,6±0,2) · 10 ⁻³ P2/1<0,05	(2,8±0,5) · 10 ⁻³
Осмоляльность мочи, мосмоль/кг H ₂ O	109±9	97±2	74±3 P3/1<0,01 P3/2<0,01
Экскреция осмотически активных веществ, мосмоль/ч на 100 г м.т.	0,23±0,2	0,19±0,01	0,16±0,01 P3/1<0,01
Стандартизированная экскреция ОАВ, мосмоль/1мл клубочкового фильтрата	(7,4±0,3) · 10 ⁻³	(5,1±0,2) · 10 ⁻³ P2/1<0,01	(5,4±0,2) · 10 ⁻³ P3/1<0,01
Креатинин плазмы крови, мкмоль/л	71±3	59±1 P2/1<0,01	79±2
Осмоляльность плазмы крови, мосмоль/кг H ₂ O	299±1	291±1 P2/1<0,01	287±1 P3/1<0,01
Концентрационный индекс креатинина, ед.	16,3±0,5	19,1±0,3 P2/1<0,01	13,7±0,4 p1<0,05 p2<0,01
Концентрационный индекс ОАВ, ед.	0,35±0,02	0,32±0,03	0,24±0,02 P3/1<0,05 P3/2<0,01

слабо выраженная тенденция к повышению концентрации белка в моче и усилению ренальных потерь белка. Выявлено, что на протяжении эксперимента наблюдается изменение параметров осмотического гомеостаза организма животных. Наиболее ранними признаками такой тенденции (7-е сутки эксперимента) являются понижение концентрации ОАВ в плазме крови и значений стандартизированной на 1мл фильтрата экскреции ОАВ (–30%, p<0,01). При этом дальнейшие наблюдения показывают, что к 25-м суткам эксперимента значения стандартизированной экскреции почками ОАВ сохраняются на более низком, чем в контрольной группе животных, уровне, на фоне статистически значимого уменьшения темпов выделения почками ОАВ, величины концентрационного индекса ОАВ и осмоляльности плазмы крови.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показывают, что закономерные изменения функции почек происходят по мере снижения уровня гормонов щитовидной железы. Сопоставление динамики параметров функционального состояния почек и уровня тиреоидных гормонов в плазме крови экспериментальных животных позволяет высказать

мнение о том, что наблюдаемые изменения деятельности почек могут свидетельствовать о поступательном формировании гипотиреоидного статуса организма. Высказанное заключение согласуется с данными литературы о том, что гипофункция щитовидной железы является одной из основных причин системных изменений осмотического гомеостаза [15, 16], приводящих к гипоосмии вследствие модуляции чувствительности нейроэндокринного звена контроля осморегулирующей функции почек [1, 2]. Умеренное снижение уровня осмоляльности плазмы крови под влиянием ПТУ в условиях водной нагрузки, по нашему мнению, является интегральным маркером сдвигов в системе осморегуляции организма. Наряду с этим, у животных экспериментальной группы мы отмечаем заметное отклонение параметров концентрационного индекса креатинина, а также стандартизированных значений экскреции почками ОАВ в сравнении с контрольными крысами. Характер этих отклонений зависит от продолжительности введения препарата, а на завершающем этапе введения ПТУ (25-е сутки эксперимента) к тому же наблюдается отчетливое понижение концентрационного индекса ОАВ, осмоляльности мочи и показателя темпов выведения почками ОАВ. Кроме того, на данном

временном отрезке эксперимента мы регистрируем минимальные величины концентрационного индекса креатинина. По нашему мнению, полученные результаты могут свидетельствовать о существенном ослаблении способности почек животных к формированию концентрированной мочи на фоне продолжительного введения препарата.

Вместе с тем, анализ динамики значений клиренса креатинина в группе животных, получавших ПТУ, позволяет обнаружить умеренный рост данного показателя к 7-м суткам эксперимента, с последующим восстановлением величины клиренса креатинина до контрольного уровня к 25-м суткам с момента начала введения препарата. При этом продолжительное введение ПТУ сопровождается незначительным усилением ренальных потерь белка. Возможно, наблюдаемые сдвиги параметров клиренса креатинина, а также канальцевого транспорта ОАВ отражают сложную перестройку не только системных, но и внутриренальных механизмов гуморальной регуляции гомеостатических функций почек [2, 3, 17].

В то же время, закономерности, выявленные в ходе эксперимента, в основном, могут быть объяснены с позиций патофизиологических механизмов адаптации почки к гипотиреоидному статусу организма и не связаны с побочными негативными эффектами исследуемого препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Длительное введение пропилтиоурацила влияет на функциональное состояние почек крыс. На ранних этапах течения эксперимента наблюдается умеренное увеличение значений скорости клубочковой фильтрации, снижение экскреции почками осмотически активных веществ, протеинов и уменьшение осмоляльности внеклеточной жидкости. Однако продолжительное подавление функции щитовидной железы сопровождается восстановлением до контрольных величин показателей скорости клубочковой фильтрации, а также уменьшением экскреции почками осмотически активных веществ и понижением осмоляльности плазмы крови. Регистрируемые изменения функции почек обусловлены гипотиреоидным статусом и не связаны с токсическим влиянием пропилтиоурацила на деятельность почек у крыс.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Abuzaid AS, Birch N. The Controversies of Hyponatraemia in Hypothyroidism Weighing the evidence. *Sultan Qaboos Univ Med J* 2015; 15(2):e207–e212
2. Basu G, Mohapatra A. Interactions between thyroid disorders and kidney disease. *Indian J Endocr Metab* 2012; 16(2):204–213
3. Vargas F, Rodríguez-Gómez I, Vargas-Tendero P et al. The renin-angiotensin system in thyroid disorders and its role in cardiovascular and renal manifestations. *Journal of Endocrinology* 2012; 213:25–36
4. Dousdampanis P, Trigka K, Vagenakis GA, Fourtounas C. The thyroid and the kidney: a complex interplay in health and disease. *Int J Artif Organs* 2014; 37(1):1–12
5. Abdel-Gayoum AA. Dyslipidemia and serum mineral profiles in patients with thyroid disorders. *Saudi Med J* 2014; 35(12):1469–1476
6. Chen W-J, Lin K-H, Lai Y-J et al. Protective Effect of Propylthiouracil Independent of Its Hypothyroid Effect on Atherogenesis in Cholesterol-Fed Rabbits. *Circulation* 2004; 110:1313–1319
7. Abraham P, Kanakasabapathy I, Dian BJ Propylthiouracil attenuates acetaminophen-induced renal damage in the rat. *Nephrology* 2005; 10(6):588–593
8. Tofangchiha S, Jamshidi SM, Emami H, Dormanesh B. Investigating Antithyroid Effects of Propylthiouracil on the Ischemia and Reperfusion Injury in Rat Kidney and Determining the Role of Nitric Oxide in Mediating this Effect. *Iran Red Crescent Med J* 2014; 16(10): e15605
9. Chen YX, Zhang W, Chen XN et al. Propylthiouracil-induced antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated renal vasculitis versus primary ANCA-associated renal vasculitis: a comparative study. *J Rheumatol* 2012; 39(3):558–563
10. Sepehri G, Derakhshanfar A, Saburi L. Does Propylthiouracil Increase the Gentamicin-Induced Nephrotoxicity In Rat? *Iran J Basic Med Sci* 2013; 16(11):1190–1195
11. Берхин ЕБ, Иванов ЮИ. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена. Алтайское кн. изд., Барнаул, 1972; 29–41 [Berhin EB, Ivanov IUI. Metody 'e'ksperimental'nogo issledovaniia почек i vodno-solevogo obmena. Altai'skoe kn. izd., Barnaul, 1972; 29–41]
12. Пахмурный БА. О механизме действия сердечных гликозидов на функцию почек и водно-солевой обмен. Автореф. дис. д. мед наук, Новосибирск, 1969; 1–29 [Pakhmurny' i' B.A. O mehanizme dei'stviia serdechny'kh glikozidov na funktsiiu почек i vodno-solevoi' obmen. Avtoref. dis. d. med n, Novosibirsk, 1969; 1–29]
13. Рябов СИ, Наточин ЮВ, Бондаренко ББ. Диагностика болезней почек. Медицина, Ленинград, 1979; 59–100
14. Михеева АИ, Богодарова ИА К методике определения общего белка в моче на ФЭК-Н-56. *Лаб дело* 1969; (7):441–442
15. Bautista AA, Duya JE, Sandoval MA Salt-losing nephropathy in hypothyroidism. *BMJ Case Rep* 2014. pii: bcr2014203895
16. Braconnier A, Vrigneaud L, Bertocchio JP. Hyponatremias: From pathophysiology to treatments. Review for clinicians. *Nephrol Ther* 2015; 11(4):201–212
17. Wangenstein R, Segarra AB, Ramirez-Sanchez M et al. Influence of thyroid disorders on the kidney expression and plasma activity of aminopeptidase A. *Endocr Regul* 2015; 49(2):68–72

Сведения об авторах:

Доц. Доломатов Сергей Игоревич, к.б.н.
Россия, 295006, Симферополь, бульвар Ленина, д. 5/7. Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, Крымского Федерального университета им. В.И. Вернадского, кафедра медицинской биологии. Тел.: +7(978) 807-48-57, E-mail: path888d@yandex.ru
Associate prof Sergey I. Dolomatov, MD, PhD.
Affiliations: Russia, 295006, Simferopol, Lenin boulevard, 5/7. Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Department of medical biology. Phone +7(978) 807-48-57, E-mail: path888d@yandex.ru

Доц. Новиков Николай Юлиевич, д.мед.н.,
Россия, 295006, Симферополь, бульвар Ленина, д. 5/7. Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, Крымского Федерального университета им. В.И. Вернадского, кафедра

медицинской биологии. Тел. +7(978) 753-92-27
Associate prof Nikolay J. Novikov MD, PhD, DMedSci.
Affiliations: Russia, 295006, Simferopol, Lenin boulevard, 5/7.
Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky
Crimean Federal University. Department of medical biology. Phone
+7(978) 753-92-27

Проф. Клименко Петр Михайлович, д.мед.н.
Россия, 295006, Симферополь, бульвар Ленина, д. 5/7. Ме-
дицинская академия им. С.И. Георгиевского, Крымского Фе-
дерального университета им. В.И. Вернадского, кафедра
урологии. Тел. +7(978) 714-48-79
Prof. Petr M. Klymenko MD, PhD, DMedSci.
Affiliations: Russia, 295006, Simferopol, Lenin boulevard, 5/7.
Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky
Crimean Federal University. Department of urology. Phone +7(978)
714-48-79

Студент, Касич Игорь Николаевич
Россия, 295006, Симферополь, бульвар Ленина, д. 5/7. Ме-
дицинская академия им. С.И. Георгиевского, Крымского Фе-
дерального университета им. В.И. Вернадского. Тел. +7(978)
211-15-72

Student Igor N. Kasich
Affiliations: Russia, 295006, Simferopol, Lenin boulevard, 5/7.
Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky
Crimean Federal University. Phone +7(978) 211-15-72

Студент, Мышко Илья Владимирович
Россия, 295006, Симферополь, бульвар Ленина, д. 5/7. Ме-
дицинская академия им. С.И. Георгиевского, Крымского Фе-
дерального университета им. В.И. Вернадского. Тел. +7(978)
707-27-62

Student Ilya V. Myshko
Affiliations: Russia, 295006, Simferopol, Lenin boulevard, 5/7.
Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky
Crimean Federal University. Phone +7(978) 707-27-62

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.*

Поступила в редакцию: 01.02.2016 г.
Принята в печать: 12.05.2016 г.