

© А.И.Гоженко, А.Н.Слученко, 2006
УДК 618.2:577.28:661.849.31-12]:611.61.001.5

А.И. Гоженко, А.Н. Слученко

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК В УСЛОВИЯХ ВОДНОЙ И СОЛЕВОЙ НАГРУЗОК ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ У КРЫС НА ФОНЕ СУЛЕМОВОЙ НЕФРОПАТИИ

A.I.Gozhenko, A.N.Sluchenko

FUNCTIONAL STATE OF THE KIDNEYS UNDER CONDITIONS OF WATER AND SALT LOADS IN PREGNANT RATS AGAINST THE BACKGROUND OF SUBLIMATE NEPHROPATHY

Кафедра общей и клинической патофизиологии, кафедра анатомии человека Одесского государственного медицинского университета, Украина

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬЮ ИССЛЕДОВАНИЯ было изучение гомеостатических реакций почек на водную и солевую нагрузки здоровых и беременных с токсической нефропатией крыс. **МАТЕРИАЛИ МЕТОДЫ.** У крыс после введения сулемы в дозе 0,4 мг/100 г массы тела изучали функциональное состояние почек на 20-й день у небеременных и 17-20-й дни беременности в условиях индуцированного водного (5% от массы тела) и солевого (3% раствор хлорида натрия в том же объеме) диурезов. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Показано, что при физиологической беременности у крыс адаптация почек к солевой нагрузке заключается в значительном увеличении скорости клубочковой фильтрации с участием системы оксида азота, судя по увеличению экскреции в 3 раза эндогенных нитритов и нитратов. У крыс при сулемовой нефропатии не происходит увеличение фильтрации и уменьшается экскреция нитритов. Аналогичные и еще большие изменения выявлены у беременных крыс. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Сделан вывод, что при сулемовой нефропатии нарушается реакция почек у небеременных и особенно беременных крыс.

Ключевые слова: беременность, сулемовая нефропатия, оксид азота.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to study homeostatic reactions of the kidneys to water and salt loads of healthy and pregnant rats with toxic nephropathy. **MATERIAL AND METHODS.** The functional state of the kidneys was studied in not pregnant rats on the 20th day after injection of sublimate in dose 0.4 mg/100g of body mass and in pregnant rats on the 17-20th days under conditions of induced water (5% of body mass) and saline solution (3% solution of sodium chloride in the same volume). **RESULTS.** It was shown that in rats with physiological pregnancy the adaptation of the kidneys to salt load consisted in an increased rate of glomerular filtration with an involvement of nitrous oxide system judging by a 3 times greater excretion of endogenous nitrites and nitrates. In rats with sublimate nephropathy the filtration was not increased and excretion of nitrites decreased. The similar and even greater changes were detected in pregnant rats. **CONCLUSION.** It is concluded that reaction of the kidneys in non-pregnant and especially in pregnant rats with sublimate nephropathy is disturbed.

Key words: pregnancy, sublimate nephropathy, nitric oxide.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что при физиологической беременности происходят значительные изменения функционального состояния почек [1]. Ранее нами показано, что перестройка функции почек носит адаптационный характер и направлена на ретенцию натрия и воды, что является основой для увеличения объема внеклеточной жидкости и крови [2]. Одновременно при этом сохраняется высокий уровень клубочковой фильтрации, который необходим для эффективного удаления из организма конечных продуктов обмена веществ. Развитие преэклампсии, одного из наиболее тяжелых осложнений, сопровождается нефропатией, причем, нарушения почек являются основным патогенетическим

механизмом этого наиболее грозного осложнения беременности [3]. В литературе обсуждается вопрос о значении исходного состояния почек в развитии нефропатии беременных. Однако в клинике не всегда возможно определить состояние почек до беременности, так как многие из нефропатий в начальный период заболевания, как правило, не диагностируются, особенно это относится к токсическим нефропатиям. В связи с этим имеется необходимость изучения функционального состояния почек в эксперименте на животных, у которых беременность развивается на фоне токсической нефропатии. Изучение гомеостатических реакций почек на водную и солевую нагрузки здоровых и беременных с токсической нефропа-

Таблица 1

Функциональное состояние почек у здоровых небеременных и беременных крыс при водной и солевой нагрузках, ($\bar{X} \pm m$)

	Водная нагрузка		Солевая нагрузка	
	небеременные n=10	беременные n=10	небеременные n=10	беременные n=10
Диурез, мл	1,81±0,09	1,92±0,08	2,29±0,04**	2,11±0,03
Концентрация белка в моче, мг/л	26±2	22±2	32±2**	43±3**
Экскреция белка, мг/ч	0,037±0,002	0,037±0,005	0,074±0,003**	0,089±0,005**
Концентрация креатинина в моче, мкмоль/л	1179±15	1283±24* P<0,95	1404±11**	2064±58**
Экскреция креатинина в моче, мкмоль/ч	2,09±0,12	2,46±0,12* P	3,21±0,06**	4,18±0,23**
Концентрация NO ₂ в моче, мкмоль/л	1,54±0,08	1,49±0,09	2,52±0,03**	2,43±0,07**
Экскреция NO ₂ , мкмоль/ч, $\times 10^{-3}$	1,90±0,27	2,40±0,16	5,91±0,23**	5,11±0,27**
Концентрация NO ₃ в моче, мкмоль/л	8,46±0,36	3,69±0,26*	29,22±0,85**	8,31±0,63**
Экскреция NO ₃ , мкмоль/ч, $\times 10^{-3}$	16,72±0,54	6,8±0,85*	65,84±3,15**	17,9±1,74**
Концентрация креатинина в плазме, мкмоль/л	71±2	97±4*	55±2**	72±3**
Концентрация NO ₂ в плазме, мкмоль/л	3,08±0,12	3,66±0,13*	3,78±0,17**	3,32±0,25
Концентрация MO ₃ в плазме, мкмоль/л	4,66±0,18	4,73±0,15	2,76±0,09**	2,58±0,18**
Клиренс креатинина, мкл/мин	521±51	436±39*	967±42**	1018±20**

Примечание. * – достоверность различий ($P < 0,05$) у крыс при водной нагрузке; ** – достоверность различий ($P < 0,05$) между водной и солевой нагрузками.

тием крыс и было предметом настоящего исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Опыты проведены на белых крысах линии Вистар. Для эксперимента, в котором крысы должны забеременеть, были взяты 51 самка и 13 самцов, которые находились до подсадки в отдельных клетках. Вес каждой из самок 4-5-месячного возраста составлял 150-200 г. К самкам, которые находились по 4-6 в одной клетке, подсаживали на три дня одного самца. После этого периода времени самцов отсаживали. Учитывая сроки подсадки самцов, крысы, которые забеременели на 21-й день эксперимента, находились на 17-20-м дне беременности. Всех самок разделили на две группы: первая группа контрольная составила 25 крыс и вторая группа, которым была сделана инъекция сулемы в дозе 0,4 мг/100 г, – 26 крыс.

Таким образом, были сформированы 4 группы крыс: I – 10 небеременных здоровые, II – 10 беременных здоровые, III – 10 небеременные с токсической нефропатией и IV – 10 беременные с токсической нефропатией.

Через 20 суток от начала эксперимента у крыс исследовали функции почек при водной нагрузке (5% от массы тела) и солевой – 3% раствор хлорида натрия в том же объеме, зондом в желудок. Сбор мочи осуществляли за 2 часа, после чего животных декапитировали.

В полученных образцах мочи и плазмы определяли концентрацию креатинина, белка, нитритов и нитратов.

Креатинин плазмы определяли фотометрическим методом ($\lambda = 520$ нм), С.И. Рябов и др. [4].

Белок в моче определяли фотометрически

($\lambda = 590$ нм) сульфосалициловым методом А.И. Михеевой и И.А. Богодарова [5].

Концентрацию нитритов плазмы и мочи определяли фотометрически ($\lambda = 540$ нм) по методике Емченко Н.Л. и соавт. [6]. Расчетные показатели функционального состояния почек: экскрецию веществ и скорость клубочковой фильтрации вычисляли согласно методикам, предложенным Ю.В.Наточиным [7].

Все показатели деятельности почек рассчитывали на 100 г массы тела, достоверность межгрупповых отличий оценивали по общепринятой методике с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследований реакции почек на водную и солевую нагрузки у здоровых небеременных и беременных крыс выявили значимые особенности их гомеостатической деятельности (табл. 1). Так, при водной нагрузке не установлено достоверных изменений диуреза и экскреции белка у беременных крыс в сравнении с небеременными. Нормальный уровень интенсивности мочеотделения наблюдался на фоне некоторого падения клубочковой фильтрации, о чем свидетельствует уменьшение клиренса креатинина, что и было обусловлено снижением канальцевой реабсорбции воды. Одновременно установлено у беременных крыс достоверное уменьшение концентрации и экскреции нитратов при некотором увеличении экскреции нитритов. В плазме крови достоверно возрастала концентрация нитритов и креатинина.

Солевая нагрузка у небеременных крыс в сравнении с водной сопровождается увеличением диуреза, концентрации и экскреции белка, концентрации и экскреции креатинина, нитритов и нитратов, кон-

Таблица 2

**Функциональное состояние почек у здоровых небеременных и беременных крыс
при сулемовой нефропатии, ($\bar{X} \pm m$)**

	Водная нагрузка		Солевая нагрузка	
	небеременные n=10	беременные n=10	небеременные n=10	беременные n=10
Диурез, мл	2,07±0,04	1,61±0,13*	1,84±0,10**	1,40±0,16
Концентрация белка в моче, мг/л	42±3	37±3	54±6	65±9**
Экскреция белка, мг/ч	0,087±0,005	0,055±0,005*	0,097±0,012	0,078±0,006**
Концентрация креатинина в моче, мкмоль/л	1295±37	1247±70	1432±95	1277±66
Экскреция креатинина в моче, мкмоль/ч	2,58±0,11	2,04±0,17*	2,56±0,11	1,72±0,25
Концентрация NO ₂ в моче, мкмоль/л	3,75±0,21	3,21±0,42	3,14±0,48	4,05±0,34
Экскреция NO ₂ , мкмоль/ч, $\times 10^{-3}$	7,82±0,61	11,12±2,26	5,90±0,67**	5,6±0,93**
Концентрация NO ₃ в моче, мкмоль/л	6,59±0,27	10,87±1,23*	22,62±1,31**	16,06±0,91**
Экскреция NO ₃ , мкмоль/ч, $\times 10^{-3}$	13,83±0,84	16,21±2,01	42,4±1,04**	22,53±3,07**
Концентрация креатинина в плазме, мкмоль/л	75±8	99±9*	65±7	76±3**
Концентрация NO ₂ в плазме, мкмоль/л	5,08±0,40	3,81±0,25*	4,54±0,30	3,96±0,19
Концентрация NO ₃ в плазме, мкмоль/л	3,82±0,24	2,17±0,26*	2,91±0,24**	2,37±0,16
Клиренс креатинина, мкл/мин	647±77	387±54*	544±67	433±86

Примечания: * – достоверность различий ($P < 0,05$) у крыс при водной нагрузке; ** – достоверность различий ($P < 0,05$) между водной и солевой нагрузками.

центрации нитритов в плазме крови. Одновременно в крови уменьшается концентрация креатинина и нитратов. Увеличение диуреза обусловлено повышением скорости клубочковой фильтрации почти на 80%. Практически аналогичной является реакция почек на солевую нагрузку у беременных крыс.

Следует лишь обратить внимание, что выделение нитратов превышает их экскрецию у беременных при водной нагрузке, но оно значительно меньше, чем их выделение при солевой у небеременных животных. Необходимо подчеркнуть, что особенно резко возрастает клиренс креатинина, который более, чем в 2 раза превышает показатели при водном диурезе, хотя увеличение относительно солевой нагрузки у небеременных крыс является недостоверным.

Еще более значительные отличия деятельности почек отмечены нами при индуцированном диурезе у крыс с сулемовой нефропатией (табл. 2).

Показано, что при водной нагрузке у крыс с сулемовой нефропатией на 20-й день после индукции патологии, функциональное состояние почек практически не отличается от показателей у здоровых животных, более того диурез, экскреция креатинина и нитритов даже возрастают. Все же единственным значимым отличием, свидетельствующим о повреждении почек, является увеличение в 2 раза протеинурии. Иная картина наблюдается при изучении реакции почек на солевую нагрузку: уменьшаются диурез, экскреция нитратов, экскреция креатинина, еще больше увеличивается протеинурия. Однако самым существенным нарушением является снижение клиренса креатинина, который у здоровых крыс в этих условиях увеличивается почти вдвое, а при сулемовой нефропатии даже не-

сколько снижается. Но наибольшие изменения функционального состояния почек обнаружены нами у беременных крыс с сулемовой нефропатией (см. табл. 2). Так, при водной нагрузке выявлено уменьшение диуреза, как по сравнению с небеременными крысами здоровыми, так и при сулемовой нефропатии на фоне более высокой протеинурии, увеличении концентрации креатинина в плазме крови и снижении нитритов и нитратов, экскреция которых однако увеличивалась. Особенно нарушалось выведение креатинина, что и обусловило снижение клиренса креатинина более чем в два раза, в сравнении с небеременными крысами. Введение 3% раствора хлорида натрия беременным крысам с сулемовой нефропатией сопровождалось дальнейшим снижением диуреза, экскреции креатинина, экскреции нитратов, концентрации нитритов и нитратов в плазме крови на фоне протеинурии. Скорость клубочковой фильтрации была несколько выше, чем при водной нагрузке, однако в 2,5 раза снижалась по сравнению с показателями в группе здоровых небеременных крыс при солевой нагрузке.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами результаты подтверждают ранее опубликованные данные о том, что в механизме адаптации почек к солевой гиперосмотической нагрузке, каковой является введение 3% раствора хлорида натрия в объеме 5% от массы тела у здоровых крыс, важная роль принадлежит увеличению клубочковой фильтрации, которая возрастает почти вдвое и является следствием включения почечного резерва [1,8,9]. При этом подтверждается высказанное ранее предположение о том, что в таком почечном ответе принимает уча-

стие система оксида азота, судя по повышению экскреции при этом основных, стабильных его метаболитов – нитритов и нитратов.

Такое повышение фильтрации не только обеспечивает удаление из организма избытка введенных солей, но одновременно увеличивает выведение конечных продуктов обмена, что и подтверждается уменьшением концентрации креатинина в плазме крови. Во многом аналогичным был почечный ответ на водную и солевую нагрузки при беременности у крыс, указывающий на то, что механизмы адаптации к водно-солевым нагрузкам принципиально идентичны [10]. Следует отметить, что исследуемый нами период беременности у крыс можно отнести к третьему триместру у женщин. Ранее нами показано, что в этот период функция почек, после значительных адаптивных изменений в первом и втором триместрах, в основном, возвращается к показателям, характерным для небеременных женщин [1].

В целом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что способность регулировать водно-солевой гомеостаз у крыс на 17-20-й дни беременности соответствует норме. Можно лишь отметить, что при солевой нагрузке возрастает в большей мере выделение нитритов, чем нитратов. Последнее дает нам основание утверждать, что в реализации почечного ответа с увеличением клубочковой фильтрации, то есть включении почечного резерва, важная роль принадлежит системе оксида азота, которая на уровне почечной микроциркуляции обеспечивает повышение гломерулярного кровотока и, соответственно, величины ультрафильтрации. Образование NO в сосудах может носить также и системный характер, судя по увеличению нитритов и нитратов в плазме крови. Однако, как показали собственные исследования, введение экзогенных нитритов, которое приводит к повышению их концентрации в крови, даже снижает скорость клубочковой фильтрации [11].

Следовательно, на наш взгляд, основное количество оксида азота образуется непосредственно в почках. О последнем также может свидетельствовать тот факт, что повышение экскреции нитритов обратно пропорционально уменьшению их концентрации в плазме крови при солевых нагрузках у здоровых небеременных и беременных крыс. Параллельное увеличение выделения нитратов не исключает того, что часть нитритов окисляется до этого стабильного конечного продукта. В целом такое включение функционального почечного резерва дает возможность, как нами ранее показано, эффективно регулировать осмотический гомеостаз при водных и солевых нагрузках [12, 13].

Интересными оказались данные исследований функционального состояния почек у крыс при сулемовой нефропатии. Ранее нами подробно проанализирован острый период течения сулемовой нефропатии [13]. Однако в относительно отдаленном периоде, через 20 дней, функция почек практически не изучалась, так как предполагалась ее нормализация к этому периоду болезни. Однако мы установили, что остаточные явления повреждения почек наблюдаются в этот период и основным является протеинурия.

Интересно, что величина клубочковой фильтрации при водной нагрузке к этому времени нормализуется. Необычным был лишь при этом в 4 раза более высокий уровень экскреции нитритов, что, однако, соответствует данным литературы [14]. Между тем, после солевой нагрузки, которая требует, как показали исследования у здоровых крыс, включения почечного резерва при сулемовой нагрузке, выявлено его полное отсутствие. Клубочковая фильтрация не только не возросла, но даже несколько уменьшилась при той же протеинурии. Отсутствие реализации почечного резерва при солевой нагрузке наблюдалось параллельно с нарушением продукции оксида азота – выделение нитритов не повышалось и даже уменьшалось по сравнению с водной нагрузкой. На основании этих данных мы считаем, что при водной нагрузке у крыс с сулемовой нефропатией за счет активации продукции в почках оксида азота поддерживается близкий к нормальному уровень клубочковой фильтрации и в целом функции почек, т.е. имеет место компенсация за счет включения почечного резерва.

Солевая нагрузка не приводит к дополнительной продукции оксида азота, вследствие чего почечный резерв, ранее уже задействованный, недостаточен для дополнительного повышения фильтрации, вследствие чего адаптационные возможности почек к выведению осмотической нагрузки явно недостаточны [11].

Таким образом, неэффективность почечного ответа на солевую нагрузку дает возможность выявить скрытые компенсированные нарушения почечной функции у беременных крыс на 20-й день сулемовой нефропатии.

Известно, что беременность предъявляет дополнительные требования к функциональному состоянию почек [2]. Как свидетельствуют наши данные, развитие беременности у крыс с сулемовой нефропатией ухудшает течение почечной патологии. При этом функциональная недостаточность почек выявляется уже при водной нагрузке, что особенно наглядно демонстрируется уменьшением клубочковой фильтрации. После-

днее подтверждается ростом креатинина в плазме крови, и в целом – снижением способности выводить водную нагрузку.

При этом система оксида азота работает в режиме, аналогичном небеременным крысам с сулемовой нефропатией. Солевая нагрузка еще в большей мере проявляется признаками функциональной недостаточности почек: падают диурез, выведение осмотически активных веществ. Основой такой функциональной недостаточности, безусловно, является нарушение клубочковой фильтрации, которая у этих животных в 2,5 раза ниже, чем у здоровых беременных при солевой нагрузке. Следовательно, степень функциональной недостаточности при беременности у крыс с токсической нефропатией нарастает. И в этом случае одним из основных механизмов нарушения почечного резерва является недостаточность системы оксида азота – экскреция нитритов достоверно снижается.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в хроническом периоде сулемовой нефропатии у крыс имеет место скрытая функциональная недостаточность, которая компенсируется за счет включения почечного резерва с участием системы оксида азота.

Развитие беременности у крыс при токсических нефропатиях сопровождается увеличением степени функциональной почечной недостаточности при одновременном нарушении продукции оксида азота.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Запорожан ВН, Слученко АН, Гоженко А.И. Особенности осморегулирующей функции почек при беременности у белых крыс. *Клінічна та експериментальна патологія* 2004;3(2):397-400
2. Запорожан ВМ, Свірський ОО, Гоженко АІ, Галич СР. *Клінічна патофізіологія та патогенетична терапія прееклампсії* изд-во ОГМУ, Одесса, 2004;247
3. Дикусаров ВВ, Гоженко АИ. Состояние осморегулирующей функции почек при позднем токсикозе беременных. *Вопросы охр материнства и детства* 1984;(10):52-56
4. Рябов СИ, Наточин ЮВ, Бондаренко ББ. *Диагностика болезней почек*. Медицина, Л., 1979;256
5. Михеева АИ, Богодарова ИА. К методике определения общего белка в моче на ФЭК-Н-56. *Лаб дело* 1969;(7):441-442
6. Емченко НЛ, Цыганенко ОИ, Ковалевская ТВ. Универсальный метод определения нитратов в биосредах организма. *Клин лаб диагностика* 1994;(6): 19-20
7. Наточин ЮВ. *Физиология почки. Формулы и расчёты*. Наука, Л., 1974; 68
8. Запорожан ВН, Гоженко АИ, Доломатов СИ и др. *Авиакосмическая и экологическая медицина* 2004;38(5):58-59
9. Возіанов ОФ, Гоженко АІ, Федорук ОС. *Гостра ниркова недостатність*. изд-во ОГМУ, Одесса, 2003;376
10. Freedman BJ, Anderson YuH et al. Genetic analysis of nitric oxide and endothelin in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(11):1794-1800
11. Гоженко АИ, Доломатов СИ, Доломатова ЕА. Реакция почек белых крыс на введение малых доз нитрита натрия. *Нефрология* 2004;8(2):86-89
12. Гоженко АИ, Якименко ЛВ, Доломатов СИ и др. Особенности реакции почек на водно-солевую нагрузку при физиологической беременности и хроническом пиелонефрите. *Нефрология* 2002;6(1):79-81
13. Запорожан ВН, Гоженко АИ, Амбросийчук ЕВ и др. Особенности осморегулирующей функции почек при анемии беременных в условиях водно-солевых нагрузок. *Нефрология* 2002;6(1):75-78
14. Запорожан ВН, Гоженко АИ, Доломатов СИ и др. Функциональное состояние почек у женщин при нормальном и патологическом течении беременности в условиях водно-солевой нагрузки. *Нефрология* 2002;6(1):71-74

Поступила в редакцию 03.07.2005 г.