

© А.И.Гоженко, С.И.Доломатов, А.Н.Слученко, Е.А.Доломатова, Б.А.Насибуллин, 2003  
УДК [618.2:612.460/.463].001.5

*А.И. Гоженко, С.И. Доломатов, А.Н. Слученко, Е.А. Доломатова,  
Б.А. Насибуллин*

## СОСТОЯНИЕ ПОЧЕЧНОГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РЕЗЕРВА У БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

*A.I. Gozhenko, S.I. Dolomatov, A.N. Sluchenko, E.A. Dolomatova,  
B.A. Nasibullin*

## STATE OF RENAL FUNCTIONAL RESERVE IN WHITE RATS DURING PHYSIOLOGICAL COURSE OF PREGNANCY

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

### РЕФЕРАТ

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ** - изучение состояния почечного функционального резерва у крыс при беременности. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Исследование проведено на белых лабораторных крысах. Обследовано 4 группы животных: 1-я и 2-я группы – небеременные самки с массой тела 215-250 г, 3-я и 4-я группы – беременные крысы (вторая половина беременности, масса плодов 3-5 г) с массой тела 240-270 г. Величину почечного функционального резерва определяли по приросту клиренса креатинина между группой животных в условиях водной нагрузки (исходные значения СКФ) и острой осмотической нагрузки 3% раствором хлорида натрия (стимулированные значения СКФ). Состояние канальцевого отдела нефрона анализировали на основе изучения почечной экскреции кальция, фосфатов, осмотически активных веществ и белка. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Установлено, что у крыс при физиологическом течении беременности увеличивается величина почечного функционального резерва, что сопровождается ростом экскреции эндогенных нитратов и нитритов. Также при физиологическом течении беременности установлено повышение точности почечной регуляции осмотического гомеостаза. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** 1. Величина почечного функционального резерва у крыс при беременности возрастает. 2. При физиологическом течении беременности у крыс возрастает почечная экскреция неорганических окислов азота. 3. При беременности у крыс повышается точность почечных механизмов регуляции осмотического гомеостаза.

**Ключевые слова:** крысы, беременность, функциональное состояние почек.

### ABSTRACT

**THE AIM** of the investigation was to study the state of renal functional reserve in rats during pregnancy. **MATERIAL AND METHODS.** The investigation was performed in 4 groups of white laboratory rats: groups 1 and 2 - non-pregnant rats with body mass 215-250 g, groups 3 and 4 - pregnant rats (second half of pregnancy, mass of the fetuses 3-5 g) with body mass 240-270 g. The value of renal functional reserve was determined by increased creatinine clearance between groups of animals under conditions of water loading (basal CFR values) and acute osmotic loading with 3% solution of sodium chloride (stimulated CFR values). The state of the tubular portion of the nephron was analyzed on the basis of investigating renal excretion of calcium, phosphates, osmotically active substances and protein. **RESULTS.** It was found that in rats with physiological course of pregnancy the value of renal functional reserve was increased which was followed by increased excretion of endogenous nitrates and nitrites. It was also shown that during physiological course of pregnancy the renal regulation of osmotic homeostasis was more exact. **CONCLUSION.** 1. The value of the renal functional reserve in rats increases during pregnancy. 2. Renal excretion of inorganic nitrogen oxides increases in rats during physiological development of pregnancy. 3. Renal mechanisms of regulation of osmotic homeostasis work more exactly in pregnant rats.

**Key words:** rats, pregnancy, functional state of kidneys.

### ВВЕДЕНИЕ

Известно, что беременность сопровождается существенной перестройкой параметров водно-солевого обмена. Увеличение массы тела женщины во время беременности закономерно сопровождается ростом объема внеклеточной жидкости. Показано, что работа почек, одного из главных эфферентных органов регуляции осмотического, ионного, волемиического и кислотно-основного гомеостаза, также претерпевает значительные изменения [1]. Следствием таких событий являются

отчетливые сдвиги концентрационных и физико-химических показателей внеклеточной жидкости организма [2]. Наряду с этим происходит адекватная динамика внутривисцеральных и системных параметров гуморальной регуляции водно-солевого обмена [3,4]. Таким образом, роль почек при физиологическом течении беременности изучена достаточно подробно и важность их в адаптации организма не вызывает сомнений.

Между тем, во многом остается не выясненным, в какой мере при физиологической беремен-

### Показатели водно-солевого обмена и деятельности почек беременных и небеременных крыс в условиях водной и осмотической нагрузок ( $\bar{X} \pm m$ )

Исследуемые показатели	Небеременные крысы		Беременные крысы	
	Водная нагрузка n=12	Осмотическая нагрузка n=13	Водная нагрузка n=12	Осмотическая нагрузка n=12
Диурез, мл/ч	1,7±0,2	1,1±0,3	1,8±0,3	2,1±0,2 - p2<0.01
Клиренс креатинина, мкл/мин	497±18	662±29	422±14 p1<0.05	1011±31 p1<0.05 p2<0.01
Нитраты и нитриты плазмы крови, мкмоль/л	8,9±0,2	7,4±0,1	17,7±0,4 p1<0.05	9,8±0,4 p1<0.01 p2<0.01
Осмоляльность плазмы крови, мосм/кг H <sub>2</sub> O	298±2	327±1	289±2 p1<0.05	314±3 p1<0.01 p2<0.01
Нитраты и нитриты мочи, мкмоль/л	6,5±0,1	27,3±0,3	26,5±0,2 p1<0.05	41,6±0,7 p1<0.01 p2<0.05
Экскреция нитратов и нитритов на 1 мл КФ, мкм/мл	0,0005±0,0001	0,0008±0,0001	0,0021±0,0001 p1<0.01	0,0017±0,0001 - p2<0.01
Экскреция ОАВ на 1 мл КФ, мосм/мл	0,005	0,019	0,007	0,026
Экскреция фосфатов на 1 мл КФ, мкмоль/мл	0,21±0,02	0,25±0,03	0,38±0,01 p1<0.01	0,43±0,01 - p2<0.01
Экскреция кальция на 1 мл КФ, мкмоль/мл	0,023	0,081	0,050 p1<0.01	0,081 p1<0.01
Экскреция белка на 1 мл КФ, мг/мл	0,0017±0,0001	0,0014±0,0001	0,0016±0,0003	0,0015±0,0001

Примечание. n- количество наблюдений; p1- показатель достоверности отличий в сравнении с водной нагрузкой в группах беременных крыс, p2- показатель достоверности отличий между беременными и небеременными крысами при использовании аналогичных видов нагрузки.

ности реализуется почечный функциональный резерв.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на белых лабораторных крысах. Было обследовано 4 группы животных: 1-я и 2-я группы – небеременные самки с массой тела 215-250г, 3-я и 4-я группы – беременные крысы (вторая половина беременности, масса плодов 3-5 г) с массой тела 240-270г. Крысам 1-й и 3-й группы проводили водную нагрузку в объеме 5% от массы тела. Крысам 2-й и 4-й – осмотическую нагрузку 3% раствором хлорида натрия в объеме 5% от массы тела. Воду и солевой раствор вводили внутрижелудочно металлическим зондом. После введения жидкости крысы помещались в обменные клетки для сбора мочи. Мочу собирали в течение 2 часов. Из эксперимента животных выводили при помощи декапитации под легкой эфирной анестезией. Кровь стабилизировали гепарином, затем центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин. В полученных образцах мочи и плазмы определяли:

1. Белок в моче – на фотометре «КФК-3» (Россия) сульфосалициловым методом.

2. Креатинин плазмы и мочи определяли фотометрически на спектрофотометре «СФ-46» (Россия) по реакции с пикриновой кислотой.

3. Осмоляльность мочи и плазмы определяли криоскопическим методом на осмометре 3D3, Advanced Instruments (США).

4. Концентрацию неорганических фосфатов в моче и плазме крови определяли фотометрическим методом ( $\lambda=670$  нм) на спектрофотометре СФ-46 с использованием молибденовокислого аммония. При этом в образцах плазмы крови проводили предварительную депротеинизацию в присутствии 5% раствора трихлоруксусной кислоты.

5. Концентрацию общего кальция плазмы крови и мочи определяли фотометрическим методом ( $\lambda=590$  нм) на спектрофотометре СФ-46 в реакции с Арсеназо-III, с использованием стандартных наборов для *in vitro* диагностики производства фирмы Simko ltd. (Украина).

6. Сумму концентраций нитратов и нитритов плазмы крови и мочи определяли фотометрически на спектрофотометре СФ-46 по следующей методике [5]:

- в центрифужную пробирку помещают 0,25 мл 50% раствора сульфата цинка, 0,25 мл 17% раствора феррицианида железа, 1 мл мочи (плазмы, воды – для холостой пробы), добавляют 0,5 мл аммиачно-хлоридного буфера ( величина рН 9,6) и 1 мл дистиллированной воды;

- полученную смесь перемешивают и центри-

фигурируют в течение 20 мин при 3000 об/мин;

- отбирают 2,5 мл надосадочной жидкости в колбу, объемом 25 мл, прибавляют 1,25 мл аммиачно-хлоридного буфера, 1,25 мл дистиллированной воды, перемешивают и пропускают через колонку с губчатым кадмием, вначале холостую пробу, затем испытуемые;

- элюат собирают в ту же мерную колбу, добавляют 2 мл 4% раствора реактива Грисса, дополняют до метки объем смеси дистиллированной водой и оставляют на 10 мин;

- измерение против холостой пробы проводят в кювете с длиной оптического хода 10 мм ( $\lambda=540$  нм);

- калибровочный график строили по результатам фотометрического анализа растворов нитрата натрия в диапазоне концентраций от 0 до 200 мкмоль/л.

Величины клиренса креатинина и почечной экскреции веществ рассчитывали на 100 г массы тела в соответствии с формулами, предложенными Ю.В.Наточиным.

Статистический анализ полученных данных проводили по общепринятой методике с использованием критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные исследования показали, что в ответ на осмотическую нагрузку отмечается повышение клиренса креатинина, как у беременных, так и у небеременных животных (таблица). В то же время в группе беременных крыс прирост показателя клиренса креатинина значительно выше. Важно отметить, что индуцированное осмотической нагрузкой увеличение клиренса креатинина сопровождается повышением почечной экскреции эндогенных нитратов и нитритов (NO<sub>n</sub>). Выявленное усиление почечного выделения NO<sub>n</sub> более выражено в группе беременных крыс. Причем на фоне увеличения почечной экскреции NO<sub>n</sub> уровень данных веществ во внеклеточной жидкости снижается, соответственно на 17% у небеременных и в 1,8 раза у беременных крыс. Также установлено, что при водной нагрузке осмоляльность внеклеточной жидкости при беременности достоверно ниже. Введение 3% раствора хлорида натрия сопровождается отчетливым повышением осмоляльности плазмы крови во 2-й и 4-й группах, однако у беременных крыс данный показатель достоверно ниже. Согласно данным литературы, расчеты экскреции веществ на единицу массы тела и объема клубочкового фильтрата вполне объективно отражают функциональное состояние почечной паренхимы. Результаты наших исследований показывают, что

независимо от вида нагрузки показатели стандартизированной на единицу объема фильтрата экскреции фосфатов, кальция и NO<sub>n</sub> достоверно выше при беременности. В то же время величины экскреции белка и осмотически активных веществ при одинаковых видах нагрузки мало отличаются у беременных и небеременных животных.

Таким образом, установлено, что осмотическая нагрузка, по сравнению с водной, приводит к более выраженному повышению параметров клиренса креатинина и почечной экскреции NO<sub>n</sub> у беременных крыс в сравнении с небеременными. Также при диурезе, индуцированном водной и осмотической нагрузками, регистрируются более высокие значения экскреции фосфатов и кальция.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование состояния водно-солевого обмена и функции почек при физиологическом и патологическом течении беременности является актуальным направлением современной медицинской науки и практики. Ранее было показано, что становление и развитие патогенетических механизмов преэклампсии тесно связано с нарушением показателей водно-солевого гомеостаза [6] и функции почек [7]. Между тем уже на ранних сроках беременности имеет место существенное увеличение параметров почечной гемодинамики и скорости клубочковой фильтрации (СКФ) [1]. В то же время, по данным литературы, более высокие величины СКФ при беременности наблюдаются при внутривенной инфузии солевого раствора [4]. Таким образом, при беременности имеет место перестройка водно-солевого обмена и деятельности почек, однако физиологические механизмы этого явления изучены недостаточно. Согласно опубликованным данным, методика оценки состояния почечного функционального резерва (ПФР) достаточно точно характеризует степень ренальных дисфункций в клинических исследованиях [8] и в эксперименте [9,10]. Помимо определения величины индуцированного прироста СКФ, данная методика позволяет оценивать и эффективность работы канальцевого отдела нефрона [9]. Оценивая с изложенных позиций полученные результаты можно сделать некоторые заключения.

Мы считаем, что адаптация почки в условиях физиологического течения беременности включает цепь последовательных приспособительных реакций, позволяющих обеспечить повышение эффективности гомеостатических реакций почки. В частности, отмечается повышение величины почечного функционального резерва в группе беременных животных. Кроме того, в условиях острой

осмотической нагрузки величина диуреза и экскреции осмотически активных веществ также возрастает. Совокупность приведенных особенностей, по нашему мнению, отражает адаптивные реакции почки, направленные на повышение точности и мощности регуляции осмотического гомеостаза в организме матери и плода. В данном случае удаление избытка осмотически активных веществ (ОАВ) обеспечивается в основном за счет увеличения скорости клубочковой фильтрации, а следовательно, и канальцевой загрузки ОАВ на фоне незначительных отличий канальцевой реабсорбции (судя по величине экскреции ОАВ на единицу клубочкового фильтрата). Об эффективности работы осморегулирующей функции почек при беременности можно судить по более низким значениям осмоляльности плазмы у беременных животных, как при водной, так и при солевой нагрузках. Отметим, что полученные результаты не противоречат данным литературы об особенностях состояния осмотического гомеостаза при беременности [11].

В группах беременных крыс, как при водной, так и при осмотической нагрузках, зарегистрированы более значимые величины почечной экскреции нитратов и нитритов. Возможно, базальный уровень продукции эндогенных нитратов и нитритов – важного элемента цикла оксида азота в организме [12] – существенно повышается при беременности. Уместно отметить, что показатель концентрации нитритов и нитратов в плазме крови имеет противоположную динамику, т.е. снижается пропорционально приросту их почечной экскреции. По нашему мнению, такая закономерность свидетельствует о том, что с одной стороны уровень неорганических оксидов азота в плазме крови – важный физиологический показатель, значения которого необходимо удерживать в определенных оптимальных пределах. С другой стороны, такие наблюдения позволяют согласиться с выводом о том, что почки выполняют важную роль в поддержании системного уровня этих соединений, в том числе и их продукции [13,14].

Обсуждая состояние канальцевого транспорта, отметим, что на фоне несколько повышенного уровня стандартизированной экскреции  $\text{NO}_x$  в группах беременных крыс в условиях нагрузочных проб имеет место увеличение показателей экскреции кальция и фосфатов. Вместе с тем экскреция белка на единицу объема фильтрата при беременности достоверно не изменяется. Также не зарегистрировано значимого влияния осмотической нагрузки на данный показатель. Экскреция ОАВ при этом существенно не изменяется у беременных крыс по сравнению с небеременными при

одинаковых видах нагрузок. Сопоставляя приведенные наблюдения можно предположить, что некоторые особенности канальцевой реабсорбции веществ при беременности имеют место. В частности, повышение экскреции фосфатов, реабсорбируемых преимущественно в проксимальном отделе нефрона [15], можно рассматривать, как признак достижения пределов объема их реабсорбции в этом отделе канальца. Мы также не исключаем, что одновременное повышение экскреции кальция и фосфатов у беременных крыс может быть вызвано в том числе и сдвигами показателей кислотно-основного равновесия в сторону более кислых значений. Вероятными причинами которого может быть относительное снижение содержания оснований при 5% водной нагрузке и поступление избыточных количеств ионов хлора – при солевой. Нельзя исключить, что одной из возможных причин модуляции канальцевого транспорта веществ является повышенная продукция и почечная экскреция  $\text{NO}_x$ . Такое предположение основывается на данных литературы о том, что главным местом реабсорбции нитратов и нитритов является проксимальный отдел нефрона [16]. Действительно, на фоне повышения осмоляльности внеклеточной жидкости под влиянием введения раствора хлорида натрия, вопреки ожидаемому снижению мочеотделения, величина диуреза в группе беременных животных не уменьшается. Вполне возможно, что индуцированное осмотической нагрузкой повышение концентрации нитритов и нитратов в моче оказывает прямое влияние не только на показатели фильтрации, но и на темпы реабсорбции осмотически активных веществ [16,17], а также воды через систему аквапоринов [18] в нефроне.

Способность почек беременных животных к реализации почечного функционального резерва (ПФР) и значительное повышение абсолютных величин ПФР при беременности указывает на то, что адаптационная перестройка почечной деятельности к условиям физиологической беременности реализуется как на сосудисто-клубочковом, так и на канальцевом уровнях.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Величина почечного функционального резерва у крыс при беременности возрастает.
2. При физиологическом течении беременности у крыс возрастает почечная экскреция неорганических оксидов азота.
3. При беременности у крыс повышается точность почечных механизмов регуляции осмотического гомеостаза.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Roberts M, Lindheimer MD, Davison JM. Altered glomerular permselectivity to neutral dextrans and heteroporous membrane modeling in human pregnancy. *Am J Physiol* 1996; 270(2): F338-F343
2. Fan L, Mukaddam-Daher S, Gutkowska J et al. Enhanced natriuretic response to intrarenal infusion of atrial natriuretic factor during ovine pregnancy. *Am J Physiol* 1996; 270(5): R1132-R1140
3. Bernard A, Thielemans N, Lauwerys R, van-Lierde M. Selective increase in the urinary excretion of protein 1 (Clara cell protein) and other low molecular weight proteins during normal pregnancy. *Scand J Clin Lab Invest* 1992; 52(8): 871-878
4. Faas MM, Schuiling GA, Klok PA et al. The glomerular filtration rate during pregnancy: saline infusion enhances the glomerular filtration rate in the pregnant rat. *Kidney Blood Press Res* 1996; 19(2):121-127
5. Емченко НЛ, Цыганенко ОИ, Ковалевская ТВ. Универсальный метод определения нитратов в биосредах организма. *Клин лаб диагностика* 1994; (6):19-20
6. Дикусаров ВВ, Гоженко АИ. Состояние осморегулирующей функции почек при позднем токсикозе беременных. *Вопр охр материнства и детства*. 1984; (10): 52-56
7. Запорожан ВН, Свирский АА, Гоженко АИ и др. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система у беременных с гестозом. *Медична хімія (Тернополь)* 2001; 3(2): 55-57
8. Sturgiss SN, Wilkinson R, Davison JM. Renal reserve during human pregnancy. *Am J Physiol* 1996; 271(1): F16-F20
9. Гоженко АИ, Карчаускас ВЮ, Долوماتов СИ. Влияние гиперосмотической и водной нагрузок на функциональное состояние почек белых крыс при экспериментальной нефропатии, вызванной хлоридом ртути. *Нефрология* 2002; 6(3):72-74
10. Гоженко АИ, Карчаускас ВЮ, Долوماتов СИ, Долوماتова ЕА, Пыхтев ДМ. Функция почек при кадмиевой нефропатии в условиях водной и солевой нагрузок. *Нефрология* 2002; 6(3):75-78.
11. Рябов СИ, Наточин ЮВ. *Функциональная нефрология*. Лань, СПб.:1997
12. Реутов ВП, Сорокина ЕГ, Охотин ВЕ, Косицын НС. *Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих*. Наука, М.: 1998
13. Godfrey M, Majid DS. Renal handling of circulating nitrates in anesthetized dogs. *Am J Physiol* 1998; 275(1): F68-F73
14. Гоженко АИ. Роль оксида азота в молекулярно-клеточных механизмах функции почек. *Укр биохим журнал* 2002; 74(4а): 96
15. Murer H, Hernando N, Forster I, Biber J. Proximal tubular phosphate reabsorption: molecular mechanisms. *Physiol Rev* 2000; 80(4): 1373-1409
16. Zeballos GA, Bernstein RD, Thompson CI, Forfia PR. Pharmacodynamics of plasma nitrate/nitrite as an indication of nitric oxide formation in conscious dogs. *Circulation* 1995; 91(12): 2982-2988
17. Suto T, Losonczy G, Qiu C et al. Acute changes in urinary excretion of nitrite + nitrate do not necessarily predict renal vascular NO production. *Kidney Int* 1995; 48(4): 1272-1277
18. Murase T, Tian Y, Fang XY, Verbalis JG. Synergistic effects of nitric oxide and prostaglandins on renal escape from vasopressin-induced antidiuresis. *Am J Physiol* 2003; 284(2): R354-R362

Поступила в редакцию 23.08.2003 г.