

# ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИИ НА ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ

УДК 577.352.3

## ИЗМЕНЕНИЯ МАКРО- И МИКРОГЕМОДИНАМИКИ В НЕФРОНЕ И ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЕ В УСЛОВИЯХ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА ПРИ КАДМИЕВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС

© 2010 Ж.Р. Битарова<sup>1</sup>, Ф.С. Дзугкоева<sup>2</sup>, Е.А. Такоева<sup>2</sup>, С.Г. Дзугкоев<sup>2</sup>, А.И. Тедтоева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Северо-Осетинская государственная медицинская академия, г. Владикавказ

<sup>2</sup> Институт биомедицинских исследований Владикавказского научного центра РАН  
и Правительства РСО-Алания

Поступила в редакцию 01.10.2010

Сульфат кадмия как ион с переменной валентностью может индуцировать образование активных метаболитов кислорода, инициирующих перекисное окисление липидов (ПОЛ). В результате образуются первичные, промежуточные и конечные продукты ПОЛ, оказывающие повреждающее действие на фосфолипиды клеточных мембран. Мембранотоксическое действие приводит к изменению водо- и электролитовыделительной функции почек. В качестве мишени может быть мембранный фермент  $\text{Na}^{2+}, \text{K}^{+}$ -АТФ-аза.

Ключевые слова: *перекисное окисление липидов, гемодинамика, антиокислительная защита, соли тяжелых металлов*

Известно, что в городах с развитой промышленностью и транспортом отмечается повышение в атмосфере ионов тяжелых металлов, в частности кадмия, который обладает сродством к структурам мембран таких органов, как почки и печень [6]. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) – основной патогенетический механизм, индуцирующий нефротоксическое действие ионов тяжелых металлов. Увеличивается концентрация активных форм кислорода (АФК), стимулирующих процессы ПОЛ и играющих важную роль в повреждении структур нефрона и сосудистой стенки [2]. Кроме того, пероксидация сопровождается деформацией мембранных липопротеиновых комплексов клеточных мембран, изменением физико-химических свойств и активности мембраносвязанных ферментов, в частности  $\text{Na}^{+}, \text{K}^{+}$ -АТФ-азы [1].

**Цель настоящей работы:** изучение активности ПОЛ, антиокислительной защиты клетки и микроциркуляторных нарушений в развитии нефропатии на фоне кадмиевой интоксикации у крыс в хроническом эксперименте.

*Битарова Жанна Руслановна, аспирантка  
Дзугкоева Фира Соломоновна, доктор медицинских наук,  
профессор, заместитель директора. E-mail: firabelikova@mail.ru.*

*Такоева Елена Астановна, младший научный сотрудник.  
E-mail: elena\_takoeva@mail.ru*

*Дзугкоев Сергей Гаврилович, кандидат медицинских наук,  
младший научный сотрудник*

*Тедтоева Анжелика Ираклиевна, аспирантка*

Для реализации данной цели нами были проведены эксперименты на крысах-самцах линии Вистар. Кадмиевую интоксикацию вызывали путем ежедневного подкожного введения раствора  $\text{CdSO}_4$  в дозе 0,8 мг/кг веса животного в течение 2 недель и 1 месяца. Опыты проводились на 70 крысах-самцах линии Вистар, массой 180-210 г. Крысы в течение эксперимента находились на стандартном пищевом рационе и имели свободный доступ к воде и пище в течение суток. Хроническую кадмиевую интоксикацию вызывали путем ежедневного парентерального введения раствора сульфата кадмия в дозе 0,8 мг/кг массы животного в течение 2 недель и 1 месяца. Мы исследовали следующие показатели:

1. Интенсивность ПОЛ в мембранах эритроцитов – аналогов тканевых клеток, исследовали по данному изменению концентрации малонового диальдегида (МДА) колориметрическим методом с тиобарбитуровой кислотой по методу Asacawa T., (1980).

2. Состояние антиоксидантной системы оценивали по активности каталазы в сыворотке крови, определяемую методом М.А. Королюка и соавт., (1988) и СОД по методу аутоокисления адреналина.

3. Активность  $\text{Na}^{+}, \text{K}^{+}$ -АТФ-азы определяли методом Scow J.C., (1957). Удельную активность фермента рассчитывали на мг белка в час (мкмоль/Рн/мг белка/час). Содержание общего белка определяли по методу Lowry O.H., (1951).

4. Показатели кадмиевой нефропатии: изменения диуреза, скорости клубочковой фильтрации (СКФ), процент канальцевой реабсорбции воды ( $R_{H_2O}$ ), экскреция электролитов Na, K, их фильтрационные заряды ( $\Phi_3Na$ ,  $\Phi_3K$ ) и канальцевая реабсорбция Na ( $R_{Na\%}$ ), которые рассчитывали по формулам Наточина Ю.В. (1974). Концентрацию натрия и калия в плазме крови определяли методом пламенной фотометрии.

5. Гемодинамику в магистральных сосудах (брюшная аорта, почечные артерии, нижняя полая вена) и в микроциркуляторном звене. Исследовали перфузию тканей (жидкостный обмен) в различных точках локации (конечности, основание хвоста). Кровоток регистрировали ультразвуковым портативным доплерографом ММ-Д-Ф фирмы «МИНИМАКС» на наркотизированных интактных животных и крысах с кадмиевой интоксикацией. Использовали датчик с частотой 10 МГц. Для каждой зоны локации прибор регистрировал основные параметры кровотока: среднюю (M), систолическую (S) и диастолическую (D) скорости кровотока, пульсовый индекс ( $P_i$ ), реографический индекс ( $R_i$ ), градиент давления (GD).

6. Математическую обработку полученных результатов производили методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента на ПК типа IBM PC с использованием программы Microsoft Excel.

Анализ полученных в ходе экспериментов данных показал увеличение спонтанного диуреза и снижение уровня канальцевой реабсорбции воды, что и обеспечивает возрастание величины диуреза. На фоне 5% водной нагрузки снижается объем трехчасового диуреза и падает процент выведения водной нагрузки, что свидетельствует о нарушении функциональной способности почек в

условиях нагрузочной пробы. Нарушение гемодинамики в почечных артериях у экспериментальных животных сопровождается увеличением экскреции ионов натрия и калия с мочой вследствие снижения уровня канальцевой реабсорбции натрия и фильтрационного заряда калия. Для выяснения механизма нарушенного транспорта натрия была проведена оценка активности ионотранспортирующего фермента  $Na^+,K^+$ -АТФ-азы. Данный фермент обеспечивает активный транспорт натрия и калия, используя энергию макроэргических фосфатных связей АТФ. Исследования активности  $Na^+,K^+$ -АТФ-азы в гомогенатах коркового и мозгового слоев почечной ткани на фоне кадмиевой интоксикации показали, что интоксикация, вызванная дозой 0,8 мг/кг веса животного в течение 2 недель и 1 месяца, сопровождается достоверным понижением активности  $Na^+,K^+$ -АТФ-азы как в мозговом, так и в корковом веществе почечной ткани (рис. 1).

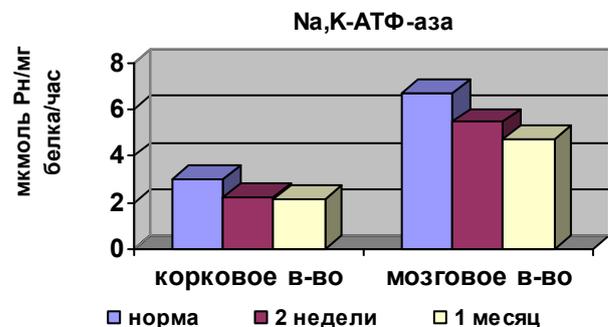


Рис. 1. Показатели активности  $Na^+,K^+$ -АТФ-азы в гомогенатах коркового и мозгового вещества почечной ткани на фоне интоксикации сульфатом кадмия

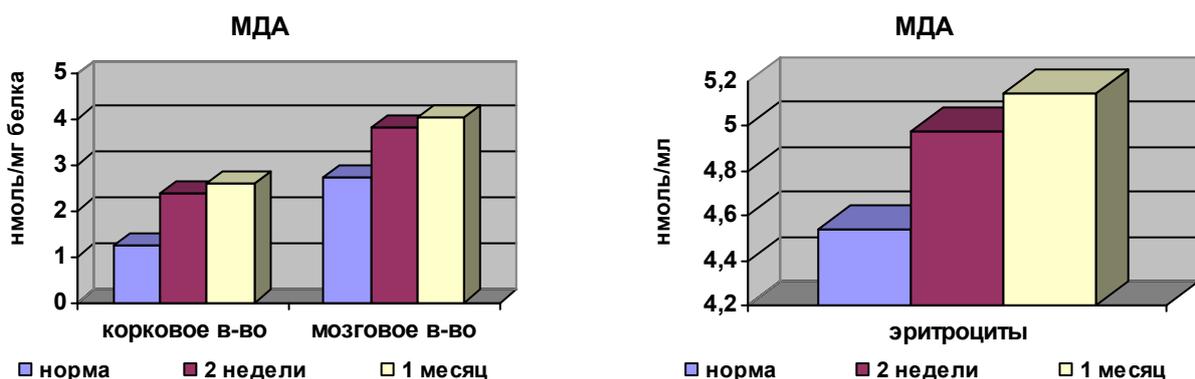


Рис. 2. Концентрация МДА в эритроцитах и гомогенатах коркового и мозгового вещества почечной ткани

Важную роль в структурно-функциональной модификации биологических мембран, изменении их физико-химических свойств и проницаемости играет ПОЛ – универсальный процесс, протекающий в мембранах и в физиологических условиях. Поскольку интенсификация

процесса ПОЛ играет важную патогенетическую роль в повреждении структур нефрона и сосудистой стенки, формировании ангио-нефропатии при многих токсических воздействиях, мы исследовали активность свободнорадикальных реакций на фоне кадмиевой интоксикации. Данные

показали, что у крыс с подкожным введением сульфата кадмия, происходит активирование процессов ПОЛ в эритроцитах, что подтверждалось увеличением в них концентрации вторичного продукта ПОЛ –МДА. Это сопровождалось повышением активности каталазы и снижением активности супероксиддисмутазы. Исследования концентрации МДА в гомогенатах коркового и мозгового веществ почечной ткани также показали, что наблюдается увеличение концентрации МДА в слоях почек (рис. 2), причем наиболее выраженное угнетение активности фермента было обнаружено в мозговом слое почечной ткани.

Это согласуется с тем, что толстый восходящий отдел петли Генле, в котором функционирует данный фермент, локализуется в мозговом веществе почек. В условиях окислительного стресса структурная модификация липидного компонента мембраны клеток почечных канальцев, в частности ПОЛ, может изменять конформацию встроенной транспортной  $Na^+, K^+$ -АТФ-азы. Нами выявлена прямая корреляционная взаимосвязь между концентрацией МДА и снижением активности  $Na^+, K^+$ -АТФ-азы в корковом и мозговом веществе почек ( $r=-0,69$ ;  $r=-0,71$ ).

**Таблица 1.** Динамика изменения показателей гемодинамики при интоксикации сульфатом кадмия

Точка локализации	Контроль						Сульфат кадмия (M±m)					
	M	S	D	P <sub>1</sub>	GD	R <sub>1</sub>	M	S	D	P <sub>1</sub>	GD	R <sub>1</sub>
	см/с	см/с	см/с	см/с	мм.рт.ст.	у.ед.	см/с	см/с	см/с	см/с	мм.рт.ст.	у.ед.
перфузия	1,41	9,37	6,94	13,16	0,039	1,59	1,068 <sup>1)</sup>	6,78 <sup>11)</sup>	6,91	17,42 <sup>111)</sup>	0,028	1,78 <sup>1)</sup>
	0,14	0,39	0,27	0,43	0,003	0,061	0,103	0,98	0,12	1,28	0,008	0,07
БА	11,72	36,14	2,07	2,98	0,51	0,98	14,83 <sup>1)</sup>	39,57 <sup>1)</sup>	1,39 <sup>111)</sup>	2,01 <sup>111)</sup>	0,59 <sup>1)</sup>	0,89 <sup>11)</sup>
	0,97	0,89	0,11	0,191	0,021	0,03	1,12	1,27	0,17	0,24	0,032	0,02
НПВ	8,87	15,91	1,073	1,692	0,112	1,052	7,82 <sup>1)</sup>	14,10 <sup>1)</sup>	1,13	2,49 <sup>1)</sup>	0,214 <sup>1)</sup>	1,157 <sup>1)</sup>
	0,41	0,53	0,82	0,29	0,018	0,031	0,27	0,61	0,49	0,23	0,041	0,038
ПА лев	4,78	20,01	4,41	4,96	0,12	1,26	6,19 <sup>1)</sup>	22,18 <sup>1)</sup>	3,97	3,83 <sup>111)</sup>	0,21 <sup>1)</sup>	1,12 <sup>11)</sup>
	0,29	0,74	0,49	0,187	0,031	0,037	0,62	0,59	0,36	0,37	0,026	0,034
ПА прав	4,47	19,45	4,68	4,72	0,15	1,24	5,77 <sup>11)</sup>	21,43 <sup>11)</sup>	4,12	3,61 <sup>1)</sup>	0,24 <sup>1)</sup>	1,09 <sup>11)</sup>
	0,35	0,69	0,51	0,27	0,019	0,037	0,43	0,48	0,42	0,48	0,038	0,031

Примечание: БА – брюшная аорта, НПВ – нижняя полая вена, ПА – почечная артерия (правая и левая); <sup>111)</sup> - p<0,001; <sup>11)</sup> - p<0,01; <sup>1)</sup> - p<0,02; <sup>1)</sup> - p<0,05 относительно контроля; <sup>2222)</sup> - p<0,001; <sup>222)</sup> - p<0,01; <sup>22)</sup> - p<0,02; <sup>2)</sup> - p<0,05 относительно дозы 0,8 мг/кг веса; <sup>3333)</sup> - p<0,001; <sup>333)</sup> - p<0,01; <sup>33)</sup> - p<0,02; <sup>3)</sup> - p<0,05 относительно дозы 1,0 мг/кг веса

Одним из универсальных проявлений ангиопатии при многих заболеваниях и токсических воздействиях является нарушение гемодинамики. В наших исследованиях выявлена динамика изменения средней скорости кровотока в крупных сосудах и перфузии тканей у крыс с кадмиевой интоксикацией по сравнению с интактными. Выявленные изменения сопровождались повышением сосудистого тонуса, нарушениями микроциркуляции и снижением жидкостного обмена – перфузии. На фоне интоксикации сульфатом кадмия определяется повышение средней скорости кровотока в крупных сосудах (БА, ПА), отмечено снижение процессов жидкостного обмена (перфузии) в сосудах микроциркуляции.

Данные перфузии тканей показали, что во всех точках локации выявлено снижение средней скорости кровотока (M), что произошло вследствие снижения систолической скорости кровотока (S). Реографические показатели характеризовались более высокими значениями индекса Гослинга, отражающего повышение упруго-

эластических свойств (плотности) сосудистой стенки, что может быть связано с повышением ОПСС и снижением градиента давления в сосудах микроциркуляторного русла. В то же время пульсовый индекс снижается в магистральных сосудах (БА, ПА), но повышается в НПВ. Индекс Пурсело (реографический индекс R<sub>1</sub>), который отражает удельное периферическое сосудистое сопротивление (УПСС), у животных был статистически достоверно выше, чем в контроле (табл. 1).

Таким образом, при интоксикации, вызванной подкожным введением сульфата кадмия в дозе 0,8 мг/кг веса животного в течение 2 недель и 1 месяца, отмечается падение активности  $Na^+, K^+$ -АТФ-азы в гомогенатах коркового и мозгового вещества почечной ткани в условиях активации ПОЛ. Развивается окислительный стресс и происходит угнетение активности СОД, хотя наблюдается компенсаторное повышение активности каталазы (рис. 3).

Активные формы кислорода, которые повышают концентрацию МДА в крови, инициируют ПОЛ в мембранах эритроцитов, вызывают

дозозависимые изменения функции эндотелия, микроциркуляции и жидкостной перфузии в сосудах микроциркуляции в эксперименте у крыс, что выражается в повышении сосудистого тонуса,

повышении УПСС и снижении жидкостного обмена из-за увеличения плотности сосудистой стенки микроциркуляторного русла.

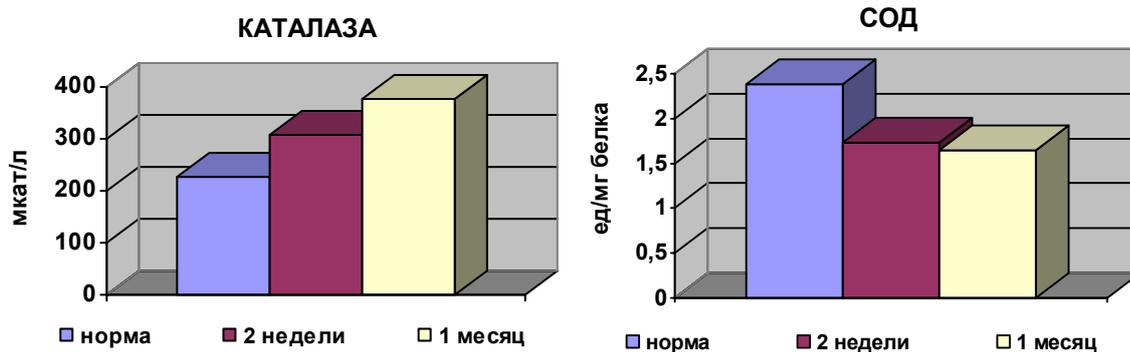


Рис. 3. Состояние антиокислительной системы на фоне интоксикации сульфатом кадмия

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Киреев, Р.А. Влияние ионов кадмия на свободнорадикальные процессы и активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-азы в тканях крыс // Токсикологический вестник. – 2005. №4. С. 12-15.
2. Мирзоев, Э.Б. Оценка интенсивности процесса перекисного окисления липидов и проницаемости плазматической мембраны для ионов кальция в тимocyтах крыс при воздействии кадмия // Токсикологический вестник. 2005. № 1. С. 35-38.
3. Османов, И.М. Роль тяжелых металлов в формировании заболеваний органов мочевой системы // Российский вестник перенатологии и педиатрии. 1996. №1. С. 36-39.
4. Радцева, Г.Л. Морфологические изменения в сосудистой системе и тканях органов иммунной системы при длительном поступлении кадмия / Г.Л. Радцева, В.П. Еришова, Ю.А. Радцев, Т.В. Акимова // Сборник: Влияние антропогенных факторов на сосудистую и нервную системы. 1997. С. 55-57.
5. Третьяков, А.М. Свободнорадикальные процессы в реализации токсического действия тяжелых металлов / А.М. Третьяков, А.Д. Скридоненко // М., 2001. С. 35.
6. Янин, Е.П. Кадмий в пылевых выбросах промышленных предприятий и его роль в загрязнении производственной и окружающей среды // Медицина труда и промышленная экология. 2006. №9. С. 1-5.

### CHANGES OF MACRO- AND MICROHEMODYNAMICS IN A NEPHRON AND PERIPHERIC VASCULAR SYSTEM IN CONDITIONS OF OXIDATIVE STRESS AT CADMIUM INTOXICATION IN RATS

© 2010 J.R. Bitarova<sup>1</sup>, F.S. Dzugkoeva<sup>2</sup>, E.A. Takoeva<sup>2</sup>, S.G. Dzugkoev<sup>2</sup>, A.I. Tedtoeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>North-Osetia State Medical Academy, Vladikavkaz

<sup>2</sup>Institute of Biomedical Researches Vladikavkaz Scientific Centre RAS and Government of RSO-Alania

Cadmium sulphate as an ion with variable valency can induce formation of active oxygen metabolites, initiating peroxide oxidation of lipids (POL). As a result there formed primary, intermediate and end-products of POL, having damaging effect on cellular membranes phospholipids. Membrane toxic action leads to change water-and electrolyte excretory function of kidneys. As a target there can be membranous enzyme  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ.

Key words: *peroxide oxidation of lipids, hemodynamic, antioxidizing protection, salts of heavy metals*

Janna Bitarova, Post-graduate Student

Fira Dzugkoeva, Doctor of Medicine, Professor, Vice Director. E-mail: fira-belikova@mail.ru.

Elena Takoeva, Minor Research Fellow. E-mail: elena\_takoeva@mail.ru

Sergey Dzugkoev, Candidate of Medicine, Minor Research Fellow

Angelika Tedtoeva, Post-graduate Student