

УДК 546.8 : 615.27

КОРРЕКЦИЯ КОМБИНАЦИЕЙ ТАУРИНА С ЦИНКА ДИАСПАРТАТОМ НАРУШЕНИЙ СТРУКТУРЫ ПОЧЕК У КРЫС С СУЛЕМОВОЙ НЕФРОПАТИЕЙ¹

О.Н. Басалай,
Е.Ч. Михальчук,
М.И. Бушма,
С.М. Зиматкин

УО «Гродненский
государственный медицинский
университет» МЗ РБ, 230005,
г. Гродно, Республика Беларусь

Комбинация таурина (20 г/моль – 2,5 г) с цинка диаспартатом (1 г/моль – 0,35 г) («тауцин»), вводимая в желудок в дозах 250 и 500 мг/кг – 14 дней, обладает дозозависимым нефрозащитным действием при сулемовой (внутрибрюшинно, 0,1 мг/кг – 14 дней) нефропатии у крыс. Это проявляется увеличением объема первичной мочи в клубочках корковых нефронов за счет ослабления сдавления их капсулы отежной жидкостью, снижением внутреннего диаметра проксимальных извитых канальцев корковых нефронов как следствие менее выраженного «внутриканальцевого гидронефроза» и увеличением высоты выстилающих их эпителиоцитов. Детальный анализ последних свидетельствует об их менее выраженном повреждении сулемой: увеличивается процент клеток без повреждения за счет снижения – с деструкцией апикальных отделов, а также более ½ высоты клеток.

Ключевые слова: крысы, сулемовая нефропатия, комбинация таурина с цинка диаспартатом, нефрозащитное действие.

Введение. Сулема широко применяется в экспериментальной фармакологии для моделирования поражения почек, преимущественно эпителия проксимальных извитых канальцев (ПИК) корковых нефронов (КН) [1]. В патогенезе нефропатии играет роль ее способность накапливаться в эпителиоцитах ПИК, преимущественно КН. В последующем она связывается с ферментами, содержащими SH-группы, с развитием цитотоксичности [2, 3]. Целью исследования было изучение протекторной роли тауцина при нарушении структуры почек у крыс с сулемовой нефропатией.

Материалы и методы исследования. Опыты проведены на 32 нелинейных крысах-самцах массой 200 – 250 г в соответствии с Хельсинской декларацией о гуманном обращении с животными. Сулему (производитель – ООО «Алхим», Украина) вводили внутрибрюшинно в дозе 0,1 мг/кг/день в течение 14 дней. Испытывали «тауцин» (комбинация таурина с цинка диаспар-

татом): 20 г/моль таурина (2,5 г) с 1 г/молем цинка диаспартата (0,35 г). Его вводили в желудок в виде взвеси в слизи крахмала в дозах 250 и 500 мг/кг, 1 раз в день вместе с сулемой. Через 24 часа после последнего введения веществ крыс умерщвляли и извлекали левую почку для проведения гистологических исследований.

О характере и степени выраженности сулемовой нефропатии судили по данным морфологических и морфометрических исследований гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином [4]. Морфометрические и цитофотометрические исследования проводили с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры (Leica FC 320, Германия), а также компьютерной программы анализа изображения ImageWarp 2,1 (лицензионный номер 151B3D61; BitFlow, США).

Количественную оценку полученных результатов проводили методом непараметрической статистики Манна-Уитни, применяя поправку

¹ Исследование выполнено в рамках Государственной научно-технической программы Республики Беларусь «Фармацевтические субстанции и лекарственные средства» (подпрограмма «Аминокислоты») по заданию «Разработать цитопротектор и корректор метаболизма эпителиальных тканей «тауцин» и освоить его производство на СП ООО «Фармлэнд» (2011 – 2019 гг.).

Басалай Ольга Николаевна (Basalai Olga Nikolaevna), аспирант, ассистент кафедры фармакологии им. профессора М.В. Кораблева УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь, Basalai2012@mail.ru
Михальчук Елена Чеславовна (Mikhaichuk Elena Cheslavovna), к. б. н., доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь, milena6519@mail.ru
Бушма Михаил Иванович (Bushma Mikhail Ivanovich), д. м. н., профессор, зав. кафедры фармакологии им. профессора М.В. Кораблева УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь, pharma@grsmu.by
Зиматкин Сергей Михайлович (Zimatkin Sergey Mikhailovich), д. б. н., профессор, зав. кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь, zimatkin@grsmu.by

Бонферрони с использованием пакета программ «Statistica» 6.0.437.0 для Windows (StatSoft, Inc., США), лицензионный номер 31415926535897 [5].

Результаты и обсуждение. *Нефротоксическое действие* сулемы. Результаты морфологических и морфометрических исследований почек крыс, получавших сулему (внутрибрюшинно, 0,1 мг/кг/день – 14 доз), свидетельствует о развитии нефропатии (табл.), что согласуется с литературными данными [3,6].

Нефрозащитное действие «тауцин» в дозе 250 мг/кг. Сравнительный анализ двух групп животных, получавших сулему, отдельно, и в комбинации с «тауцин», свидетельствует о нефрозащитных свойствах последнего.

Корковые нефроны. Количество ПИК без повреждений (1 тип) превышает значения не поврежденных крыс, получавших сулему, в 2,2 раза, а с деструкцией более ½ высоты эпителиоцитов и полным их разрушением (3 и 4 тип, соответственно) – уменьшается на 86 – 91%. Количество канальцев, заполненных клеточным детритом и их внутренний диаметр снижаются на 51 и 23%, соответственно (табл.). Менее выражено воспа-

ление интерстициальной ткани, окружающей ПИК. Об этом свидетельствует отсутствие ее значительной инфильтрации лимфоцитами.

Юкстамедуллярные нефроны. Увеличенный объем полости капсулы снижается на 19%. Расширенные гемакапилляры сосудистых клубочков встречаются реже. Ядра подоцитов и клеток эндотелия определяются четче. Менее выражены патологические изменения в кубических эпителиоцитах, выстилающих канальцы восходящих отделов петли Генле. Об этом свидетельствуют реже встречающиеся эпителиоциты с вакуольной дистрофией, а также меньшее количество клеточного детрита в просвете петли. Патологические изменения в интерстициальной ткани, как и у корковых нефронов, менее выражены (табл.).

Нефрозащитное действие «тауцин» в дозе 500 мг/кг. Сравнительный анализ двух групп крыс с сулемовой нефропатией, получавших «тауцин» в дозах 250 и 500 мг/кг свидетельствует о его дозозависимом нефрозащитном действии по отношению к корковым, но не к юкстамедуллярным нефронам.

Таблица

Результаты морфометрических исследований почек крыс, получавших сулему (внутрибрюшинно, 0,1 мг/кг/день – 14 доз), отдельно, и в комбинации с «тауцин» (в желудок в виде взвеси в слизи крахмала, 250 и 500 мг/кг/день – 14 доз)

Изучаемые показатели	Контроль	Сулема	Сулема + «тауцин», 250 мг/кг	Сулема + «тауцин», 500 мг/кг
Корковые нефроны				
Диаметр почечного тельца (мкм)	84,6 (83,6;85,9)	90,7 (89,1; 92,7) 0,0008	89,1 (86,7; 89,9) 0,004 (0,08)	87,9 (86,3; 90,0) 0,008 (0,04) [0,7]
Диаметр сосудистого клубочка (мкм)	76,3 (75,5;77,6)	85,2 (84,2; 86,1) 0,0008	83,4 (81,8; 84,8) 0,0008 (0,05)	87,9 (86,3; 90,0) 0,008 (0,04) [0,7]
Объем полости капсулы (см ³)	84,9 (80,2;88,4)	70,5 (64,1; 76,3) 0,002	59,5 (53,2; 68,6) 0,0008 (0,04)	105,5 (92,5; 112,8) 0,005 (0,0008) [0,008]
Проксимальные извитые канальцы (%): 1 типа,	96,0 (94,5; 97,5)	37,5 (32,5; 41,0) 0,0008	83,5 (79,5; 89,0) 0,001 (0,0008)	93,5 (91,0; 95,5) 0,1 (0,0008) [0,009]
2 типа,	3,5 (1,5; 5,5)	14,5 (10,5; 15,5) 0,0009	10,5 (8,5; 12,5) 0,001 (0,07)	3,5 (2,5; 4,5) 1,0 (0,0008) [0,0008]
3 типа,	0 (0; 0)	21,5 (18,5; 23,5) 0,0008	3,0 (1,5; 3,5) 0,001 (0,0008)	1,0 (0,5; 1,0) 0,03 (0,0008) [0,008]

4 типа,	0 (0; 0)	27,5 (25,5; 29,5) 0,0008	2,5 (1,0; 3,5) 0,002 (0,0008)	1,0 (0,5; 1,0) 0,03 (0,0008) [0,03]
заполненные детритом.	0 (0; 1)	25,5 (21,0; 27,5) 0,0008	12,5 (10,5; 14,5) 0,0008 (0,0008)	9,5 (8,5; 11,5) 0,0008 (0,0008) [0,09]
Диаметры проксимальных извитых канальцев (мкм): наружный,	27,7 (24,0; 33,9)	37,5 (33,6; 41,2) 0,008	32,9 (30,7; 37,5) 0,09 (0,09)	29,7 (28,7; 32,1) 0,5 (0,003) [0,06]
внутренний.	6,9 (5,5; 7,3)	18,2 (17,5; 19,5) 0,0008	14,1 (13,2; 14,9) 0,0008 (0,0008)	9,5 (8,7; 11,1) 0,001 (0,0008) [0,002]
Высота эпителиоцитов прокси-мальных извитых канальцев (мкм)	10,5 (10,1; 10,8)	9,5 (9,2; 10,0) 0,008	9,4 (9,2; 9,7) 0,001 (0,6)	10,4 (10,1; 10,8) 1,0 (0,008) [0,001]
Юкстамедуллярные нефроны				
Объем полости капсулы (см ³)	121,9(109,3; 131,9)	213,9(207,4; 224,5) 0,0008	172,7(163,7; 184,2) 0,0008 (0,001)	162,7(150,4; 171,2) 0,002 (0,002) [0,2]
Проксимальные извитые канальцы (%): без повреждений,	99,0 (98,0; 99,5)	74,5 (61,5; 83,0) 0,0008	80,0 (73,0; 89,0) 0,0008 (0,3)	83,0 (79,5; 92,0) 0,001 (0,07) [0,3]
с повреждениями,	1,0 (0,5; 2,0)	25,5 (17,0; 38,5) 0,0008	20,0 (11,0; 27,0) 0,0008 (0,3)	17,0 (8,0; 20,5) 0,001 (0,07) [0,3]
заполненные детритом.	0 (0; 1,0)	8,5 (7,0; 10,5) 0,0008	5,0 (3,5; 8,5) 0,0008 (0,2)	4,5 (2,5; 9,5) 0,001 (0,2) [0,7]
Внутренний диаметр прокси- мальных извитых канальцев (мкм)	2,1 (1,4; 2,5)	3,5 (2,9; 4,5) 0,003	2,4 (1,7; 3,0) 0,4 (0,02)	2,0 (1,6; 2,7) 0,8 (0,005) [0,6]

Примечание: строки цифр: первая – значения Me и 25-75% квартилей (в скобках); вторая – p: без скобок – в сравнении с контрольными, в круглых скобках – с получавшими сулему, в квадратных – с получавшими сулему в комбинации с «тауцин» в дозе 250 мг/кг крысами. Полу жирным шрифтом выделены статистически значимые значения p с учетом поправки Бонферрони.

В КН увеличивается объем полости капсулы клубочков (на 77%) и снижается внутренний диаметр ПИК (на 48%). Высота выстилающих их эпителиоцитов возрастает в большей степени. Количество ПИК 1 типа превышает значения крыс предыдущей группы на 12%, а 2 (с деструкцией только апикальных отделов) и 3 типов – снижается в одинаковой степени на 77% (табл.).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что комбинация аминокислоты таурина с органической солью цинка (цинка диаспартат) обладает дозозависимым нефрозащитным действием у крыс с сулемовой нефропатией. В механизме такого действия играют роль входящие в состав комбинации компоненты. Из-

вестна способность таурина связываться с сулемой с последующей экскрецией нетоксичного комплекса с мочой. Кроме того, он обезвреживает свободнорадикальные цитотоксические метаболиты кислорода [7]. Нефрозащитные свойства цинка в значительной степени обусловлены его антиоксидантными свойствами. Он является кофактором супероксиддисмутазы и посттрансляционным активатором глутатионпероксидазы – важнейших ферментов системы антиоксидантной защиты клеток [8]. Кроме того, цинк в качестве кофактора входит в состав более 200 ферментов, поэтому является активатором процессов внутриклеточного метаболизма, ингибированного сулемой [9].

Выводы. 1. Сулема (внутрибрюшинно, 0,1 мг/кг/день – 14 доз) оказывает нефротоксическое действие, проявляющееся в поражении ПИК и структурных компонентов почечных телец, преимущественно КН.

2. Комбинация таурина (20 г/моль) с цинка диаспаратом (1 г/моль) («тауцин»), вводимая в желудок в виде взвеси в слизи крахмала (250 мг/кг/день – 14 доз), ослабляет проявления

сулемовой нефропатии. В КН увеличивается количество канальцев 1 типа; снижается – 3-4 типов, их внутренний диаметр и содержание дextrита в просвете. В ЮН уменьшается объем полости капсулы.

3. Двукратное увеличение дозы «тауцин» сопровождается усилением его нефрозащитного действия по отношению к корковому, но не к юкстамедуллярным нефронам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lawrence H.L. [et al] Influence of exogenous thiols on inorganic mercury induced injury in renal proximal and distal tubular cells from normal and uninephrectomized rats. *J. Pharmacol. Exp.* 1999; 5: 492–02.
2. Zalups R.K. Molecular interactions with mercury in the kidney. *Pharmacological Reviews.* 2000; 5: 113–44.
3. Xiao Y. Effect of ischemia-reperfusion on

- the renal brush border membrane sodium dependent phosphate co transporter NaPi-2. *Can. J. Physiol. and Pharmacol.* 2001; 7: 206–12.
4. Можейко Л.А. Классические методы окраски в гистологии. ГрГМУ. 2010; 1: 23–34.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Москва: МедиаСфера; 2002.

6. Запорожан В.Н., Гоженко А.И., Амбросийчук Е.В. Особенности осморегулирующей функции почек при анемии беременных в условиях водно-солевых нагрузок. *Нефрология.* 2002; 6: 75–78.
7. Harada H. [et al.] Oral taurine supplementation prevents the development of ethanol-induced hypertension in rats. *Hypertens Res.* 2000; 23: 277–284.

8. Formigari A., Irato P., Santon A. Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: biochemical and cytochemical aspects. *Comp. Biochem. Physiol. Pt. C.* 2007; 146: 443–459.
9. Truong-Tran A.Q. [et al.] The role of zinc in caspase activation and apoptotic cell death. *Biometals.* 2001; 14: 315–330.

REFERENCES:

1. Lawrence H. L. [et al] Influence of exogenous thiols on inorganic mercury induced injury in renal proximal and distal tubular cells from normal and uninephrectomized rats. *J. Pharmacol. Exp.* 1999; 5: 492–02.
2. Zalups R.K. Molecular interactions with mercury in the kidney. *Pharmacological Reviews.* 2000; 5: 113–44.
3. Xiao Y. Effect of ischemia-reperfusion on

- the renal brush border membrane sodium dependent phosphate co transporter NaPi-2. *Can. J. Physiol. and Pharmacol.* 2001; 7: 206–12.
4. Mozhejko L.A. Classical methods of coloring in histology. GrGMU. 2010; 1: 23–34 (in Russian).
5. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Moskva: MediaSfera; 2002 (in Russian).

6. Zaporozhan B.H., Gozhenko A.I., Ambrosijchuk E.V. Features of osmoregulatory function of kidneys at anemia of pregnant women in the conditions of water-salt loadings. *Nefrologija.* 2002; 6:75-78 (in Russian).
7. Harada H. [et al.] Oral taurine supplementation prevents the development of ethanol-induced hypertension in rats. *Hypertens Res.* 2000;

- 23: 277–284.
8. Formigari A., Irato P., Santon A. Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: biochemical and cytochemical aspects. *Comp. Biochem. Physiol. Pt. C.* 2007; 146: 443–459.
9. Truong-Tran A.Q. [et al.] The role of zinc in caspase activation and apoptotic cell death. *Biometals.* 2001; 14: 315–330.

O.N. Basalai, E.Ch. Mikhalechuk, M.I. Bushma, S.M. Zimatkin

CORRECTION OF THE KIDNEYS STRUCTURE DISTURBANCES IN RATS WITH SUBLIMATE NEPHROPATHY USING A COMBINATION OF TAURIN WITH ZINC DIASPARTATE

Education Institution «Grodno State Medical University», RB Ministry of Health, 230005, Grodno, Republic of Belarus

A combination of taurine (20g/mole, 2.5 g) with zinc diaspertate (1 g/mole, 0.35g) named “taucine”, administrated in the rat stomach at doses of 250 mg/kg and 500 mg/kg over 14 days has a dose-dependent nephro-protective action in rats with sublimate nephropathy (intraabdominally 0.1 mg/kg over 14 days). It manifests in an increased volume of the primary urine in cortical nephrons glomerules because of a weakened compression of their capsule by hydropic fluid, in reduction of the inner diameter of cortical nephrons proximal convoluted tubules as consequence of a less pronounced «inner tubular» hydronephrosis and increased height of lining epithelial cells. A detailed analysis of the latter shows that they are less damaged by sublimate: the percentage of undamaged cells increases because of decrease with destruction of apical sections and increase of cells height by ½ as well.

Keywords: rats, sublimate nephropathy, combination of taurine with zinc diaspertate, nephro-protective action

Материал поступил в редакцию 05.12.2014 г.