

Митциев А.К.

Изменение активности перекисного окисления липидов как механизм развития патологии почек при действии тяжелых металлов

ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России, 362019, Республика Северная Осетия Алания, Владикавказ, ул. Пушкинская, 40

Тяжелые металлы являются наиболее опасными антропогенными загрязнителями окружающей человека среды. Обладая обширным спектром патологических влияний, тяжелые металлы приводят к развитию необратимых изменений в тканях и системах живых организмов. Основным органом-мишенью деструктивного влияния металлов являются почки, что связано с особенностями выполняемых данным органом физиологических функций. Известно множество механизмов, позволяющих тяжелым металлам реализовывать свое патогенное влияние на организм, наиболее значимым среди которых, является механизм активации процессов свободно радикального окисления, ввиду присутствия тяжелым металлам прооксидантной активности. Исходя из этого, основной задачей экспериментального исследования явился анализ участия процессов перекисного окисления липидов в генезе изменений функции почек под влиянием тяжелых металлов. Для определения функционального состояния почек проводили изучение основных процессов мочеобразования, экскреции белка и осмолярности мочи. Об интенсивности процессов перекисного окисления липидов судили по концентрации малонового диальдегида и гидроперекисей в крови животных. Результаты исследования позволили установить, что длительное введение тяжелых металлов в организм экспериментальных животных приводит к развитию мощного окислительного стресса, характеризующегося увеличением содержания продуктов перекисного окисления липидов в крови животных. В работе установлено, что активизация процессов липопероксидации в условиях длительного введения тяжелых металлов сопровождается развитием выраженных нарушений функционального состояния почек. Выраженный антиоксидантный эффект мелатонина в условиях длительного отравления солями тяжелых металлов способствует снижению активности процессов липопероксидации, что, в свою очередь, ослабляет патологические эффекты ксенобиотиков на функциональное состояние почек. Полученные данные свидетельствуют, что активизация тяжелыми металлами процессов перекисного окисления липидов является одним из механизмов, приводящих к развитию патофизиологических изменений деятельности почек.

Ключевые слова: тяжелые металлы; почки; перекисное окисление липидов, мелатонин

Mitsiev A.K.

Change lipid peroxidation as a mechanism of renal disease under heavy metals

State educational institution of higher professional education «North Ossetian State medical academy» of the Ministry of health of the Russian Federation, 362019, Republic of North Ossetia — Alania, Vladikavkaz, Pushkinskaja street, 40

Heavy metals are the most dangerous anthropogenic pollutants human environment. With an extensive range of pathological effects of heavy metals lead to the development of irreversible changes in the tissues of living organisms and systems. The main target organ destructive influence of metals are the kidneys, which is associated with the peculiarities of running these bodies physiological functions. There are many mechanisms allowing heavy metals to exercise their pathogenic effects on the body, the most significant of which is the mechanism of activation of free radical oxidation, due to the inherent heavy metals prooxidant activity. On this basis, the main objective of the pilot study was to investigate the influence of lipid peroxidation in the kidney function. To determine the functional state of the kidneys was performed to study the basic processes of urine formation, protein excretion and urine osmolarity. The intensity of lipid peroxidation was judged by the concentration of malondialdehyde and hydroperoxide in the blood of animals. Results of the study revealed that long-term administration of heavy metals in experimental animals leads to the development of a powerful oxidative stress, characterized by an increase in the content of lipid peroxidation products in the blood of animals. The paper found that the activation of lipid peroxidation in the conditions of long-term administration of heavy metals associated with the development of marked disorders of renal function. A strong antioxidant effect of melatonin in long-term poisoning with heavy metal salts reduces the activity of lipid peroxidation, which in turn weakens the pathological effects of xenobiotics on renal function. The findings suggest that the activation of heavy metals, lipid peroxidation is one of the mechanisms leading to the development of pathophysiological changes in the kidneys.

Key words: heavy metals; kidney; lipid peroxidation, melatonin

Для корреспонденции: Митциев Астан Керменович, к.м.н., ст. преподаватель каф. нормальной физиологии, e-mail: digur1985@mail.ru

В современном мире развитие любого живого организма происходит в условиях неблагоприятного экологического фона, связанного с поступлением и накоплением в окружающей среде различных ксенобиотиков, наиболее опасными среди которых, являются тяжелые металлы [1, 2]. Обладая широким спектром повреждающего действия, металлы легко проникают в организм, где и реализуют свои патогенные эффекты. Ввиду физиологических особенностей наиболее чувствительными к негативному влиянию поллютантов, в том числе и тяжелых металлов, являются почки [3, 4]. Известно, что в условиях хронического поступления тяжелых металлов в организм, патологические изменения в почках развиваются задолго до появления первых функциональных признаков нефропатии, что также подчеркивает опасность воздействия ксенобиотиков на организм. Токсическое действие тяжелых металлов на организм реализуется посредством запуска многочисленных патогенетических механизмов, но, по-видимому, наиболее значимым из них является активация процессов перекисного окисления липидов, приводящая к формированию мощного оксидативного стресса [5, 6].

В качестве средства, применяемого для профилактики длительной интоксикации тяжелыми металлами, нами был выбран синтетический аналог гормона эпифиза — «Мелаксен» фирмы Unipharm-USA. Мелатонин является одним из наиболее мощных антиоксидантов [7], поэтому оценка функционального состояния почек при его применении в условиях избыточного поступления металлов в организм может служить важным доказательством роли свободно радикальных процессов в генезе нарушения функций при действии тяжелых металлов. Таким образом, задачей настоящего исследования было изучение зависимости между развитием окислительного стресса и выраженностью функциональных изменений почек и сердечно-сосудистой системы у крыс.

Методика

Работа выполнена на 105 крысах-самцах линии Вистар, массой 200—300 г. При проведении экспериментов руководствовались статьей 11-й Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964), «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ №267 от 19.06.2003 г.).

Эксперименты проводились в 7 группах животных:

1-я группа — интактные животные, с введением фиксированного объема физиологического раствора;

2-я группа — животные с внутрижелудочным введением сульфата кадмия в дозе 0,5 мг/кг, в течение 30 дней;

3-я группа — животные с внутрижелудочным введением сульфата кадмия в дозе 0,5 мг/кг и интрагастральным введением мелаксена в дозе 10 мг/кг;

4-я группа — животные с внутрижелудочным введением хлорида ртути в дозе 0,5 мг/кг, в течение 30 дней;

5-я группа — животные с внутрижелудочным введением хлорида ртути в дозе 0,5 мг/кг и интрагастральным введением мелаксена в дозе 10 мг/кг;

6-я группа — животные с внутрижелудочным введением ацетата свинца в дозе 40 мг/кг, в течение 16 дней;

7-я группа — животные с внутрижелудочным введением ацетата свинца в дозе 40 мг/кг, и интрагастральным введением мелаксена в дозе 10 мг/кг.

По истечении сроков введения металлов и мелаксена, в условиях 6-часового спонтанного диуреза исследовали функциональное состояние почек, что включало определение объема диуреза (мл/час/100 г), скорости клубочковой фильтрации по клиренсу эндогенного креатинина (мл/час/100 г), относительной канальцевой реабсорбции воды (%), экскреции белка с мочой и осмолярности мочи. Животных забивали с использованием тиопенталового наркоза.

Концентрацию креатинина определяли на спектрофотометре PV1251C (ЗАО Solar, Минск, Беларусь) с помощью наборов «Креатинин-Агат», «ООО» «Агат-Мед» (Москва, Россия). Концентрацию белка определяли на спектрофотометре PV1251C (ЗАО Solar, Минск, Беларусь) по методу Лоури. Для определения осмотического давления мочи использовали метод криоскопии, измерения выполняли на миллиосмометре «OSMOMAT-2» (GONOTEC, Германия). Для изучения активности процессов перекисного окисления липидов определяли концентрацию малонового диальдегида в эритроцитах животных спектрофотометрическим способом (PV1251C) (ЗАО Solar, Минск, Беларусь), основанном на способности малонового диальдегида взаимодействовать с тиобарбитуровой кислотой, и концентрацию гидроперекисей в плазме крови способом, основанном на ультрафиолетовом поглощении липидов экстрактов крови с помощью спектрофотометрического набора «ТБК-АГАТ (Биоконт)» «Агат-Мед» (Москва).

Полученные результаты экспериментальных исследований статистически обработаны с применением критерия «t» Стьюдента методом вариационного анализа, с помощью программы Prizma 4.0.

Результаты и обсуждение

Изучение активности перекисного окисления липидов в группе животных получавших длительное введение сульфата кадмия, позволило установить совокупную реакцию увеличения концентраций малонового диальдегида и гидроперекисей в крови экспериментальных животных, относительно интактных значений (табл. 1). На фоне сформировавшегося окислительного стресса отмечалось развитие нарушений функционального состояния почек, характеризовавшихся наличием выраженной полиурии, несмотря на одновременное снижение скорости клубочковой фильтрации. Рост диуреза у животных получавших кадмий, был обусловлен значительным снижением относительной канальцевой реабсорбции воды, по сравнению с интактным контролем (табл. 2). Увеличение экскреции белка в сочетании с уменьшением осмотического давления мочи (табл. 2) в группе животных получавших кадмий свидетельствовало о развитии структурных изменений почечной ткани. Применение мелатонина в условиях длительной кадмиевой интоксикации снижало интенсивность процессов свободнорадикального окисления, что подтверждалось уменьшением концентраций малонового диальдегида и гидроперекисей в плазме крови крыс, по сравнению с показателями группы животных получавших только кадмий (табл. 1). Снижение выраженности оксидативного стресса сопровождалось приростом канальцевой реабсорбции воды, что, в свою очередь, приводило к снижению объема спонтанного диуреза относительно значений группы животных получавших только кадмий. Снижение степени протеинурии в сочетании с приростом осмотического давления мочи также свидетельствовало о нефропротекторном эффекте мелатонина в условиях кадмиевой интоксикации по сравнению с показателями крыс получавших только кадмий (табл. 2).

Как и большинство ксенобиотиков, ртуть относится к металлам с переменной валентностью и при поступлении в организм оказывает мощное прооксидантное действие, что и было установлено в нашем эксперименте. В условиях сулемовой интоксикации происходило увеличение концентраций продуктов перекисного окисления липидов — малонового диальдегида и гидроперекисей в крови животных, по сравнению с показателями интактного контроля (табл. 1). Одновременно с развитием оксидативного стресса в группе животных получавших сулему, отмечалось увеличение объема спонтанного диуреза, что было связано с уменьшением относительной канальцевой реабсорбции воды по сравнению с фоновыми показателями (табл. 2). Длительное поступление ртути в организм экспериментальных животных приводило к росту экскреции белка с мочой и одновременному уменьшению осмолярности мочи, относительно интактных значений (табл. 2). Как и в условиях кадмиевой интоксикации, так и при ртутном отравлении, мелатонин

оказывал выраженный антиоксидантный эффект, характеризовавшийся снижением концентрации гидроперекисей в плазме крови и концентрации малонового диальдегида в эритроцитах животных, по сравнению с аналогичными показателями крыс, получавших только сулему (табл. 1). Снижение интенсивности процессов липопероксидации сочеталось с уменьшением выраженности нарушения функции почек. Мелатонин в условиях ртутной интоксикации способствовал уменьшению диуретического влияния ртути, относительно значений животных получавших только ксенобиотик (табл. 2). Прирост осмолярности мочи у животных, получавших мелатонин, в условиях сулемовой интоксикации свидетельствовал о некотором восстановлении концентрирующей функции почек, что наряду с уменьшением степени протеинурии подтверждало профилактическую эффективность мелатонина (табл. 2).

Полученные данные экспериментальных исследований позволили установить, что свинец в условиях длительного поступления в организм также приводил к активации процессов липопероксидации, что характеризовалось увеличением концентрации малонового диальдегида в эритроцитах и повышением уровня гидроперекисей в плазме крови животных, по сравнению с показателями интактного контроля (табл. 1). Развитие выраженного окислительного стресса сочеталось с наличием значительных почечных нарушений. Увеличение объема спонтанного диуреза в группе животных получавших свинец явилось следствием уменьшения канальцевой реабсорбции воды, несмотря на одновременное снижение скорости клубочковой ультрафильтрации, относительно значений фоновой группы животных (табл. 2). Одним из доказательств развития свинцовой нефропатии явилось наличие выраженной протеинурии, сочетавшейся со значительным снижением способности почечной ткани к концентрированию мочи по сравнению с фоновыми показателями (табл. 2). Оказывая ингибирующее влияние на прооксидантные эффекты свинца, мелатонин снижал выраженность процессов свободнорадикального окисления, приводя к уменьшению содержания малонового диальдегида в эритроцитах и концентрации гидроперекисей в плазме крови относительно значений животных изолированно получавших только свинец (табл. 1). Снижая интенсивность оксидативного стресса, мелатонин в условиях свинцовой интоксикации способствовал приросту канальцевой реабсорбции воды, что явилось причиной уменьшения объема диуреза, а одновременный прирост осмотического давления свидетельствовал о восстановлении способности почек к концентрированию мочи (табл. 2). Помимо данного эффекта, мелатонин способствовал уменьшению экскреции белка с мочой, относительно показателей группы животных получавших только свинец (табл. 2).

Влияние тяжелых металлов на концентрацию малонового диальдегида и гидроперекисей в плазме крови у крыс (M ± m)

Условия опыта	Статистический показатель	Малоновый диальдегид (мкмоль/л)	Гидроперекиси (мкмоль/л)
I	II	III	IV
Фон	M ± m	70,97 ± 1,769	2,16 ± 0,15
CdSO ₄ в/ж	M ± m	97,3 ± 1,67	4,57 ± 0,17
	p	*)	*)
CdSO ₄ в/ж + мелатонин в/ж	M ± m	85,3 ± 2,72	3,06 ± 0,18
	p	**) ##)	*) #)
HgCl ₂ в/ж	M ± m	95,5 ± 1,83	4,26 ± 0,18
	p	*)	*)
HgCl ₂ в/ж + мелаксен в/ж	M ± m	83,62 ± 2,72	2,93 ± 0,16
	p	*) ^^)	**) ^)
Pb в/ж	M ± m	91,6 ± 1,243	3,85 ± 0,147
	p	*)	*)
Pb в/ж + мелатонин в/ж	M ± m	81,2 ± 1,568	2,94 ± 0,116
	p	*) +)	*) +)

Примечание. (*) — достоверное ($p \leq 0,001$) изменение по сравнению с фоном; (**) — достоверное ($p \leq 0,05$) изменение по сравнению с фоном; (#) — достоверное ($p \leq 0,001$) изменение относительно внутрижелудочного введения CdSO₄; (##) — достоверное ($p \leq 0,05$) изменение относительно внутрижелудочного введения CdSO₄; (^) — достоверное ($p \leq 0,001$) изменение относительно внутрижелудочного введения HgCl₂; (^^) — достоверное ($p \leq 0,05$) изменение относительно внутрижелудочного введения HgCl₂; (+) — достоверное ($p \leq 0,001$) изменение относительно внутрижелудочного введения Pb.

Влияние тяжелых металлов на основные процессы мочеобразования, экскрецию белка и осмолярность мочи у крыс (M ± m)

Условия опыта	Статистический показатель	Процессы мочеобразования			Экскреция белка, мг/ч/100 г	Осмолярность мочи, осм/л
		Диурез	Скорость клубочковой фильтрации	Канальцевая реабсорбция воды, %		
		мл/ч/100 г				
Фон	M ± m	0,091 ± 0,0032	18,76 ± 0,53	99,51 ± 0,024	1,395 ± 0,049	2,406 ± 0,08
CdSO ₄ в/ж	M ± m	0,152 ± 0,005	15,23 ± 0,14	99,0 ± 0,03	3,879 ± 0,03	1,309 ± 0,029
	p	*)	*)	*)	*)	*)
CdSO ₄ в/ж + мелатонин в/ж	M ± m	0,135 ± 0,001	16,47 ± 0,09	99,18 ± 0,004	3,198 ± 0,021	1,660 ± 0,017
	p	*) ##)	*) #)	*) #)	*) #)	*) #)
HgCl ₂ в/ж	M ± m	0,109 ± 0,0025	15,13 ± 0,28	99,29 ± 0,016	3,652 ± 0,093	1,582 ± 0,063
	p	*)	*)	*)	*)	*)
HgCl ₂ в/ж + мелаксен в/ж	M ± m	0,102 ± 0,0016	16,75 ± 0,46	99,37 ± 0,014	2,938 ± 0,082	1,763 ± 0,052
	p	**) ^^)	**) ^^)	*) ^^)	*) ^)	*) ^)
Pb в/ж	M ± m	0,111 ± 0,0035	15,86 ± 0,42	99,30 ± 0,017	3,41 ± 0,152	1,56 ± 0,073
	p	*)	*)	*)	*)	*)
Pb в/ж + мелатонин в/ж	M ± m	0,098 ± 0,0024	16,41 ± 0,13	99,41 ± 0,015	2,6 ± 0,054	1,91 ± 0,055
	p	++)	*)	**) +)	*) +)	*) +)

Примечание. (*) — достоверное ($p \leq 0,001$) изменение по сравнению с фоном; (#) — достоверное ($p \leq 0,001$) изменение относительно внутрижелудочного введения CdSO₄; (##) — достоверное ($p \leq 0,05$) изменение относительно внутрижелудочного введения CdSO₄; (^) — достоверное ($p \leq 0,001$) изменение относительно внутрижелудочного введения HgCl₂; (^^) — достоверное ($p \leq 0,05$) изменение относительно внутрижелудочного введения HgCl₂; (+) — достоверное ($p \leq 0,001$) изменение относительно внутрижелудочного введения Pb; (++) — достоверное ($p \leq 0,05$) изменение относительно внутрижелудочного введения Pb.

Данные экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что тяжелые металлы в условиях длительного поступления в организм оказывают выраженный прооксидантный эффект и являются факторами, приводящими к развитию окислительного стресса. Процессы свободно радикального окисления ведут к деструкции клеточных структур вплоть до гибели клеток, что в свою очередь приводит к развитию функциональных нарушений. Прооксидантное действие кадмия, ртути и свинца вызывает развитие функциональных нарушений почек. Применение мелаксена существенно уменьшает выраженность функциональных нарушений, что позволяет считать активацию процессов перекисного окисления липидов одним из механизмов развития патологии почек при действии тяжелых металлов.

Выводы

Являясь металлами с переменной валентностью кадмий, ртуть и свинец в условиях длительного отравления оказывают мощное прооксидантное действие, что приводит к увеличению концентраций продуктов перекисного окисления липидов. Формирование окислительного стресса сопровождается развитием нарушения функций почек. Применение мелатонина способствует подавлению липопероксидации и снижает интенсивность нарушения функции почек при длительном действии тяжелых металлов.

Список литературы

1. Han L., Zhou R., Kuang X., Feng X., Chen M., Shen J. Study on lead-induced activation of rat renal interstitial fibroblasts and the related mechanisms. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2014; 24 (9): 713-8.
2. Solenkova N.V., Newman J.D., Berger J.S., Thurston G., Hochman J.S., Lamas G.A. Metal pollutants and cardiovascular disease: Mechanisms and consequences of exposure. *American Heart Journal*. 2014; 168 (6): 812-22.
3. Geier D.A., Carmody T., Kern J.K., King P.G., Geier M.R. A significant dose-dependent relationship between mercury exposure from dental amalgams and kidney integrity biomarkers: a further assessment of the Casa Pia children's dental amalgam trial. *Human and Experimental Toxicology*. 2014; 32 (4): 434-40.
4. Joshi M.D., Ayah R., Njau E.K., Wanjiru R., Kayima J.K., Njeru E.K. et al. Prevalence of hypertension and as-

sociated cardiovascular risk factors in an urban slum in Nairobi, Kenya: a population-based survey. *BMC Public Health*. 2014; 18 (14).

5. Notarachille G., Arnesano F., Calo V., Meleleo D. Heavy metals toxicity: effect of cadmium ions on amyloid beta protein 1-42. Possible implications for Alzheimer's disease. *Biometals*. 2014; 27 (2): 371-88.

6. Yang H., Shu Y. Cadmium transporters in the kidney and cadmium-induced nephrotoxicity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015; 16 (1): 1484-94.

7. Лилица Г.А., Заславская Р.М., Калинина Е.В. Эффективность метаболических препаратов в комплексном лечении пожилых больных постинфарктным кардиосклерозом и недостаточностью кровообращения. *Клин. медицина*. 2005; 3: 54-7.

Поступила 26.02.15

References

1. Han L., Zhou R., Kuang X., Feng X., Chen M., Shen J. Study on lead-induced activation of rat renal interstitial fibroblasts and the related mechanisms. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2014; 24 (9): 713-8.
2. Solenkova N.V., Newman J.D., Berger J.S., Thurston G., Hochman J.S., Lamas G.A. Metal pollutants and cardiovascular disease: Mechanisms and consequences of exposure. *American Heart Journal*. 2014; 168 (6): 812-22.
3. Geier D.A., Carmody T., Kern J.K., King P.G., Geier M.R. A significant dose-dependent relationship between mercury exposure from dental amalgams and kidney integrity biomarkers: a further assessment of the Casa Pia children's dental amalgam trial. *Human and Experimental Toxicology*. 2014; 32 (4): 434-40.
4. Joshi M.D., Ayah R., Njau E.K., Wanjiru R., Kayima J.K., Njeru E.K. et al. Prevalence of hypertension and associated cardiovascular risk factors in an urban slum in Nairobi, Kenya: a population-based survey. *BMC Public Health*. 2014; 18 (14).
5. Notarachille G., Arnesano F., Calo V., Meleleo D. Heavy metals toxicity: effect of cadmium ions on amyloid beta protein 1-42. Possible implications for Alzheimer's disease. *Biometals*. 2014; 27 (2): 371-88.
6. Yang H., Shu Y. Cadmium transporters in the kidney and cadmium-induced nephrotoxicity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015; 16 (1): 1484-94.
7. Lilica G.A., Zaslavskaja R.M., Kalinina E.V. Jeftektivnost' metabolicheskikh preparatov v kompleksnom lechenii pozhilih bol'nyh postinfarktym kardiosklerozom i nedosta-tochnost'ju krovoobrashhenija. *Klin. medicina*. 2005; 3: 54-7.

Received 26.02.15