

ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ НАНОКОМПОЗИТНЫХ СОРБЕНТОВ ПРИ НЕФРОПАТИЯХ, ВЫЗВАННЫХ СОЛЯМИ ЦВЕТНЫХ МЕТАЛЛОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Албегова Ж.К.¹, Брин В.Б.^{1,2}, Молдован Т.В.¹, Гаглоева Э.М.¹

¹ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия Минздрава России» РСО-Алания, Россия (362019, РСО-Алания, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40), e-mail: mira-med@yandex.ru

²УРАН «Институт биомедицинских исследований» ВНИЦ РАН и Правительства РСО-А (362019, РСО-Алания, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40).

В эксперименте на крысах линии Вистар исследовалась возможность применения нанокomпозитных природных сорбентов Северной Осетии ирлит и НУМС (нанокomпозитных углеродных модифицированных сорбентов) в качестве энтеросорбентов при хронической интоксикации солями цветных металлов. Показано, что введение НУМС и цеолитоподобной глины ирлит в виде 6%-ного раствора через зонд в желудок, в количестве 2.5% массы тела через день в течение 2-х месяцев, способствовало снижению структурно-функциональных изменений в почках при хронической интоксикации хлоридом никеля (25 мг/кг), молибдатом аммония (50 мг/кг) и паравольфраматом аммония (50 мг/кг), активации экскреции металлов с калом и снижению концентрации молибдена и никеля в тканях почек. Было выявлено, что внутрижелудочное введение нанокomпозитных сорбентов ирлит и НУМС профилактирует изменения ионо-водовыделительной функции почек на фоне интоксикации солями цветных металлов, что выражается в уменьшении полиурии, протеинурии и экскреции катионов.

Ключевые слова: почки, диурез, протеинурия, интоксикация, нанокomпозитные энтеросорбенты.

THE PREVENTIVE USE OF NANOCOMPOSIT SORBETNS AT NEPHROPATHY CAUSED BY NON-FERROUS METALS SAULTS IN EXPERIMENT

Albegova S.K.¹, Brin V.B.^{1,2}, Moldovan T.V.¹, Gagloeva I.M.¹

¹SEE HPE NOSMA of RF Ministry of Social Development, Russia, (362019, Vladikavkaz, Pushkinskaya st., 40), e-mail: mira-med@yandex.ru

²ERAS Institute of Biomedical Research of RAS VSC and Government of RNO-Alania, (362019, Vladikavkaz, Pushkinskaya st., 40).

In experienc on rats of Vistar line with chronic intoxication by salts of non-ferrous metals, the possibility of application of nanocomposit natural sorbents of Northern Ossetia Irlit or NCMS (nanocomposit carbon modified sorbents) as enterosorbents was investigated. It is shown that introduction of 6% zeolite - like clay Irlit or NCMS suspension through a probe into a stomach, in the amount of 2,5 % from mass of body weight, promoted to decrease of renal structural and functional disorders, within two months of chronic intoxication by ammonium molybdate (50 mg/kg), nickel chloridum (25 mg/kg) and ammonium paratungstate (50 mg/kg), activate the excretion of metals with feces and decrease the concentration of molibdenum and nickel in renal tissue. It was determined that intragastric introduction of nanocomposit Irlit sorbent and NCMS on the background of chronic intoxication by non-ferrous metals, render a preventive effect of iono-water secretory function of kidneyschanges which are expressed in poliuriya, proteinuria and excretion of cations reduction.

Key words: kidneys, diuresis, proteinuria, intoxication, nanocomposite enterosorbent.

Введение

Антропогенное загрязнение окружающей человека природной среды, во многом связанное с микроэлементами из группы тяжелых металлов, увеличивает риск развития хронических болезней (4). Почки, как главный экскреторный орган, являются основной мишенью ксенобиотиков (2).

Целью данной работы было изучение влияния эффектов профилактического использования нанокompозитных сорбентов на ионо-водоуделительную функцию почек у крыс при хронической интоксикации солями молибдена, никеля и вольфрама.

С целью профилактики использовались нанокompозитные природные сорбенты Северной Осетии, месторождения которых описаны В.Б. Цогоевым, назвавшим эти цеолито-подобные минералы ирлитами [5; 6]. Показано, что ирлиты при попадании в пищеварительный тракт адсорбируют тяжелые металлы, свободные радикалы, продукты распада и токсины внутренней среды, что приводит к уменьшению доли веществ, экскретируемых почками [7; 8]. Большие запасы и доступность ирлитов, их ионообменные, сорбционные и молекулярно-ситовые свойства, отсутствие токсических и канцерогенных свойств позволяют обосновать целесообразность их изучения при использовании в качестве энтеросорбентов в условиях экспериментальных моделей интоксикации, создаваемых введением в организм животных соединений тяжелых металлов [1; 3].

Другим сорбентом выбран разработанный в Институте неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН новый нанокompозитный углеродный модифицированный сорбент (НУМС), который сейчас проходит испытания. НУМС превосходят по многим параметрам известные углеродные гемосорбенты и перспективны при использовании в качестве сорбентов для извлечения токсичных металлов. Они отвечают всем требованиям, предъявляемым к энтеросорбентам [6]. Однако сведения по экспериментальной и клинической разработке этого аспекта применения энтеросорбентов в имеющейся литературе недостаточны, а результаты изучения применения нанокompозитных углеродных модифицированных сорбентов, а также глинистых минералов Северной Осетии – ирлитов – при хронической интоксикации, вызванной избыточным поступлением в организм молибдена, никеля и вольфрама, в литературе вообще отсутствуют.

Материалы и методы

Исследования проведены на крысах-самцах линии Вистар массой 200-300 граммов. Эксперименты выполнены в трех сериях с введением хлорида никеля (25мг/кг), молибдата аммония (50 мг/кг), паравольфрамата аммония (50 мг/кг). В каждой серии опыты проведены в 6 группах животных:

1 группа – интактные животные; 2 группа – животные с внутрижелудочным введением ксенобиотика в течение месяца; 3 группа – животные с внутрижелудочным введением ксенобиотика в течение 2 месяцев; 4 группа – животные с внутрижелудочным введением ксенобиотика в течение 1 месяца и интрагастральным введением ирлита в виде 6%-ной взвеси в количестве 2,5 массы тела через день; 5 группа – животные с внутрижелудочным введением ксенобиотика в течение 2 месяцев и интрагастральным введением ирлита 6%-ной

взвеси в количестве 2,5% массы тела через день; 6 группа – животные с внутрижелудочным введением ксенобиотика в течение месяца и интрагастральным введением НУМС в виде 6%-ной взвеси в количестве 2,5 массы тела через день.

Гранулометрический анализ применяемых сорбентов на лазерном дифракционном анализаторе «Analysette 22 NanoТес» с использованием блока мокрого диспергирования в суспензиях показал, что размеры 80,0% частиц составляют менее 20 нм, т.е. относятся к наночастицам и способны *in vitro* более чем на 90,0% извлекать металлы из растворов, соответствующих концентрациям металла, создаваемым в эксперименте.

Животные находились на стандартном пищевом рационе, питьевой режим свободный. У контрольных и опытных животных в условиях 6-часового спонтанного диуреза исследовали водовыделительную функцию почек, экскрецию электролитов с мочой и содержание их в плазме крови через каждые две недели эксперимента.

Содержание натрия, калия в плазме крови и моче определяли методом плазменной фотометрии. Концентрацию креатинина и белка в моче и плазме крови определяли спектрофотометрически с помощью наборов «Креатнин» ООО «Агат-Мед» (г. Москва, Россия). Концентрацию никеля и молибдена в биологических средах определяли на масс-спектрометре ICP-MS HP 4500 «Хьюлетт-Паккард».

Результаты всех серий опытов обработаны статистически с применением t-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводился с расчетом коэффициента корреляции Пирсона. При рассмотрении значимости коэффициентов корреляции пользовались общепринятыми критериями: $r < 0,3$ – слабая связь, от 0,31 до 0,69 – средняя и от 0,7 до 0,99 – сильная степень связи.

Результаты исследования и их обсуждение

При изучении профилактического влияния применяемых сорбентов в условиях хронической интоксикации одновременно проводились контрольные исследования у группы интактных животных с изолированным введением НУМС и ирлита через 2 недели, 1 и 2 месяца.

Опыты показали, что у крыс, длительно получавших изолированно модифицированный углеродный сорбент НУМС, а также ирлит, статистически достоверно не изменяются показатели водовыделительной функции почек, содержания электролитов в плазме крови и их почечной обработки в условиях спонтанного диуреза.

Изучение водовыделительной функции почек показало, что у экспериментальных животных при хронической молибденовой интоксикации происходит увеличение 6-часового спонтанного диуреза, несмотря на некоторое снижение скорости клубочковой фильтрации

через 1 и 2 месяца эксперимента. Полиурия была обусловлена уменьшением канальцевой реабсорбции воды ($p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$).

Изучение ионовывделительной функции почек при экспериментальном молибденозе выявило через 1 и 2 месяца интоксикации увеличение экскреции натрия (рис. 1) вследствие уменьшения канальцевой реабсорбции катиона ($p < 0,05$ и $p < 0,05$). Причиной натриуреза было снижение канальцевой реабсорбции ($p < 0,001$), при этом одновременно снижался фильтрационный заряд катиона.

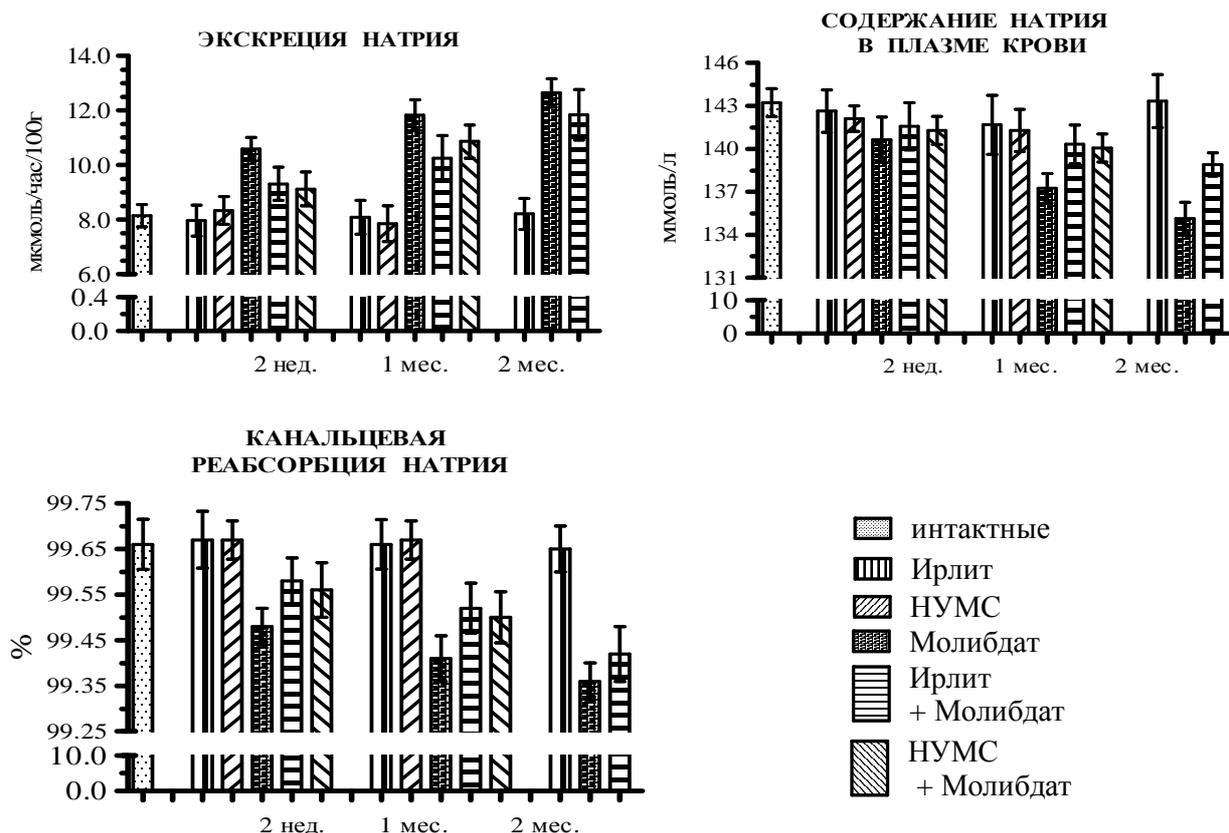


Рис. 1. Влияние сорбентов НУМС–О–3–БМЦ и ирлит-1 на содержание натрия в плазме крови и его почечную обработку в условиях спонтанного диуреза при хронической интоксикации молибдатом аммония.

Экскреция калия повышалась во все сроки эксперимента вследствие увеличения фильтрационного заряда катиона ($p < 0,02$). Экскреция кальция также увеличивалась во все сроки эксперимента. Увеличение выведения кальция было обусловлено уменьшением его канальцевой реабсорбции.

При хронической никелевой интоксикации происходило достоверное увеличение объема 6-часового спонтанного диуреза во все сроки эксперимента, при этом скорость клубочковой фильтрации имела тенденцию к снижению через 2 недели и месяц эксперимента. Прирост диуреза был обусловлен снижением канальцевой реабсорбции.

Изучение ионовывделительной функции почек выявило увеличение экскреции натрия через 1 и 2 месяца эксперимента. Рост экскреции натрия был обусловлен снижением канальцевой реабсорбции катиона ($p < 0,05$ и $p < 0,01$).

Экскреция кальция у животных на фоне интоксикации хлоридом никеля увеличивалась уже через 2 недели и была достоверно выше фона через 1 месяц ($p < 0,001$). Причиной усиления кальцийуреза было достоверное снижение канальцевой реабсорбции катиона ($p < 0,001$). Фильтрационный заряд из-за гипокальциемии уменьшался. Через 2 месяца эксперимента отмечено более существенное снижение канальцевой реабсорбции кальция на фоне менее выраженного снижения фильтрационного заряда, что способствовало кальцийурезу.

Экскреция калия была выше фоновых значений через 1 и 2 месяца ($p < 0,05$ и $p < 0,01$). Рост экскреции калия в условиях гиперкалиемии был обусловлен увеличением фильтрационного заряда катиона.

Наши исследования показали, что при длительном введении паравольфрамата аммония у экспериментальных животных показатели основных процессов мочеобразования достоверно не менялись относительно интактного контроля на протяжении всего эксперимента. Выявлялась лишь тенденция к увеличению диуреза вследствие уменьшения относительной канальцевой реабсорбции воды.

Экскреция электролитов, основные показатели почечной обработки натрия, калия и кальция достоверно не менялись через 2 недели и 1 месяц эксперимента. Через 2 месяца наблюдалось увеличение экскреции натрия вследствие уменьшения относительной канальцевой реабсорбции катиона.

Использование энтеросорбентов на фоне никелевой интоксикации способствовало меньшему приросту диуреза, что было следствием менее выраженного снижения канальцевой реабсорбции воды.

На фоне профилактического использования сорбентов происходило восстановление измененных под влиянием хлорида никеля фильтрационного заряда и канальцевой реабсорбции натрия и кальция через 1 и 2 месяца эксперимента. Применение сорбента ирлит препятствовало росту экскреции калия через 1 месяц опыта.

Аналогичные результаты были получены и при профилактическом использовании энтеросорбентов при хронической молибденовой интоксикации. На фоне введения глины ирлит полиурия была достоверно ниже, чем у животных с интоксикацией. Экскреция натрия достоверно не отличалась от фона во все сроки эксперимента. Ирлит-1 являлся достаточно эффективным средством коррекции гиперкалиемии при хроническом воздействии нефротоксиканта, а также способствовал профилактике изменений экскреции кальция,

восстанавливая канальцевую реабсорбцию катиона и уменьшая фильтрационную нагрузку нефрона. Энтеросорбция профилактировала изменения экскреции натрия через 2 месяца эксперимента.

Особенностью тяжелых металлов является их способность накапливаться в различных органах, вызывая их поражение. Учитывая, что мы изучаем влияние всех исследуемых солей металлов на функции почек, было целесообразно определить содержание этих металлов в них. Проведенные исследования показали, что содержание никеля в почках у интактных крыс было $0,118 \pm 0,02$ мкг/г сухого веса. Введение никеля увеличило долю никеля в ткани почек через 2 месяца в 26 раз, молибдена в 31 раз по сравнению с фоном ($0,24 \pm 0,218$ мкг/г сухого веса).

Совместное введение сорбентов и ксенобиотиков снижало содержание никеля в почке на 39,1% через один месяц и на 34,7% при месячном введении НУМС.

При совместном введении молибдата аммония и глины ирлит в течение одного месяца содержание металла снизилось в 2 раза, а в конце второго месяца интоксикации - на 42,6%. Введение НУМС и молибдата аммония в течение месяца снижало уровень металла в ткани почек на 42,5%.

Проводился корреляционный анализ степени зависимости изменений показателей относительной канальцевой реабсорбции воды при хронической интоксикации от влияния применяемых сорбентов с расчетом коэффициента корреляции Пирсона (r).

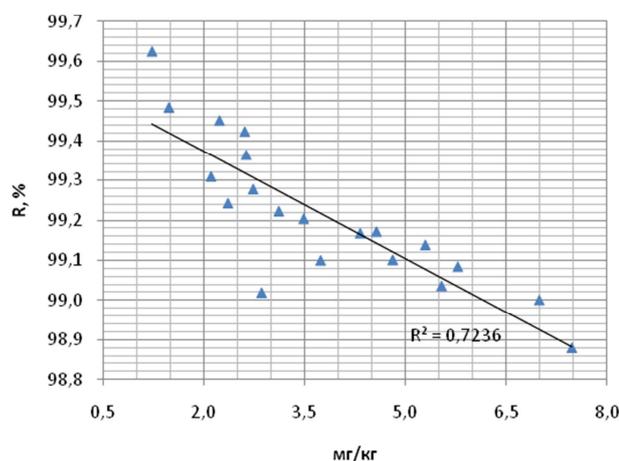


Рис. 2. Зависимость восстановления канальцевой реабсорбции воды от уменьшения накопления молибдена в ткани почек на фоне профилактического введения нанопористого сорбента ирлит при молибденовой интоксикации.

Выявлена четкая отрицательная линейная корреляционная связь между уровнем канальцевой реабсорбции воды и накоплением металла у крыс с применением сорбентов ирлит и НУМС: на фоне никелевой интоксикации ($r = -0,804$ и $r = -0,712$); на фоне молибденовой интоксикации ($r = -0,850$ и $r = -0,722$).

Построенный график (рис. 2) это доказывает линией тренда и коэффициентом детерминации. Изменения относительной канальцевой реабсорбции воды при введении сорбента ирлит у крыс при хронической молибденовой интоксикации на 72% определялись уменьшением накопления молибдена в ткани почки (коэффициент детерминации равен 0,724).

Таким образом, профилактическое использование сорбентов уменьшало накопление металлов в ткани почек, ограничивая всасывание из ЖКТ и способствуя выведению из организма, что не могло не влиять на их функциональное состояние.

Изучение влияния энтеросорбентов на ионо-водовыделительную функцию почек на фоне хронической интоксикации солями цветных металлов выявило способность сорбентов снижать степень нарушения процессов мочеобразования в условиях спонтанного диуреза, показало положительное влияние глины ирлит и НУМС на измененную почечную обработку электролитов. При этом профилактические эффекты у глины ирлит более выраженные.

Список литературы

1. Албегова Н.Р., Брин В.Б., Албегова Ж.К. Влияние глины ирлит-1 на почечные эффекты хлорида кобальта, его распределение в организме и экскрецию с мочой // Вестник МАНЭБ.– 2002. – Т. 7. - № 2 (50). – С. 61-67.
2. Ершов Ю.А., Плетенева Т.В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. - М. : Медицина, 1989. - 272 с.
3. Кокаев Р.И. Влияние природного цеолита ирлита-1 на почечные эффекты хронической интоксикации сульфатом кадмия // Тезисы докладов Третьей научной конференции молодых ученых СОГМА. – Владикавказ, 2004. - С. 44-46.
4. Реутова Н.В. Анализ заболеваемости населения в районе расположения вольфрамомолибденового комбината // Гигиена и санитария. - 2007. - № 4. - С. 13-15.
5. Цогоев В.Б., Качмазов К.Б., Бекузарова С.А. Ирлиты – природная кормовая добавка животным и птице для увеличения продуктивности и улучшения экологической обстановки // Вестник МАНЭБ. – 1998. - № 10. – С. 60-61.
6. Энтеросорбция / под ред. Н.А. Белякова. - Л., 1991. - 336 с.
7. Aizman R.I., Gerasev A.D., Lukanina S.N., Svyatash G.A., Panin L.E. Use of natural zeolites in medical and biological studies // 13-th international zeolite conference (Abstract book). – Montpellier, 2001. – 31 –R -04.
8. Brin V.B., Albegova N.R., Albegova Zh.K. Effects of different cobalt chloride doses and introduction pathways on renal excretion in Wistar line rats. Influence of Irlit-1 Zeolite entero-

sorbent // Abstracts of Sixth International Nickel Conference. - Murmansk, 2002. - P. 79.

Рецензенты:

Джигоев Инал Германович, д.м.н., профессор, зав. ЦНИЛ ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия Минздрава России», РСО-Алания, г. Владикавказ.

Болиева Лаура Зелимхановна, д.м.н., профессор, зав. кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии «Северо-Осетинской государственной медицинской академии Минздрава России», РСО-Алания, г. Владикавказ.