

Применение викасола как перспективного средства фармакологической коррекции экспериментального нефролитиаза

Жариков А.Ю., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В., Брюханов В.М., Азарова О.В., Талалаева О.С., Мотин Ю.Г.

The application of vicasole as a perspective nephrolithiasis pharmacological correction's drug

Zharikov A.Yu., Zverev Ya.F., Lampatov V.V., Bryukhanov V.M., Azarova O.V., Talalayeva O.S., Motin Yu.G.

Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул

© Жариков А.Ю., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В. и др.

Проведено исследование влияния викасола на течение экспериментального оксалатного нефролитиаза.

Экспериментальный нефролитиаз моделировали у двух групп крыс путем потребления в течение 6 нед 1%-го раствора этиленгликоля в виде питья. Первая группа являлась контрольной. Во второй группе начиная с 3-й нед ежедневно вводили подкожно викасол в дозе 500 мкг/кг массы тела. Определяли показатели экскреторной функции почек, измеряли активность маркерных ферментов и процесса свободнорадикального окисления, а также проводили морфометрическое исследование почечных срезов.

Установлено, что викасол существенно облегчает течение экспериментального нефролитиаза.

Ключевые слова: оксалатный нефролитиаз, викасол, фармакологическая коррекция.

The aim of the investigation was studying vicasole's effect on experimental oxalate nephrolithiasis.

Experimental nephrolithiasis was being modeled by using of 1% ethylenglycole's solution as a drink for rats during 6 weeks. First group was control. In the second group since the third week was being administrated vicasole in dose 500 mkg/kg. Was being detected parameters of kidney's function, markers enzymes activity and free oxygen's radicals activity, was carried out morphological researches.

It was concluded that vicasole's therapy reduce experimental oxalate nephrolithiasis

Key words: oxalate nephrolithiasis, vicasole, pharmacological correction.

УДК 615.356:577.16.53:616.62-003.7

Введение

Одной из актуальных задач современной медицины является борьба с таким распространенным урологическим заболеванием, как мочекаменная болезнь (МКБ). Проблему усугубляет тот факт, что лечение нефролитиаза сегодня в основном базируется на хирургических и ударно-волновых способах удаления и (или) разрушения конкрементов, что не устраняет причину и практически не затрагивает основных звеньев патогенеза МКБ, делая терапию малоэффективной при частых рецидивах. В то же время методы фармакологической коррекции нефролитиаза весьма

ограничены, в связи с чем поиску новых направлений в консервативном лечении заболевания уделяется пристальное внимание [8].

В одном из опубликованных ранее обзоров литературы подробно рассматривается важная роль внутрипочечных ингибиторов кристаллизации в сдерживании процесса камнеобразования [7]. Недавно установлено, что к их числу относится фрагмент протромбина 1 (ФП1) — белок относительно небольшой молекулярной массы (31 кДа), несущий на себе высокий отрицательный заряд, за счет которого он связывается с положительно заряженными зонами кристаллов оксалата кальция, препятствуя агрегации

последних [9—14]. Имеются сведения о том, что ФП1 может экспрессироваться непосредственно в почках, однако большая его часть все же попадает в нефрон после распада в крови протромбина, который, как известно, вырабатывается в печени под контролем витамина К [7]. В этой связи логично было предположить, что медикаментозная стимуляция синтеза протромбина может увеличить ингибирующую активность ФП1 в почках, ослабив тем самым интенсивность литогенных процессов.

Цель исследования — изучить влияние викасола, водорастворимого аналога витамина К, на течение экспериментального нефролитиаза.

Материал и методы

Эксперименты проведены на 27 беспородных крысах-самцах, находившихся в индивидуальных клетках, приспособленных для сбора мочи, в условиях стандартной лабораторной диеты. Животные были разделены на две группы. В первой (контрольной) группе 15 крыс с целью моделирования оксалатного нефролитиаза на протяжении 6 нед получали в виде питья 1%-й раствор этиленгликоля.

Этиленгликоль (ЭГ) — это низкомолекулярный двухатомный спирт, одним из продуктов метаболизма которого является оксалат-ион. Поэтому хроническое применение ЭГ приводит к пересыщению мочи солями CaC_2O_4 , повреждению почечного эпителия и отложению кальциевых депозитов преимущественно в интерстициальной ткани почечного сосочка. Данная модель нашла широкое распространение в работах известных исследователей, занятых проблемой лечения МКБ, таких как Saeed R. Khan, Andrew P. Evan и др. [2]. Кроме того, ранее она не раз была успешно воспроизведена в экспериментах [1, 5, 6].

Во второй (подопытной) группе 12 крыс после постребления на протяжении 6 нед ЭГ начиная с 4-й нед, затем ежедневно на протяжении последующих 3 нед в виде подкожных инъекций получали раствор викасола в дозе 500 мкг/кг массы тела. Столь низкая доза препарата была выбрана для того, чтобы минимизировать риск системного повышения свертываемости крови из-за усиления продукции протромбина.

Каждые 3—4 сут производили сбор суточного объема мочи, в которой устанавливали концентрацию ионов оксалата $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, фосфата PO_4^{3-} и кальция Ca^{2+} , а

также измеряли уровень экскреции креатинина. Оксалат-ионы в моче определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии по разработанной методике [4]. В качестве элюентов использовались 0,1%-й раствор серной кислоты и 80%-й ацетонитрил при градиенте последнего от 0 до 100%. Скорость подачи элюентов 100 мкл/мин, объем элюирования 1 000 мкл, температура хроматографической колонки 35 °С. Детекцию осуществляли при длине волны $\lambda = 210$ нм. Расчеты проводили по методу сравнения со стандартом, используя для построения калибровочного графика раствор оксалат-ионов в концентрации 1 мг/мл (Fluka, США). Фосфат-ионы в моче определяли методом фотоэлектроколориметрии (ФЭК) при длине волны $\lambda = 440$ нм по реакции образования фосфорно-молибден-ванадиевого комплекса, имеющего характерную желтую окраску. Ионы кальция в моче также определяли методом ФЭК по реакции с о-крезолфталеин-комплексом при длине волны $\lambda = 590$ нм.

Кроме того, каждые 7 сут проводилось определение активности в моче маркерных ферментов повреждения почечного эпителия: лактатдегидрогеназы (ЛДГ) (характеризует степень цитолиза клеток), γ -глутамилтрансферазы (ГГТ) (свидетельствует о степени повреждения клеточных мембран), N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы (НАГ) (демонстрирует функциональные нарушения нефроцитов). Активность ЛДГ определяли методом спектрофотометрии при $\lambda = 340$ нм. В основе метода лежит реакция восстановления пирувата до молочной кислоты. Эта реакция катализируется ЛДГ, а ее скорость зависит от активности фермента. Каталитическую активность ГГТ, для измерения которой использовался метод ФЭК, рассчитывали пропорционально количеству п-нитроанилина, образующегося в результате реакции взаимодействия L- γ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилида и глицилглицина. Детектирование п-нитроанилина осуществляли на фотоэлектроколориметре при $\lambda = 400$ нм. Определение НАГ проводили по модифицированной методике Maguch. Согласно этой методике активность НАГ пропорциональна количеству п-нитрофенола, образующегося в результате реакции гидролиза п-нитро-N-ацетил- β -глюкозамида, которую катализирует указанный фермент. Измерение количества п-нитрофенола производили спектрофотометрически при $\lambda = 400$ нм. Активность всех определяемых ферментов рассчиты-

вали относительно концентрации креатинина в моче (мг/л), и обозначалась в единицах U/мг креатинина в сутки, как это принято в биохимических исследованиях.

На 42-е сут эксперимента по 5 крыс из обеих групп умерщвляли путем дислокации шейного позвонка под эфирным наркозом с соблюдением требований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000). У декапитированных крыс изымались почки — материал для изучения активности в почечной ткани процесса свободнорадикального окисления (СРО), которая является важным индикатором литогенеза [3, 5, 6], а также для проведения морфологических исследований.

Активность процесса СРО оценивали по совокупности показателей оксидантного и антиоксидантного статусов, которые определяли в гомогенате почечной ткани. Суммарный показатель концентрации всех прооксидантов и свободнорадикальных метаболитов, общую прооксидантную активность (ОПА) оценивали по интенсивности окраски флуоресцентного комплекса, образующегося при взаимодействии продуктов перекисного окисления твин-80 с тиобарбитуровой кислотой. Дополнительно определяли концентрацию в ткани малонового диальдегида (МДА) и других тиобарбитуратреактивных продуктов (ТБРП) окисления жирных кислот.

Активность антиоксидантной системы исследовали в гомогенате коркового вещества почек. Для оценки антиоксидантного статуса клеток определяли показатели активности антиоксидантных ферментов: каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГПО). Активность КАТ определяли по подавлению ферментов окисления молибдата натрия перекисью водорода. Активность СОД оценивали по содержанию в пробе нитроформазана, окрашенного продукта восстановления нитротетразолия супероксидантными радикалами. Маркером активности ГПО служило определение неокисленного глутатиона по цветной реакции с реактивом Элмана.

Морфологические исследования проводились при помощи метода светооптической микроскопии. В качестве фиксирующей жидкости применялся 10%-й раствор формалина. Для оценки изменений коркового и мозгового веществ почки срезы ткани толщиной 4—6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. На сре-

зах толщиной 10—15 мкм гистохимическим методом Косса определяли наличие соединений кальция и проводили морфометрическое исследование величины выявленных депозитов и их количества.

Полученные результаты обрабатывали статистическим методом парных сравнений с использованием критерия Манна—Уитни. Все расчеты велись по общепринятым формулам. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M — выборочное среднее, m — ошибка среднего, выборка n для каждой из групп в конкретный период эксперимента приведена в таблицах.

Результаты

Проведенные эксперименты показали, что непрерывное 6-недельное применение 1%-го раствора ЭГ приводило к развитию у крыс контрольной группы выраженного оксалатного нефролитиаза, на что указывали характерные биохимические и морфологические признаки. Так, уже на 3-и сут опыта в моче регистрировалось значительное количество оксалат-ионов, хотя до начала моделирования патологии их присутствия не выявлялось (табл. 1). Впоследствии величина данного показателя, незначительно варьируя, оставалась на высоком уровне вплоть до конца периода наблюдений. Концентрация фосфат-ионов в моче животных контрольной группы, будучи стабильной на протяжении первых 3 нед применения ЭГ, начиная с 24-х сут приобретала тенденцию к снижению, в результате чего к моменту завершения опыта она в 1,5 раза была меньше исходных значений. Мочевая концентрация ионов кальция у контрольных крыс в течение всего эксперимента была стабильной, не претерпевая существенных изменений (табл. 1). Описанные процессы происходили на фоне незначительного усиления диуретической функции почек, что, по-видимому, было обусловлено некоторым увеличением скорости клубочковой фильтрации, индикатором которой являлась динамика экскреции креатинина. При этом в подопытной группе в первые 3 нед эксперимента, когда осуществлялось моделирование нефролитиаза, также были зафиксированы сопоставимые проявления пересыщения мочи, выражавшиеся главным образом в появлении значительного количества ионов оксалата в моче крыс (табл. 2).

Весомым показателем возникновения литогенных процессов в почках крыс контрольной группы стала динамика ферментурии, которая характеризовалась

последовательным, ярко выраженным ростом активности в моче всех трех маркерных энзимов (табл. 3). Как следствие, по истечении 6 нед опыта активность ЛДГ увеличилась по сравнению с исходным уровнем в 2,9 раза; ГГТ — в 1,6 раза; НАГ — в 3,8 раза (для

всех $p < 0,001$). Параллельно за первые 21 сут эксперимента было зафиксировано сопоставимое увеличение ферментативной активности в моче животных подопытной группы (табл. 3).

Таблица 1

Показатели экскреторной функции почек крыс в условиях экспериментального нефролитиаза ($M \pm m$)

Период наблюдения, сут	Диурез, мл/сут	Оксалат, мг/мл	Фосфат, мг/мл	Кальций, мкмоль/мл	Креатинин, моль/сут
	Исходный уровень				
	5,30 ± 0,36 (n = 15)	—	9,10 ± 0,38 (n = 15)	1,80 ± 0,10 (n = 15)	7,10 ± 0,38 (n = 15)
	Моделирование нефролитиаза				
3	5,90 ± 0,65 (n = 12)	1,30 ± 0,29* (n = 12)	9,00 ± 0,47 (n = 12)	1,90 ± 0,19 (n = 8)	9,30 ± 0,66* (n = 8)
7	5,40 ± 0,48 (n = 15)	1,20 ± 0,14* (n = 15)	8,00 ± 0,44 (n = 15)	1,30 ± 0,09* (n = 15)	8,50 ± 0,61 (n = 15)
10	6,50 ± 0,64 (n = 9)	1,30 ± 0,10* (n = 9)	8,50 ± 0,40 (n = 9)	Не определялось	Не определялось
14	5,90 ± 0,43 (n = 15)	1,40 ± 0,13* (n = 15)	8,20 ± 0,33 (n = 15)	1,60 ± 0,22 (n = 15)	6,30 ± 0,44 (n = 15)
17	7,70 ± 0,96* (n = 15)	1,10 ± 0,10* (n = 15)	8,10 ± 0,21 (n = 15)	1,90 ± 0,13 (n = 15)	10,90 ± 0,63* (n = 15)
21	6,70 ± 0,55* (n = 15)	1,30 ± 0,13* (n = 15)	7,40 ± 0,46* (n = 15)	1,90 ± 0,23 (n = 15)	7,20 ± 0,49 (n = 15)
24	7,60 ± 1,41 (n = 15)	1,60 ± 0,17* (n = 15)	5,90 ± 0,43* (n = 15)	1,40 ± 0,14 (n = 15)	9,20 ± 0,84 (n = 15)
28	7,70 ± 0,78* (n = 15)	1,60 ± 0,16* (n = 15)	6,20 ± 0,40* (n = 15)	1,50 ± 0,10 (n = 15)	8,60 ± 1,00 (n = 15)
31	9,40 ± 1,73* (n = 8)	1,30 ± 0,12* (n = 8)	7,90 ± 0,63 (n = 8)	1,50 ± 0,28 (n = 8)	Не определялось
35	8,20 ± 1,01* (n = 15)	1,30 ± 0,12* (n = 15)	6,10 ± 0,50* (n = 15)	1,60 ± 0,06 (n = 15)	8,40 ± 0,74 (n = 15)
38	5,60 ± 0,64 (n = 9)	1,70 ± 0,21* (n = 9)	8,20 ± 0,17 (n = 8)	Не определялось	9,80 ± 0,68* (n = 9)
42	9,00 ± 1,19* (n = 15)	1,30 ± 0,14* (n = 15)	6,20 ± 0,45* (n = 15)	1,60 ± 0,17 (n = 15)	8,30 ± 1,03 (n = 14)

Примечание. Здесь и в табл. 2–4 звездочками обозначены достоверные изменения относительно исходного уровня ($p < 0,05$).

Таблица 2

Влияние викасола в дозе 500 мкг/кг массы тела на показатели экскреторной функции почек крыс в условиях экспериментального нефролитиаза ($M \pm m$)

Период наблюдения, сут	Диурез, мл/сут	Оксалат, мг/мл	Фосфат, мг/мл	Кальций, мкмоль/мл	Креатинин, моль/сут
	Исходный уровень				
	4,70 ± 0,33 (n = 12)	—	8,80 ± 0,18 (n = 12)	1,70 ± 0,06 (n = 12)	7,10 ± 0,30 (n = 12)
	Моделирование нефролитиаза				
3	4,40 ± 0,63 (n = 12)	1,80 ± 0,30* (n = 12)	8,80 ± 0,43 (n = 12)	Не определялось	7,20 ± 0,61 (n = 12)
7	5,70 ± 0,62 (n = 12)	1,60 ± 0,26* (n = 12)	9,70 ± 0,73 (n = 12)	1,60 ± 0,23 (n = 12)	9,80 ± 0,63* (n = 8)
10	5,00 ± 0,54 (n = 12)	1,60 ± 0,08* (n = 11)	8,70 ± 0,49 (n = 12)	1,60 ± 0,19 (n = 8)	8,00 ± 0,44 (n = 8)
14	6,20 ± 1,12 (n = 10)	1,20 ± 0,10* (n = 10)	8,30 ± 0,67 (n = 10)	1,60 ± 0,25 (n = 10)	8,40 ± 0,83 (n = 9)
17	4,90 ± 0,67	1,70 ± 0,17*	9,10 ± 0,51	1,80 ± 0,15	8,00 ± 0,49

21	(n = 12) 5,40 ± 0,73 (n = 8)	(n = 12) 1,30 ± 0,21* (n = 8)	(n = 12) 7,80 ± 0,76 (n = 8)	(n = 9) 1,60 ± 0,10 (n = 8)	(n = 10) 8,60 ± 0,51* (n = 8)
----	------------------------------------	-------------------------------------	------------------------------------	-----------------------------------	-------------------------------------

Окончание табл. 2

Период наблюдения, сут	Диурез, мл/сут	Оксалат, мг/мл	Фосфат, мг/мл	Кальций, мкмоль/мл	Креатинин, моль/сут
24	4,40 ± 1,16 (n = 9)	1,80 ± 0,19* (n = 9)	7,50 ± 1,15 (n = 8)	1,50 ± 0,12 (n = 9)	7,30 ± 0,66 (n = 9)
28	7,50 ± 1,27 (n = 12)	<u>0,90 ± 0,06*</u> (n = 9)	8,80 ± 0,54 (n = 9)	1,20 ± 0,12 (n = 9)	Не определялось
31	6,20 ± 1,19 (n = 8)	1,00 ± 0,07* (n = 8)	8,40 ± 0,50 (n = 8)	1,40 ± 0,16 (n = 8)	8,70 ± 0,99* (n = 8)
35	6,30 ± 1,03 (n = 9)	<u>0,90 ± 0,08*</u> (n = 8)	8,10 ± 0,55 (n = 9)	1,50 ± 0,21 (n = 9)	8,40 ± 0,47* (n = 9)
38	7,30 ± 1,19 (n = 11)	<u>1,00 ± 0,10*</u> (n = 10)	8,10 ± 0,37 (n = 11)	Не определялось	9,60 ± 1,06 (n = 11)
42	8,60 ± 0,94* (n = 12)	<u>0,90 ± 0,08</u> (n = 12)	7,70 ± 0,35 (n = 10)	1,40 ± 0,18 (n = 10)	9,90 ± 0,58* (n = 10)

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4 подчеркнуты достоверные изменения относительно контрольной группы ($p < 0,05$).

Таблица 3

Влияние викасола в дозе 500 мкг/кг массы тела на ферментативную активность в моче крыс с экспериментальным нефролитиазом ($M \pm m$)

Период наблюдения, сут	ЛДГ		ГГТ		НАГ	
	У/мг креатинина в сутки					
	Контроль	Лечение	Контроль	Лечение	Контроль	Лечение
	Исходный уровень					
	0,180 ± 0,015 (n = 15)	0,210 ± 0,011 (n = 9)	0,260 ± 0,015 (n = 15)	0,280 ± 0,015 (n = 8)	8,40 ± 0,32 (n = 15)	9,30 ± 0,19 (n = 11)
	Моделирование нефролитиаза					
7	0,320 ± 0,024* (n = 15)	0,290 ± 0,014* (n = 12)	0,300 ± 0,015 (n = 15)	0,300 ± 0,010 (n = 8)	14,40 ± 2,48* (n = 15)	Не определялось (n = 12)
14	0,500 ± 0,033* (n = 15)	0,440 ± 0,030* (n = 12)	0,320 ± 0,011* (n = 15)	0,320 ± 0,027 (n = 8)	19,40 ± 1,40* (n = 15)	17,20 ± 1,24* (n = 12)
21	0,520 ± 0,032* (n = 15)	0,500 ± 0,023* (n = 9)	0,370 ± 0,015* (n = 15)	0,350 ± 0,030* (n = 8)	20,10 ± 2,11* (n = 15)	12,80 ± 0,98* (n = 8)
	Лечение					
28	0,440 ± 0,018* (n = 15)	<u>0,330 ± 0,026*</u> (n = 9)	0,300 ± 0,010 (n = 15)	0,270 ± 0,016 (n = 12)	17,02 ± 0,90* (n = 15)	<u>9,10 ± 0,32</u> (n = 12)
35	0,450 ± 0,025* (n = 15)	<u>0,280 ± 0,022*</u> (n = 12)	0,420 ± 0,049* (n = 15)	<u>0,220 ± 0,025</u> (n = 9)	15,40 ± 1,26* (n = 15)	<u>10,00 ± 0,34</u> (n = 8)
42	0,530 ± 0,018* (n = 15)	<u>0,270 ± 0,031</u> (n = 9)	Не определялось	0,290 ± 0,020 (n = 10)	31,90 ± 2,86* (n = 15)	<u>12,80 ± 0,35*</u> (n = 8)

Таблица 4

Влияние викасола в дозе 500 мкг/кг массы тела на активность свободнорадикального окисления у крыс с экспериментальным нефролитиазом ($M \pm m$)

Группа	ТБРП, мкмоль	ОПА, %	КАТ, %	СОД, %	ГПО, %
Здоровые крысы	2,9 ± 0,18 (n = 15)	75,5 ± 2,71 (n = 15)	11,9 ± 0,79 (n = 15)	14,9 ± 1,61 (n = 15)	37,4 ± 1,88 (n = 15)
Контроль, 6 нед	24,1 ± 0,62* (n = 11)	78,2 ± 2,24 (n = 13)	13,6 ± 1,50 (n = 11)	11,6 ± 1,26 (n = 13)	29,9 ± 2,45* (n = 13)
Лечение	21,0 ± 1,09* (n = 12)	70,0 ± 3,64 (n = 14)	15,9 ± 1,17* (n = 13)	23,1 ± 0,95* (n = 15)	29,1 ± 2,15* (n = 12)

Примечание. n — количество проб гомогената почек.

Кроме того, как это видно из табл. 4, в почках крыс контрольной группы, 6 нед потреблявших ЭГ, были отмечены четкие признаки оксидативного стресса: увеличение относительно показателей здоровых крыс в 8,3 раза концентрации ТБРП и снижение на 7,5% активности главного антиоксидантного фермента – ГПО ($p < 0,03$).

Наконец, результаты морфометрии срезов почек контрольных крыс выявили формирование в области почечного сосочка значительного количества кальциевых депозитов ($27,4 \pm 3,22$ в поле зрения), средний размер которых составил ($12,0 \pm 0,62$) мкм.

В этих условиях в подопытной группе последовавшее после 3 нед применения ЭГ длительное введение викасола сопровождалось существенным облегчением протекания экспериментальной патологии. Как следует из табл. 2, уже на 7-е сут терапии произошло уменьшение концентрации в моче оксалат-ионов относительно контрольной группы в 1,8 раза, после чего она сохранялась на установившемся уровне вплоть до окончания опыта, уступая контрольным цифрам в 1,4–1,7 раза ($p < 0,02$). Концентрация фосфат-ионов в моче животных подопытной группы в отличие от показателей контрольных крыс на всем протяжении эксперимента была стабильной, не отличаясь от исходных величин. Мочевая концентрация ионов кальция также была стабильной, не претерпевая изменений как по сравнению с исходными показателями, так и относительно контроля.

Наглядным признаком антилитогенного действия викасола послужили результаты определения в моче подопытных животных активности маркерных ферментов повреждения почечного эпителия (см. табл. 3). Оказалось, что по завершении проводимого курса лечения активность ЛДГ уступала показателям контрольных крыс в 2 раза; ГГТ — в 1,9 раза; НАГ — в 2,5 раза.

Параллельно наблюдались признаки ослабления активности процесса СРО. Из табл. 4 следует, что после трехнедельного применения препарата в гомогенате почечной ткани крыс подопытной группы на 12,9% относительно контроля снизилась концентрация ТБРП ($p < 0,01$) при сопутствующем двукратном увеличении активности СОД.

Финальным и наиболее весомым подтверждением эффективности проведенного лечения стали результаты морфометрии, согласно которым количество кальциевых депозитов в области почечного сосочка подопытных животных уменьшилось в 1,5 раза (с $27,4 \pm 3,22$ до

$18,2 \pm 2,13$ в поле зрения; $p = 0,02$), а их средний размер — в 1,7 раза (с ($12,0 \pm 0,62$) до ($7,0 \pm 0,28$) мкм; $p < 0,001$).

Обсуждение

В результате проведенного исследования установлено, что 6-недельное применение ЭГ спровоцировало развитие нефролитиаза у крыс контрольной группы, который сопровождался характерными для данного заболевания признаками.

На этом фоне изучение терапевтической эффективности викасола в отношении экспериментальной патологии продемонстрировало значительное ослабление интенсивности камнеобразования. В экспериментах было установлено, что применение препарата сопровождалось ощутимым снижением мочевой концентрации оксалат-ионов. Учитывая, что анионы щавелевой кислоты играют весьма важную роль в процессе внутрипочечной кристаллизации за счет прямого химического синтеза нерастворимых оксалатных биоминералов и повреждающего воздействия на почечный эпителий [3], зафиксированное ослабление пересыщения мочи этими ионами благоприятно отразилось на течении экспериментальной патологии.

Кроме того, были выявлены четкие признаки реэпителизации поврежденных почечных структур, о чем свидетельствовала регрессивная динамика активности маркерных ферментов деструкции и дисфункции нефроцитов, а также ослабление оксидативного стресса в почках. Данный факт, несомненно, является наглядным диагностическим признаком эффективности проведенного лечения, поскольку, согласно современной кристаллизационной теории, важнейшее место в каскаде литогенных процессов отводится так называемому повреждающему фактору, обеспечивающему формирование первичного очага кристаллизации с последующим образованием почечных камней [3].

В результате применения викасола количество кальциевых депозитов уменьшилось в 1,5 раза, а их средний размер — в 1,7 раза.

Анализируя возможные причины и механизмы антилитогенного действия викасола, в первую очередь следует отметить общеизвестный факт: главным эффектом витамина К в организме является стимуляция выработки в печени такого фактора свертывания крови, как протромбин. Не исключено, что при длительной стиму-

ляции указанного процесса умеренными дозами препарата могло произойти определенное накопление в крови продуктов распада протромбина, в том числе фрагмента протромбина 1. Являясь одним из четырех известных на сегодняшний день ингибиторов кристаллизации, ФП1, попав в нефрон, по всей видимости, обеспечил эффективность лечения нефролитиаза [7]. Известно, что ФП1 содержит в своей структуре значительное количество отрицательно заряженных группировок γ -карбоксиглутаминовой кислоты при сравнительно небольшой молекулярной массе. За счет этих группировок ФП1 связывается с положительно заряженными гранями кристаллов оксалата кальция, обволакивая их своеобразным «покрывалом», что ослабляет возможность последующей адгезии и агрегации кристаллического материала [11]. Вполне вероятно, что указанные процессы имели место и в представленных экспериментах.

Проведенное исследование наглядно продемонстрировало антилитогенную эффективность 3-недельного курса применения викасола при экспериментальном нефролитиазе.

Заключение

Применение викасола существенно облегчает течение экспериментального оксалатного нефролитиаза. Характерными признаками данного действия стали ослабление пересыщения мочи, восстановление структуры и функции нефроцитов и уменьшение количества и размеров кальциевых депозитов. Эти результаты открывают новые перспективы в клиническом применении препаратов витамина К.

Литература

1. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В. и др. Функция почек в условиях экспериментального оксалатного нефролитиаза // Нефрология. 2008. Т. 12, № 1. С. 69—74.
2. Жариков А.Ю., Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В. Современные методы моделирования оксалатного нефролитиаза // Нефрология. 2008. Т. 12, № 4. С. 28—35.
3. Жариков А.Ю., Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., Лампатов В.В. Механизм формирования кристаллов при оксалатном нефролитиазе // Нефрология. 2009. Т. 13, № 4. С. 37—50.
4. Жариков А.Ю., Лампатов В.В., Зверев Я.Ф. и др. Новый способ определения оксалат-ионов в моче // Клинич. лаб. диагностика. 2010. № 12. С. 3—5.

5. Жариков А.Ю., Талалаева О.С., Зверев Я.Ф. и др. Роль антиоксидантной терапии в фармакологической коррекции экспериментального нефролитиаза // Нефрология. 2010. Т. 14, № 4. С. 53—58.
6. Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., Талалаева О.С. и др. О роли процессов свободнорадикального окисления в развитии экспериментального нефролитиаза // Нефрология. 2008. Т. 12, № 1. С. 58—63.
7. Зверев Я.Ф., Жариков А.Ю., Брюханов В.М., Лампатов В.В. Современные представления о модуляторах оксалатного нефролитиаза. Ингибиторы кристаллизации // Нефрология. 2010. Т. 14, № 1. С. 29—49.
8. Тиктинский О.Л., Александров В.П. Мочекаменная болезнь. СПб.: Питер, 2000. 384 с.
9. Atmani F., Glenton P.A., Khan S.R. Identification of proteins extracted from calcium oxalate and calcium phosphate crystals induced in the urine of healthy and stone forming subjects // Urol. Res. 1998. V. 26, № 3. P. 201—207.
10. Grover P.K., Thurgood L.A., Ryall R.L. Effect of urine fractionation on attachment of calcium oxalate crystals to renal epithelial cells: implications for studying renal calculogenesis // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2007. V. 292, № 5. P. F1396—F1403.
11. Kumar V., Farrell G., Lieske J.C. Whole urinary proteins coat calcium oxalate monohydrate crystals to greatly decrease their adhesion to renal cells // J. Urol. 2003. V. 170 (1). P. 221—225.
12. Stapleton A.M., Ryall R.L. Blood coagulation proteins and urolithiasis are linked: crystal matrix protein is the F1 activation peptide of human prothrombin // Br. J. Urol. 1995. V. 75, № 6. P. 712—719.
13. Stapleton A.M., Dawson C.J., Grover P.K. et al. Further evidence linking urolithiasis and blood coagulation: urinary prothrombin fragment 1 is present in stone matrix // Kidney Int. 1996. V. 49, № 3. P. 880—888.
14. Suzuki K., Moriyama M., Nakajima C. et al. Isolation and partial characterization of crystal matrix protein as a potent inhibitor of calcium oxalate crystal aggregation: evidence of activation peptide of human prothrombin // Urol. Res. 1994. V. 22, № 1. P. 45—50.

Поступила в редакцию 19.04.2011 г.

Утверждена к печати 22.12.2011 г.

Сведения об авторах

А.Ю. Жариков — канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии АГМУ (г. Барнаул).

Я.Ф. Зверев — д-р мед. наук, профессор кафедры фармакологии АГМУ (г. Барнаул).

В.В. Лампатов — д-р биол. наук, профессор кафедры фармакологии АГМУ (г. Барнаул).

В.М. Брюханов — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фармакологии АГМУ (г. Барнаул).

О.В. Азарова — канд. биол. наук, доцент, зав. кафедрой общей химии АГМУ (г. Барнаул).

О.С. Талалаева — канд. мед. наук, ассистент кафедры фармакологии АГМУ (г. Барнаул).

Ю.Г. Мотин — канд. мед. наук, ассистент кафедры гистологии АГМУ (г. Барнаул).

Для корреспонденции

Жариков Александр Юрьевич, тел.: 8 (3852) 26-08-29, 8-913-082-5477, zharikov_a_y@mail.ru