

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА

ЦИТОФЛАВИН КАК ПРЕПАРАТ КОРРЕКЦИИ РЕНТГЕНОКОНТРАСТНОЙ НЕФРОПАТИИ

А. И. Карпищенко¹, С. Н. Жерегеля², С. И. Глушков³

Представлены экспериментальные данные о воздействии омнипака-350 в дозе 20 г/кг на обмен глутатиона, процессы перекисного окисления липидов в тканях почек, печени и в эритроцитах белых беспородных крыс. Показана возможность коррекции нарушений естественной системы цитопротекции в тканях, возникающей при введении рентгеноконтрастного средства, посредством препарата цитофлавин. Обсуждаются механизмы цитопротекторного действия цитофлавина.

Ключевые слова: рентгеноконтрастные средства, цитофлавин, глутатион, перекисное окисление липидов

ВВЕДЕНИЕ

Рентгеноконтрастная нефропатия (РКН) стала важной клинической проблемой, растущей параллельно широкому распространению диагностических и лечебных процедур с использованием контрастных средств. По данным Американской ассоциации сердца только в 2003 г. было проведено примерно 1 млн 414 тыс процедур коронарной ангиографии и 664 тыс процедур коронарной ангиопластики [1]. РКН определяют по подъёму уровня креатинина сыворотки на 44 мкмоль/л или на 25% от базового уровня в течение 48 ч после введения рентгеноконтрастных средств (РКС) при отсутствии альтернативных причин [2]. РКН стала третьей по частоте причиной острой почечной недостаточности (ОПН) у госпитальных больных [3]. При ее возникновении, увеличиваются сроки госпитализации, повышается необходимость проведения диализа и смертность в период пребывания в стационаре и после выписки [4]. Распространённость РКН в общей популяции не превышает 2%. В группах высокого риска (пациенты пожилого возраста, с гипертонией, сахарным диабетом, сердечной недостаточностью) распространённость РКН достигает 20 – 30% [5 – 7].

В настоящее время продолжается поиск средств по профилактике РКН. Одно из ведущих мест занимают препараты, обладающие антиоксидантными и вазодилатирующими свойствами, предотвращающими гибель эндотелиальных клеток [8, 9]. Экспериментальные исследования показали, что определенную роль в развитии РКН играет повышенное образование свободных радикалов, оказывающих повреждающее действие на эпителиальные клетки канальцев. В связи с

этим гипотетически оправдано применение цитофлавина для профилактики РКН. Цитофлавин является комплексным препаратом, обладающим цитопротекторными, антигипоксантами и антиоксидантными свойствами. Оказывает положительный эффект на процессы биоэнергетики клетки, уменьшает продукцию свободных радикалов, повышает активность ферментов антиоксидантной защиты. Препарат активирует окислительно-восстановительные ферменты дыхательной цепи митохондрий, стимулирует внутриклеточный синтез белка и нуклеиновых кислот, способствует утилизации глюкозы, жирных кислот и ресинтезу макроэргов. Обладает антиишемическим действием.

Однако на сегодняшний день имеются ограниченные доказательства того, что наряду с адекватной гидратацией препарат может использоваться в качестве стандартного профилактического средства у пациентов высокого риска развития РКН.

Цель исследования: на основании влияния цитофлавина на обмен естественного цитопротектора клетки глутатиона в условиях экспериментальной рентгеноконтрастной нефропатии определить возможность использования препарата в клинике.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 80 белых беспородных крысах-самцах массой 180 – 220 г. Экспериментальную рентгеноконтрастную нефропатию у животных вызывали путем внутрибрюшинного введения омнипака-350 в дозе LD₅₀. Диагноз РКН подтверждался морфологически и на основании определения креатинина в сыворотке крови животных.

Определение LD₅₀ РКС проводили с использованием “табличного экспресс-метода” по В. Б. Прозоровскому (1994), ее численные значения составили 20 г/кг массы животного. Забой животных проводили

¹ СПб ГУЗ “Медицинский информационный аналитический центр”, 191040, Санкт-Петербург, ул. Шкапина, 30.

² Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург.

³ ФГУ “Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физической культуры”.

через 1, 3 и 5 суток после однократного введения препарата.

Для фармакологической коррекции нефротоксического действия РКС животным внутрибрюшинно ежедневно вводили цитофлавин (10 % водный раствор в дозе 100 мг/кг внутрибрюшинно) в течение 5 суток.

Контрольным животным (которым вводили контрастный препарат или интактным) в те же сроки внутрибрюшинно вводили физиологический раствор в объеме, соответствующем объему вводимого препарата. После введения контрастного средства и препарата коррекции до момента забоя животные опытных групп содержались в тех же условиях, что и животные контрольных групп.

В тканях почек, печени и эритроцитах экспериментальных животных определяли показатели обмена глутатиона (концентрация восстановленного глутатиона, сульфгидрильных групп белков, активность глутатионредуктазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы, каталазы). Оценивали интенсивность процессов перекисного окисления липидов по концентрации малонового диальдегида (МДА), а также определяли показатели нарушения функции почек (концентрация креатинина, мочевины).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Показателем развития рентгеноконтрастной нефропатии у животных явилось достоверное повышение концентрации мочевины в 1,8 раза и креатинина на 48 % в сыворотке крови к 3-м суткам исследования (таблица).

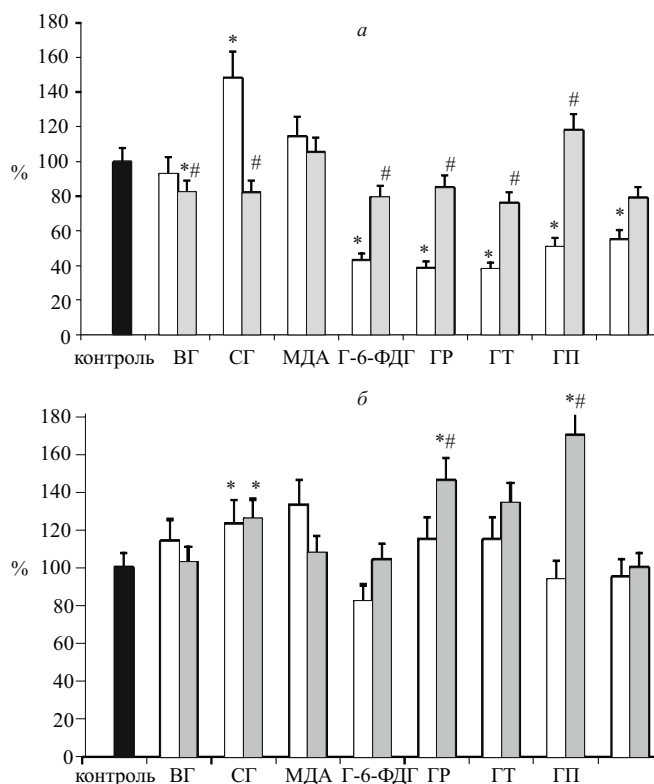
В ходе исследования отмечалось достоверное повышение содержания сульфгидрильных групп (СГ) в ткани почек при введении омнипака животным на 5-е сутки исследования в 1,5 раза ($p < 0,05$) выше контроля (рисунок, а).

В тканях почек животных, получавших РКС, на протяжении всего периода исследования наблюдалось достоверное снижение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ). В первые сутки активность фермента составила 27 % ($p < 0,05$) от уровня нормы и к 5-м суткам увеличилась лишь до 43 % (рисунок, а).

Активность тиол-зависимых ферментов, таких как глутатионредуктаза (ГР), глутатион-S-трансфераза (ГТ) и глутатионпероксидаза (ГП), на протяжении всего эксперимента достоверно ($p < 0,05$) снижалась и к 5-м суткам составила для ГР – 38,5 %, ГТ – 38 % и ГП – 51 %, соответственно, от уровня контроля (рисунок, а).

Нарушение активности антиоксидантных ферментов в условиях применения РКС приводит к активации свободнорадикальных процессов. Подтверждением тому может служить достоверное повышение концентрации МДА в 1,5 раза на 3-и сутки исследования.

В эритроцитах животных отмечалось повышение концентрации сульфгидрильных групп в 1,5 раза в



Влияние цитофлавина на обмен глутатиона в ткани почек (а) и в эритроцитах (б) на 5-е сутки после введения омнипака-350 в суточной дозе 20 г/кг.

Светлые столбики – не леченные, темные – после введения цитофлавина. Отличия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению: * – с группой контроля, # – с группой отравленных животных.

первые сутки, а к 5-м суткам она была на 23 % выше показателей контрольной группы. Происходило также снижение активности Г-6-ФДГ на 22 % в первые сутки и 34 % на 3-и сутки (рисунок, б).

В ткани печени введение омнипака-350 приводило к постепенному снижению уровня СГ на протяжении всего периода исследования, к 5-м суткам данный показатель составил 71 % ($p < 0,05$) от контрольных значений. Отмечалось стойкое увеличение активности ГП на протяжении всего эксперимента: в 2,24 раза ($p < 0,05$), в 1,9 раза ($p < 0,05$) и 2,1 раза ($p < 0,05$) в 1, 3 и 5-е сутки соответственно.

Динамика концентрации мочевины и креатинина в сыворотке крови крыс после введения омнипака в дозе 20 мг/кг

Группа исследования	Сроки исследования, сут	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, ммоль/л
Контроль		2,17 ± 0,19	26,40 ± 4,34
Омнипак, LD ₅₀	1	2,19 ± 0,83	27,01 ± 2,65
	3	3,95 ± 0,31*	39,19 ± 3,69*
	5	2,39 ± 0,45	29,31 ± 1,01

* – достоверность отличия $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля.

Нарушения обмена глутатиона в тканях животных, получавших РКС, совпадали с морфологическими изменениями в почечной ткани.

Уже через первые сутки после введения РКС при отсутствии достоверных изменений концентрации мочевины и креатинина в сыворотке крови происходили умеренные морфологические изменения в почечной ткани. Выявлялись дистрофически измененные и некротизированные нефроны канальцев, гибель эпителия почечных канальцев. К 3-м суткам эксперимента на фоне выраженных нарушений обмена глутатиона в почечной ткани формировались морфологические изменения (полная десквамация почечного эпителия в канальцах), имеющие необратимый характер.

Цитофлавин способствовал в той или иной степени нормализации практически всех показателей обмена глутатиона и снижению выраженности морфологических изменений почечной ткани. У животных, получавших цитофлавин, в отличие от не леченных крыс отсутствовала клиническая симптоматика (выраженные отеки, диарея).

Исследование системы глутатиона и ПОЛ позволило установить, что цитофлавин оказывал выраженное положительное влияние на динамику всех показателей исследуемой системы в тканях отравленных животных. Так, в почечной ткани на фоне достоверного ($p < 0,05$) снижения концентрации СГ в 1,8 раза по сравнению с животными, не получавшими корректирующей терапии, отмечался достоверный рост активности практически всех исследуемых ферментов (рисунк, а).

В тканях печени, где угнетающее действие РКС на орган было менее выражено, на фоне нормальных показателей исследуемой системы отмечалось незначительное, но, тем не менее достоверное ($p < 0,05$) уменьшение активности ГР на 27 % и ГТ на 22,2 % по отношению к не леченым животным.

В клетках красной крови, напротив, отмечается прирост активности ГР на 27,4 % ($p < 0,05$), увеличение ГП активности в 1,72 раза по сравнению с животными контрольной группы (рисунок, б).

Подводя итог, можно отметить, что показателем эффективности фармакологической коррекции цитофла-

вином явилось частичное восстановление обмена глутатиона в тканях животных. Его применение приводило к снижению концентрации СГ до уровня физиологической нормы, достоверному ($p < 0,05$) увеличению активности Г-6-ФДГ, ГР, ГТ, ГП и каталазы в тканях почек, а также к увеличению активности ГП и ГР ($p < 0,05$) в эритроцитах. Таким образом, использование цитофлавина позволило существенно усилить интенсивность обмена глутатиона за счет повышения активности глутатион-зависимых цитопротекторных ферментов, а также снизить интенсивность выработки продуктов ПОЛ. Это говорит о том, что препарат может оказывать стабилизирующее действие на состояние мембран и, следовательно, повысить эффективность выполнения ряда мембранных функций клетками исследуемых органов.

ВЫВОДЫ

1. Внутривентриальное введение крысам омнипак-350 в дозе 20 г/кг вызывает повышение концентрации мочевины и креатинина в сыворотке крови к 3-м суткам исследования, а также нарушает обмен глутатиона в почках и печени.

2. Цитофлавин (10 % водный раствор в дозе 100 мг/кг внутривентриально) положительно влияет на обмен глутатиона в эритроцитах и тканях крыс и выраженность морфологических изменений в почечной ткани, вызванных омнипаком.

ЛИТЕРАТУРА

1. American Heart Association. *Heart Disease and Stroke Statistics*, 2006, Update, p. 35.
2. B. J. Barrett, *N. Engl. J. Med.*, **354**, 379 – 386(2006).
3. K. Nash, *Am. J. Kidney Dis.*, **39**, 930 – 936(2002).
4. G. Dangas, *Am. J. Cardiol.*, **95**, 13 – 19(2005).
5. G. Marenzi, *J. Am. Coll. Cardiol.*, **44**, 1780 – 1785(2004).
6. I. Goldenberg, *CMAJ*, **172**, 1461 – 1471(2005).
7. M. Maeder, *J. Am. Coll. Cardiol.*, **44**, 1763 – 1771(2004).
8. S. Fishbane, *J. Am. Soc. Nephrol.*, **15**, 251 – 260(2004).
9. S. N. Heyman, *Kidney Int.*, **63**, 634 – 641(2003).

Поступила 27.04.10

USING CYTOFLAVIN FOR CORRECTING X-RAY CONTRASTING AGENT-INDUCED NEPHROPATHY

A. I. Karpishchenko¹, S. N. Zheregelya², and S. I. Glushkov³

¹ Medical Information-Analytical Center, Shkapina ul. 30, St. Petersburg, 191040, Russia

² St. Petersburg State Military Medical Academy, ul. Lebedeva 6, St. Petersburg, 194044, Russia

³ St. Petersburg Research Institute of Physical Culture, Ligovskii prosp. 56, St. Petersburg, 191040, Russia

Experimental data on the influence of omnipak-350 introduction in a dose of 20 g/kg on the glutathione exchange processes and lipid peroxidation in kidneys, liver and erythrocytes of white outbred rats are presented. The possibility of using cytoflavin for correcting x-ray contrast agent-induced disorders in the natural cytoprotective system is shown. Probable mechanisms of the cytoprotective effect of the proposed pharmacological treatment are discussed.

Key words: x-ray contrasting agents, cytoflavin, glutathione, lipid peroxidation