

## 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  $\text{CaC}_2\text{O}_4$ , 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  $\text{PO}_4^{3-}$  и кальция  $\text{Ca}^{2+}$ , 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),  $\gamma$ -глутамилтрансферазы (ГГТ) (свидетельствует о степени повреждения клеточных мембран), N-ацетил- $\beta$ -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- $\gamma$ -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- $\beta$ -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 супероксидными 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, выразившиеся 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  $\gamma$ -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