

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.144.60>**ОЦЕНКА ПРИМЕНЕНИЯ АЛЛОПУРИНОЛА ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПОЧЕК У КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Научная статья

Еремина А.И.¹, Инчина В.И.², Коробков Д.М.^{3,*}, Клочкова А.А.⁴, Неськина Д.И.⁵, Васина А.П.⁶, Миморова Ю.В.⁷, Калинина Л.П.⁸, Захаров Д.И.⁹, Толмачева А.А.¹⁰, Рамазанова Х.Ф.¹¹, Большакова А.В.¹², Перепелова Е.А.¹³³ORCID : 0000-0001-8948-0052;^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13} Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарёва, Саранск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (doctordmk[at]mail.ru)

Аннотация

Атомарные формы кислорода выступают медиаторами постишемического реперфузионного повреждения в почках. Цель исследования – оценка нефропротективного эффекта аллопуринола при постишемическом реперфузионном повреждении почек у крыс в эксперименте. Значения креатинина в группе 2 и 3 достигли максимальных значений к 3-му дню, с момента операции, и спустя 24 часа с момента начала эксперимента в группе 3 показатель мочевины был на 24,9% статистически значимо ниже в сравнении с группой 2, $p < 0,05$. Применение аллопуринола статистически значимо уменьшало функциональные и гистологические нарушения, наблюдаемые на 1-е, 3-и и 7-е сутки. Применение аллопуринола при ишемии-реперфузии может иметь колоссальный практический выход, но требуется дальнейшее проведение исследований.

Ключевые слова: ишемия, реперфузия, почки, аллопуринол.**AN EVALUATION OF ALLOPURINOL USE IN ISCHAEMIA REPERFUSION KIDNEY INJURY IN RATS IN AN EXPERIMENT**

Research article

Yeremina A.I.¹, Inchina V.I.², Korobkov D.M.^{3,*}, Klochkova A.A.⁴, Neskina D.I.⁵, Vasina A.P.⁶, Mimoreva Y.V.⁷, Kalinina L.P.⁸, Zakharov D.I.⁹, Tolmacheva A.A.¹⁰, Ramazanova K.F.¹¹, Bolshakova A.V.¹², Perepelova Y.A.¹³³ORCID : 0000-0001-8948-0052;^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13} National Research Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

* Corresponding author (doctordmk[at]mail.ru)

Abstract

Atomic forms of oxygen mediate post-ischaemic reperfusion injury in kidneys. The aim of the study was to evaluate the nephroprotective effect of allopurinol in post-ischaemic renal reperfusion injury in rats in an experiment. Creatinine values in group 2 and 3 reached maximum values by day 3, from the moment of surgery, and 24 hours after the beginning of the experiment in group 3 urea index was 24.9% statistically significantly lower in comparison with group 2, $p < 0.05$. Allopurinol application statistically significantly reduced functional and histological abnormalities observed on the 1st, 3rd and 7th day. The use of allopurinol in ischaemia-reperfusion may have tremendous practical output, but further research is required.

Keywords: ischaemia, reperfusion, kidney, allopurinol.**Введение**

Ишемическая почечная дисфункция наблюдается при многих клинических ситуациях, включая шок, трансплантацию почки и сердечно-сосудистую хирургию. Патологическим механизмом выступает почечная гипоперфузия. Атомарные формы кислорода (АФК) выступают медиаторами постишемического реперфузионного повреждения в почках и других органах [1]. Применение аллопуринола с целью блокады активности ксантиноксидазы и ингибирования активности АФК является крайне перспективным [2], [3]. Цель исследования – оценка нефропротективного эффекта аллопуринола при постишемическом реперфузионном повреждении почек у крыс в эксперименте.

Методы и принципы исследования

Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных [4]. Эксперимент проводился на 30 животных (нелинейные белые крысы обоего пола массой 290-325 г.). Все животные находились в стандартных условиях вивария. Всем животным был предоставлен свободный доступ к стандартному лабораторному корму и воде. Животным выполнен (наркоз), включающее интраперитонеальное введение (и/п) препаратов: «Ксилазин» (0,5 мл/кг массы тела) и «Золетил 100» (8 мг/кг массы тела) [5]. Животные были разделены на 3 группы: 1-ая группа (контроль 1) (n=10) ложнооперированные животные, выполнялась срединная лапаротомия. Предварительно вводился гепарин натрия (200 ЕД/кг) в хвостовую вену, брюшная полость накрывалась стерильной салфеткой и ч/з 1 час ушивалась. 2-ая – контроль 2 (n = 10): Выполнялась срединная лапаротомия. Предварительно вводился гепарин натрия (200 ЕД/кг) в хвостовую вену. Ножку левой почки зажимали на 1 ч сосудистым зажимом. В этот период брюшная полость закрывалась стерильной салфеткой. За 5 мин до снятия зажима выполнялась правосторонняя нефрэктомия, после чего происходило ушивание брюшной полости

[6]. 3-ья – операция+аллопуринол (n = 10): Животным в данной группе был добавлен в пищевой рацион аллопуринол 50 мг (ОРГАНИКА, АО (Россия)) в сутки из расчета на одно животное (аллопуринол был добавлен в пищу за 24 часа до начала эксперимента, предварительно таблетки измельчались до порошка), животные из этой группы содержались в отдельных клетках. Выполнялась срединная лапаротомия. Предварительно вводился гепарин натрия (200 ЕД/кг) в хвостовую вену. Ножку левой почки зажимали на 1 ч сосудистым зажимом. В этот период брюшная полость закрывалась стерильной салфеткой. За 5 мин до снятия зажима выполнялась правосторонняя нефрэктомия, после чего происходило ушивание брюшной полости [6]. Для оценки уровня мочевины и креатинина, образцы крови были взяты из хвостовой вены по стандартной методике, с использованием стандартных диагностических наборов (анализатор BS-240), в сроки: через 24 часа после операции, на 3й день после операции, и на 7-й день после операции. После вывода животных из эксперимента путем эвтаназии, проводилось гистопатологическое исследование почек (предварительно ткани фиксировали в 10% формальдегиде, обезвоживали в спиртовой серии, обрабатывали толуолом, готовили парафиновые срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике), делали микрофотографии, отцифровывали их и оценивали изменения. Для статистической обработки был применен t-критерия Стьюдента и критерий Манна-Уитни. Результаты представлены следующим образом, $M \pm m$ (M – среднее, m – ошибка среднего). Данные принимались за статистически значимые при $p < 0,05$ [5].

Результаты и их обсуждение

Значения креатинина в группе 2 и 3 достигли максимальных значений к 3-му дню, с момента операции (таб. 1), так спустя 24 часа с момента начала эксперимента в группе 3 показатель мочевины был на 24,9% статистически значимо ниже в сравнении с группой 2, $p < 0,05$.

Таблица 1 - Показатели мочевины и креатинина в исследуемых группах

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.144.60.1>

| Показатель плазмы крови | Группа 1. Контроль 1. Ложнооперированные животные (n = 10), (M±m) | Группа 2. Контроль 2. Операция без лечения (n = 10), (M±m) | Группа 3. Операция+аллопуринол (n = 10), (M±m) |
|-------------------------|---|--|--|
| Мочевина, (ммоль/л) | Через 24 часа от начала эксперимента | | |
| | 1,534±0,178 | 5,983± 0,228* | 4,493± 0,662# |
| | 3й день после операции | | |
| | 1,544±0,478 | 9,273± 0,138* | 6,703± 0,587*# |
| | 7-й день после операции | | |
| | 1,534±0,181 | 8,653± 1,168 | 5,284± 0,943# |
| Креатинин, (мкмоль/л) | Через 24 часа от начала эксперимента | | |
| | 39,78 ± 7,53 | 49,5 ± 4,51* | 45,08 ± 2,33*# |
| | 3й день после операции | | |
| | 39,88 ± 7,14 | 89,7 ± 4,68* | 61,13 ± 3,53*# |
| | 7-й день после операции | | |
| | 39,79 ± 7,11 | 71,5 ± 6,55* | 55,08 ± 4,33*# |

Примечание: * - статистическая значимость отличия по отношению к группе 1, $p < 0,05$; # - статистическая значимость отличия по отношению к группе 2, $p < 0,05$

В контрольной группе значения стабильно увеличивались до 3-го дня, а затем снижались. Показатель креатинина в группе 3 был статистически значимо ниже по сравнению с контрольной группой во все дни, ($p < 0,05$). Так, наивысший уровень креатинина в группе 3 был зафиксирован на 3-и сутки от начала эксперимента - $61,13 \pm 3,53$ мкмоль/л, что статистически значимо ниже в сравнении с группой контроль 2, на 31,8%, $p < 0,05$ (таб.1.). При гистологической оценке препаратов максимальное повреждение с выраженным некрозом в дистальной трети проксимального извитого канальца и участком некроза, распространяющегося вдоль мозгового слоя было отмечено у животных в группе №2, в группе №3 также отмечались подобные изменения, но они носили менее выраженный характер, отмечались участки лимфогистиоцитарной инфильтрации стромы, увеличение мезангиального матрикса и дистрофия эпителия канальцев. В отличие от других органов ишемически-реперфузионное повреждение почек уникально в том, что в момент ишемии происходит, и морфологическое, и функциональное повреждение почки [7], [8]. В данном исследовании, мы постарались показать, что применение аллопуринола оказывает нефропротективный эффект при ишемически-реперфузионном повреждении почек у крыс в эксперименте. В нашем исследовании мы увидели положительный эффект, начиная с ранней фазы реперфузии (24 часа). Эффекты аллопуринола до конца не изучены, и предполагаемые механизмы включают ингибирование образования АФК системой ксантиноксидазы [9], [10], и прямое удаление свободных радикалов.

Заключение

Применение аллопуринола оказывает нефропротективный эффект при ишемически-реперфузионном повреждении почек у крыс в эксперименте. Мы предполагаем, что нефропротективное действие аллопуринола при ишемии-реперфузии осуществляется все-таки не через механизм ингибирования ксантиноксидазы, а через стабилизацию митохондриальных мембран, но проверка данной гипотезы требует дальнейших исследований. Во время ранней реперфузии наблюдается снижение общего почечного кровотока, а также притока крови к корковому и мозговому слою, происходит ингибирование канальцевой реабсорбции натрия, хлоридов и воды, тем самым снижается канальцевое потребление кислорода и уменьшается агрегация тромбоцитов, возникающая после повреждения тканей. Применение аллопуринола статистически значимо уменьшало функциональные и гистологические нарушения, наблюдаемые на 1-ые, 3-и и 7-е сутки. Применение аллопуринола при шоке, трансплантации почки и сердечно-сосудистой хирургии, может иметь колоссальный практический выход, но требуется дальнейшее проведение исследований, оценки баланса оксидантно-антиоксидантного статуса, модуляции обмена веществ, кроме того, необходимо оценить, каким образом мембранные белки, регулирующие ксантиноксидазу оказывают воздействие при ишемии-реперфузии почек.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Uwai Y. Effect of renal ischemia on urinary excretion of lithium in rats / Y.Uwai, T.Suzuki, R. Kondo [et al.] // *Biopharm Drug Dispos.* — 2018. — 39(9). — P. 448-451.
2. Annink K.V. Allopurinol: Old Drug, New Indication in Neonates? / K.V. Annink, A.R. Franz, J.B. Derks [et al.] // *Curr Pharm Des.* — 2017. — 23(38). — p. 5935-5942.
3. Quadri S. Prorenin receptor mediates inflammation in renal ischemia / S.Quadri, S.Culver, H.M. Siragy // *Clin Exp Pharmacol Physiol.* — 2018. — 45(2). — p. 133-139.
4. Appendix A to the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123): Guidelines for accommodation and care of animals (Article 5 of the Convention) // Council of Europe. — 2006. — URL: <https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list?module=treaty-detail&treatynum=123>. (accessed: 27.01.24)
5. Inchina V.I. Study of the characteristics of the severity of neurological deficit in rats with cerebral pathology of traumatic origin and concomitant hypoxia in the acute period / V.I. Inchina, D.M. Korobkov, A.O. Petrunin // *Modern problems of science and education.* — 2020. — 3. — p. 1-9. — URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29794> (accessed: 19.04.2024)
6. Kajbafzadeh A.M. Establishment of colonic dialysis model in uremic rats by right nephrectomy and left partial nephrectomy / A.M. Kajbafzadeh, N. Sabetkish, S.Sabetkish // *J Pediatr Urol.* — 2018. — 14(2). — p.159.
7. Stamp L.K. Allopurinol and kidney function: An update / L.K. Stamp, P.T. Chapman, S.C. Palmer // *Joint Bone Spine.* — 2016. — 83(1). — p. 19-24.
8. Nadolnik L.I. Indicators of the antioxidant system and lipid peroxidation in the kidneys of rats when modeling ischemia and ischemia/reperfusion / L.I. Nadolnik, I.N. Katkovskaya, O.V. Titko [et al.] // *Oxygen and free radicals: Collection materials of the scientific and practical conference with international participation. Grodno. May 26–27, 2022* // Edited by V.V. Zinchuk. — Grodno: Grodno State Medical University. — 2022. — P. 121-124.
9. Alfke K. Renal ischemia / K. Alfke, O. Jansen // *Radiologe.* — 2014. — 18. — p. 100-121.
10. Feig D.I. Allopurinol and Chronic Kidney Disease. Reply / D.I. Feig // *N Engl J Med.* — 2020. — 383(17). — p.1692.