

Научная статья

УДК 614.876:616-092.9

<http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-6-68-76>

Терапевтическая эффективность S-аденозилметионина при хронической интоксикации ураном у крыс

К. В. Сивак, К. И. Стосман✉, Т. Н. Саватеева-Любимова, Е. Ю. Калинина, Т. А. Рассоха

НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева, Санкт-Петербург, Россия

✉ labtox6@rambler.ru

Аннотация

Введение. Хроническое воздействие соединениями урана вызывает неблагоприятные цитотоксические и иммунопатологические последствия в организме. **Цель работы** – оценить терапевтическую эффективность S-аденозилметионина при внутрижелудочном введении в отношении гепато-, нефро- и иммунотоксических эффектов при хронической интоксикации уранилом ацетатом дигидратом (УАД). **Материалы и методы.** Хроническое отравление моделировали введением 85 крысам–самцам раствора УАД (5,0 мг/кг/сут. по элементу) в течение одного месяца. S-аденозилметионин вводили животным в дозе 72,7 мг/кг в течение 21 дня. **Результаты.** При хроническом отравлении УАД наблюдали 65 % летальность, уменьшение массовых коэффициентов (МК) печени и увеличение МК почек. Регистрировали снижение активности щелочной фосфатазы, уровня глюкозы, молочной кислоты, количества CD4+ Т-лимфоцитов, повышение активности лактатдегидрогеназы и уровня креатинина, количества CD8+ Т-лимфоцитов и апоптотической гибели клеток, формирование катаболического пула веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ) плазмы крови. Результаты анализа мочи выявили развитие гипостенурии, признаки глюкозурии, гемато- и протеинурии и лейкоцитурии, появление в моче билирубина. S-аденозилметионин способствовал уменьшению степени повреждения органов-мишеней (снижению фибропластических и дистрофических изменений в печени и почках), нормализации показателей иммунной системы (увеличению CD4+ Т-клеток, снижению CD8+ Т-клеток и частоты апоптотической гибели лимфоцитов у иммунокомпроментированных животных) и эндотоксикоза (снижению уровня ВНиСММ из области катаболического пула). **Обсуждение.** По совокупности всех выявленных патологических изменений отравление УАД привело к развитию тубулоинтерстициального нефрита, метаболическим нарушениям детоксикационной функций печени. Причинами гибели животных в течение первой недели эксперимента являлись острое повреждение почек или сливная пневмония. Появление в моче билирубина было связано с нарушением обмена порфиринов. В отдаленном периоде интоксикации развивался дисбаланс Т-клеточного звена иммунной системы, а также, вероятно, снижение неспецифической резистентности, что приводило к развитию пневмонии у крыс. **Заключение.** Проведенная терапия S-аденозилметионином гепато-, нефро- и иммунотоксических эффектов при хронической интоксикации УАД способствовала уменьшению степени повреждения органов-мишеней, нормализации показателей иммунной системы и эндогенной интоксикации.

Ключевые слова: уранил ацетат дигидрат, гепатотоксичность, нефротоксичность, иммунотоксичность, S-аденозилметионин, крысы

Для цитирования: Сивак К.В., Стосман К.И., Саватеева-Любимова Т.Н. с соавт. Терапевтическая эффективность S-аденозилметионина при хронической интоксикации ураном у крыс. *Уральский медицинский журнал*. 2023;22(6):68–76. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-6-68-76>

© Сивак К.В., Стосман К.И., Саватеева-Любимова Т.Н., Калинина Е.Ю., Рассоха Т.А., 2023

© Sivak K.V., Stosman K.I., Savateeva-Lyubimova T.N., Kalinina E.Y., Rassokha T.A., 2023

Therapeutic efficacy of S-adenosylmethionine in chronic uranium intoxication in rats

K. V. Sivak, K. I. Stosman✉, T. N. Savateeva-Lyubimova, E. Y. Kalinina, T. A. Rassokha

Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russia

✉ labtox6@rambler.ru

Abstract

Introduction Chronic exposure to uranium compounds causes adverse cytotoxic and immunopathological effects in the body. **The aim of the work** was to evaluate the therapeutic efficacy of S-adenosylmethionine when administered intragastrically with respect to hepato-, nephro- and immunotoxic effects in chronic intoxication with uranyl acetate dihydrate (UAD). **Materials and methods** Chronic intoxication was modeled by injecting 85 male rats with UAD solution (5.0 mg/kg/day by element) for one month. S-adenosylmethionine was administered to animals at a dose of 72.7 mg/kg for 21 days. **Results** In chronic poisoning with UAD, 65% lethality, decrease of liver mass ratios (MR) and increase of renal MR were observed. Decrease in alkaline phosphatase activity, glucose level, lactic acid, number of CD4+ T-lymphocytes, increase in lactate dehydrogenase activity and creatinine level, number of CD8+ T-lymphocytes and apoptotic cell death, formation of catabolic pool of low and medium molecular weight substances (LMSMS) of blood plasma were registered. The results of urine analysis revealed the development of hyposthenuria, signs of glucosuria, hematuria, proteinuria and leukocyturia, appearance of bilirubin in the urine. S-adenosylmethionine contributed to the decrease in the degree of target organ damage (reduction of fibroplastic and dystrophic changes in the liver and kidneys), normalization of immune system parameters (increase in CD4+ T-cells, decrease in CD8+ T-cells and frequency of apoptotic death of lymphocytes in immunocompromised animals) and endotoxemia (decrease in the level of LMSMS from the catabolic pool area). **Discussion** According to the totality of all revealed pathological changes, UAD poisoning led to the development of tubulointerstitial nephritis, metabolic disorders of detoxification functions of the liver. The causes of animal death during the first week of the experiment were acute kidney damage or confluent pneumonia. The appearance of bilirubin in the urine was associated with porphyrin metabolism disorders. In the remote period of intoxication an imbalance of the T-cell link of the immune system developed, as well as, probably, a decrease in nonspecific resistance, which led to the development of pneumonia in rats. **Conclusion** S-adenosylmethionine therapy of hepato-, nephro- and immunotoxic effects in chronic UAD intoxication contributed to a decrease in the degree of damage to target organs, normalization of immune system parameters and endogenous intoxication.

Keywords: uranium compounds, hepatotoxicity, nephrotoxicity, immunotoxicity, S-adenosylmethionine, rats

For citation: Sivak KV, Stosman KI, Savateeva-Lyubimova TN et al. Therapeutic efficacy of S-adenosylmethionine in chronic uranium intoxication in rats. *Ural Medical Journal*. 2023;22(6):68-76. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-6-68-76>

ВВЕДЕНИЕ

Соединения урана активно используются во многих сферах промышленности, но представляют значительную опасность для здоровья человека в случае попадания в организм, будучи одновременно токсическим тяжелым металлом и радиоактивным веществом. Инкорпорация соединений урана приводит к функциональному нарушению деятельности многих органов и систем – почек, печени, эндокринных желез, костного мозга, центральной нервной, иммунной систем и др. [1–3]. К предполагаемым наиболее важным механизмам, приводящим к запуску патологических процессов в организме, можно отнести индукцию апоптоза, а также воспаление [1]. Уран, как и другие тяжелые металлы, рассматривают как токсин, вызывающий дисфункцию митохондрий в различных органах-мишенях, способный индуцировать запуск

программированной клеточной гибели по митохондриальному и рецепторному путям [4–9].

Известна гепатотоксичность соединений урана [10–15]. Митохондриальная дисфункция и разобщение окислительного фосфорилирования, вызванные этим химическим соединением, могут приводить к гибели клеток печени и последующим клиническим осложнениям [3]. Уран также хорошо известен как нефротоксикант, причем основной мишенью являются проксимальные канальцы, повреждение которых может повлечь за собой их некроз [16, 17]. Нарушение цепи переноса электронов при воздействии этого соединения ведет к образованию активных форм кислорода, перекисному окислению липидов, окислению глутатиона и последующему повреждению митохондрий в проксимальных канальцах [8]. Образуются комплексы с фосфатными лигандами и белками в стенках ка-

нальцев, уран приводит к энзимурии и повышенному выведению низкомолекулярных белков, аминокислот и глюкозы [1].

Иммунная система также чувствительна к хроническому воздействию этого радионуклида, которое может способствовать возникновению аутоиммунных, инфекционных, онкологических заболеваний [18]. Снижение относительного количества CD4+ Т-клеток селезенки и перитонеальных макрофагов, запуск апоптоза макрофагов наблюдается у экспериментальных животных после введения им этого химического соединения [19, 20]. Более того, даже нецитотоксическая доза обедненного урана может повредить иммунные функции путем модуляции экспрессии генов, включающих активность интерлейкинов, нейротрофических факторов, хемокинов и хемокиновых рецепторов, сигнальную трансдукцию [3]. Все эти изменения являются патогенными для организма, подавляя механизмы защиты или вызывая гиперчувствительность [1].

Для снижения токсических повреждений со стороны органов и систем необходимо принятие эффективных терапевтических мер. Хелатирующие агенты широко используются при лечении острой и хронической интоксикации тяжелыми металлами для снижения риска их токсичности и удаления. В качестве средства лекарственной терапии патологий печени, развивающейся, в том числе, в результате воздействия этого класса химических веществ, применяют гепатопротекторы. S-аденозилметионин играет важную роль в различных типах биохимических реакций (транسمетилировании, транссульфатировании и аминопропилировании, в синтезе фосфолипидов, глутатиона, таурина и других биологически активных соединений). Он также участвует в метаболизме ксенобиотиков, в синтезе фосфолипидов клеточных мембран, нейротрансмиттеров, нуклеиновых кислот, белков, гормонов и др., усиливает элиминацию свободных радикалов, стимулирует процессы регенерации, улучшает белково-синтетическую функцию печени, уменьшает выраженность нарушений липидного обмена, способствует нормализации биохимических показателей сыворотки крови [17]. Ранее его не применяли в терапии отравлений соединениями урана. Перечисленные выше свойства служат обоснованием для изучения эффективности S-аденозилметионина при поражении иммунной, мочевыделительной и гепатобилиарной систем токсического генеза.

Цель работы – оценить терапевтическую эффективность S-аденозилметионина при внутрижелудочном введении в отношении гепато-, нефро- и иммунотоксических эффектов при хронической интоксикации уранилом ацетатом дигидратом (УАД).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве лекарственного средства при тера-

пии гепато-, нефро- и иммунотоксических эффектов УАД был выбран S-аденозилметионин (Now Foods, США), обладающий детоксикационными, регенерирующими, антиоксидантными, антифиброзирующими и нейропротекторными свойствами.

Экспериментальное исследование было проведено в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях. Протокол был одобрен биоэтической комиссией ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России. В работе использовано 85 лабораторных белых крыс-самцов, полученных из НИЦ «Курчатовский институт» – «ПЛЖ» Рапполово (Ленинградская область).

Животные были рандомизированы и разделены на 3 группы: №1 – интактные крысы (n = 20), №2 – контрольная группа крыс, которым после воздействия УАД вводили физиологический раствор (плацебо) в объеме 0,1 мл/100 г массы тела (n = 40), №3 – группа крыс, которые после воздействия УАД получали терапию S-аденозилметионином в дозе 72,7 мг/кг (по адеметионину) (n = 25).

Для создания хронического отравления соединениями урана (природный изотоп U^{238}) использовали раствор УАД ($UO_2(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$), который вводили крысам внутривенно в дозе, равной $2,5 \times LD_{50}$ (5,0 мг/кг/сутки по элементу) в течение 1 месяца [21]. Длительность терапии составила 21 день. Лечение начинали после окончания моделирования.

В течение эксперимента регистрировали летальность и массу тела животных. Для оценки нефротоксического действия проводили общий клинико-биохимический анализ мочи. Глюкозу, pH, удельный вес, белок, кровь, лейкоциты, кетоны, уробилиноген, билирубин и нитриты оценивали помощью тест-полосок на анализаторе Aution Eleven 4020 (Arkray, Япония). Биохимические показатели крови (глюкоза, лактат, ЛДГ, активность трансаминаз, ЩФ, мочевины, креатинин) определяли с помощью готовых наборов для клинической биохимии на автоматическом биохимическом анализаторе KeyLab Automatic Analyzer (BPC+BioSed, Италия); электролиты (калий, натрий, магний и кальций) – на анализаторе E-Lyte (США). Эндогенную интоксикацию оценивали в плазме крови и в эритроцитах, определяя молекулы средней массы (МСМ) при длине волны 280 нм, пул веществ средней и низкой молекулярной массы (ВНиСММ) при длине волны 230–320 нм, расчетные коэффициенты распределения, кажущейся элиминации после осаждения белков трихлоруксусной кислотой [22, 23]. Измерения проводили на многоканальном спектрофотометре Synergy2 (BioTek Instr. Inc., США).

Для количественной оценки CD4+Т-хелперов и CD8+ цитотоксических Т-клеток использовали меченые мышинные моноклональные антитела

против CD45, CD3, CD4 и CD8 антигенов крыс (PE labeled anti-rat CD45, FITC labeled anti-rat CD3, APC labeled anti-rat CD4, PerCP labeled anti-rat CD8a, BD Pharmingen). Оценку уровня апоптотических клеток проводили с помощью стандартной процедуры окрашивания с использованием меченого флюоресцеинизотиоцианатом (FITC) аннексина V и пропидиум йодида (PI). Цитометрию проводили на проточном цитофлуориметре BD FACSCalibur™ (Becton Dickinson, США) с использованием универсальной программы CellQuestPro. В каждой пробе просчитывали не менее 10 000 клеток.

Определение концентрации циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови проводили методом преципитации в растворе полиэтиленгликоля (ПЭГ). Молекулярный состав ЦИК с выделением фракций крупно- (>19S), средне- (11S–19S) и мелкомолекулярных (<11S) иммунных комплексов определяли путем дифференцированной преципитации в 2,0 %, 3,5 % и 6 % растворах ПЭГ 6000 [24]. Учет результатов проводили при длине волны 450 нм на спектрофотометре Synergy2 (BioTek Instr. Inc., США).

Патоморфологическое исследование включало в себя: вскрытие, макроскопический осмотр, взвешивание и гистологическое исследование печени и почек крыс. Органы фиксировали в 10 % забуференном растворе формалина и подвергали стандартной проводке с последующим заключением в парафин. Из парафиновых блоков делали срезы и стандартно окрашивали их гематоксилином и эозином. Препараты исследовали в световом микроскопе Leica DM1000 (Германия).

Обработку результатов проводили с использованием пакета статистических программ GraphPad Prism 7.0 (StatSoft Inc., США). Данные в таблицах представлены в виде среднего арифметического

значения (M) и его ошибки ($\pm$ SE). Для выявления различий между группами использовали непараметрические критерии Манна – Уитни (для попарного сравнения), Краскела – Уоллиса, Данна (для межгрупповых различий) и Фишера (для сравнения качественных признаков). Различия между группами считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клиническая картина хронического отравления характеризовалась скрытыми симптомами, не выявляемыми при визуальном осмотре, и внезапной гибелью крыс при явлениях сливной пневмонии, абсцессах в области нижней челюсти, нарушениях работы желудочно-кишечного тракта (стеаторея) и острой почечной недостаточности. Со стороны поведения животных и состояния кожных покровов, шерсти и видимых слизистых патологии не отмечали. Температура и масса тела не изменялись. Наблюдали незначительное снижение потребления корма у крыс с хронической интоксикацией. Летальность животных контрольной группы (плацебо) составила на первой неделе после начала терапии 27,5 %, далее – 17,2 %, 20,8 %, 26,3 % на 2-ой, 3-ей и 4-ой неделях соответственно. По данным некропсии на первой неделе у 55 % животных (у 6 из 11 особей) были выявлены признаки некроза почек, у 45 % (у 5 из 11 особей) – некроза почек и пневмонии; на 2–4 неделях у крыс регистрировали отек легких и поражение их долей.

Терапия способствовала значимому снижению летальности только в течение первых двух недель (гибели не отмечалось), на 3-ей и 4-ой неделях этот показатель статистически значимо не отличался от контрольной (№ 2) группы животных (табл. 1). Однако в совокупности число погибших крыс, получавших лечение, было существенно ниже, чем в контрольной группе негативного контроля (36 % против 65 %).

Таблица 1

Влияние терапии на летальность крыс при хроническом отравлении УАД

Время регистрации гибели	Количество погибших животных, n/total/%									p (кр. Фишера)
	№ 1			№ 2			№ 3			
	всего	абс.	%	всего	абс.	%	всего	абс.	%	
1 неделя	20	0	0	40	11	27,5	25	0	0	1:2 =0,010; p<0,05 2:3= 0,004; p<0,05
2 неделя	20	0	0	29	5	17,2	25	0	0	1:2 = 0,070; p≥0,05 2:3= 0,054; p≥0,05
3 неделя	20	0	0	24	5	20,8	25	1	4	1:2 = 0,059; p≥0,05 2:3= 0,050; p≥0,05
4 неделя	20	0	0	19	5	26,3	24	8	33,3	1:2 = 0,020; p<0,05 2:3= 0,743; p≥0,05
Всего	20	0	0	40	26	65,0	25	9	36,0	1:2 < 0,0001 2:3= 0,039; p<0,05

Функциональное состояние гепатобилиарной системы крыс из группы №2 характеризовалось нормальной активностью печеночных трансаминаз, но значимым снижением активности ЩФ, уровня

глюкозы, молочной кислоты, а также повышением активности ЛДГ и уровня креатинина (табл. 2). Терапия S-аденозилметионином снижала гепатотоксический эффект хронической интоксикации УАД.

Таблица 2

Биохимические показатели крови крыс при хроническом отравлении УАД

Показатели	Экспериментальные группы, M(SE)		
	№1, n = 20	№2, n = 15	№3, n = 16
АлАТ, МЕ/л	42,48±1,25	36,78±2,61	35,29±1,78
АсАТ, МЕ/л	68,65±8,59	70,85±2,76	76,95±4,01
ЩФ, Ед/л	264,99±23,60	166,89±18,07*	211,41±13,26#
ЛДГ, МЕ/л	1313,52±100,58	1658,28±71,09*	1288,79±152,10#
Глюкоза, ммоль/л	7,84±0,16	6,17±0,26*	6,92±0,29*
Лактат, ммоль/л	3,59±0,30	2,56±0,18*	2,93±0,35*
Мочевина, ммоль/л	6,70±0,26	6,01±0,34	6,78±0,55
Креатинин, мкмоль/л	52,47±2,54	77,04±4,70*	42,09±3,32#
Кальций, ммоль/л	2,70±0,11	2,51±0,04	2,89±0,08
Магний, ммоль/л	0,93±0,02	1,00±0,07	0,93±0,03

Примечание: * – отличия значимы по сравнению с группой №1, $p < 0,05$; # – отличия значимы по сравнению с группой №2, $p < 0,05$.

У контрольной группы животных наблюдалась гипостенурия на фоне статистически незначительно измененного диуреза, отмечались признаки глюкозурии, гемато- и протеинурии и лейкоцитурii (табл. 3). Терапия достоверно корректировала признаки повреждения почек, в наибольшей мере

гипостенурию, протеинурию и лейкоцитурii, снижала уровень экскретируемого билирубина. Нормализация скорости клубочковой фильтрации (СКФ) способствовала достоверному снижению уровня креатинина в крови крыс. S-аденозилметионин не повлиял на степень гематурии.

Таблица 3

Функциональное состояние почек крыс при хроническом отравлении УАД

Показатели	Экспериментальные группы, M(SE)		
	№1, n = 20	№2, n = 15	№3, n = 16
Диурез, мл/сут	11,25±1,24	15,47±1,87	17,00±2,50
pH	6,65±0,09	6,87±0,06	6,78±0,09
Удельный вес, г/мл	1,033±0,003	1,022±0,002*	1,029±0,003
Глюкоза, мг/дл	3,75±2,73	16,67±7,96*	9,37±5,04
Билирубин, мг/дл	0,00±0,00	0,87±0,24*	0,22±0,13*#
Белок, мг/дл	57,75±15,37	106,67±37,42*	38,44±7,94#
Эритроциты, кл/мкл	16,17±3,63	55,11±15,18*	56,10±8,58*
Лейкоциты, кл/мкл	38,75±12,63	183,33±49,26*	40,62±8,19#

Примечание: * – отличия значимы по сравнению с группой №1, $p < 0,05$; # – отличия значимы по сравнению с группой №2, $p < 0,05$.

При оценке показателей эндогенной интоксикации крыс из группы №2 было выявлено достоверное увеличение только уровня вещества низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ) из области катаболического пула в

плазме крови, представленных продуктами деградации белков (табл. 4). S-аденозилметионин способствовал нормализации этого показателя эндотоксикоза, повышенного в результате воздействия УАД.

Таблица 4

Показатели эндогенной интоксикации УАД

Показатели	Экспериментальные группы, M(SE)		
	№1, n = 20	№2, n = 15	№3, n = 16
МСМ, у.е.			
плазма	0,059±0,018	0,069±0,016	0,057±0,026
эритроциты	0,158±0,019	0,166±0,012	0,126±0,026
ВНиСММ, у.е. (интеграл)			
плазма	0,913±0,376	1,549±0,426	1,396±0,647
эритроциты	4,807±0,604	4,921±0,432	3,698±0,718
Катаболический пул			

Показатели	Экспериментальные группы, M(SE)		
	№1, n = 20	№2, n = 15	№3, n = 16
плазма	0,045±0,031	0,298±0,098*	0,105±0,065
эритроциты	0,573±0,102	0,520±0,079	0,487±0,131
Коэффициент распределения плазма-эритроциты	0,158±0,053	0,337±0,096	2,677±2,356
Расчетный коэффициент элиминации	1,266±0,318	0,881±0,107	1,316±0,225

Примечание: * – отличия значимы по сравнению с группой №1, $p < 0,05$.

УАД также оказал негативное влияние и на систему иммунитета. У животных в крови отмечали уменьшение количества CD4+ Т-хелперов и увеличение CD8+ Т-лимфоцитов, статистически незначимое снижение иммуно-регуляторного индекса (ИРИ), наблюдали почти двухкратное повышение частоты апоптотической гибели лимфоцитов (табл.

5). Изменения концентрации и фракционного состава ЦИК не регистрировали. Лечение S-аденозилметионином позитивно повлияло на уровень CD8+ и CD4+ Т-клеток у иммунокомпроментированных животных. Лишь у 25 % крыс было выявлено незначительное нарушение соотношения CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов (снижен ИРИ).

Таблица 5

Содержание Т-лимфоцитов и апоптоза в крови крыс при хроническом отравлении УАД

Группы	Показатели, M(SE)				
	CD4+, %	CD8+, %	ИРИ	Ранний апоптоз, %	Поздний апоптоз, %
№1, n = 8	61,9±2,1	35,0±2,0	1,8±0,2	7,1±0,6	1,3±0,2
№2, n = 8	50,6±3,1*	44,0±2,8*	1,2±0,2	12,4±0,8*	3,0±0,3*
№3, n = 8	56,3±4,7	40,4±4,3	1,6±0,2	8,7±0,6#	1,9±0,3#

Примечание: * – отличия значимы по сравнению с группой №1, $p < 0,05$; # – отличия значимы по сравнению с группой №2, $p < 0,05$.

У крыс из группы №2 отмечали небольшое, но статистически значимое, уменьшение МК печени и увеличение МК почек в сравнении с группой №1 (табл. 6). У животных, которым проводили терапию, эти показатели не отличались от аналогичных в группе №1, но значимо отличались от группы №2, что свидетельствовало о положительном терапевтическом влиянии S-аденозилметионина на показатели МК органов детоксикации.

Гистологическое исследование показало, что патологические изменения в органах-мишенях токсического действия УАД характеризовались развитием некробиотических, фибропластических и дистрофических процессов в почках (в большей степени) и печени крыс. Строение почки было сохране-

но, отмечены неравномерно выраженные дистрофические изменения эпителия прямых и извитых канальцев на различных этапах прогрессии преимущественно по типу белковой дистрофии (рис. 1).

Таблица 6

Массовые коэффициенты печени и почек крыс при хроническом отравлении УАД

Показатели	Экспериментальные группы, M(SE)		
	№1, n = 8	№2, n = 8	№3, n = 8
МК печени, мг/г	34,32±1,36	29,51±0,56*	33,61±1,17#
МК почек, мг/г	6,69±0,29	7,48±0,21*	7,22±0,28

Примечание: * – отличия значимы по сравнению с группой №1, $p < 0,05$; # – отличия значимы по сравнению с группой №2, $p < 0,05$.

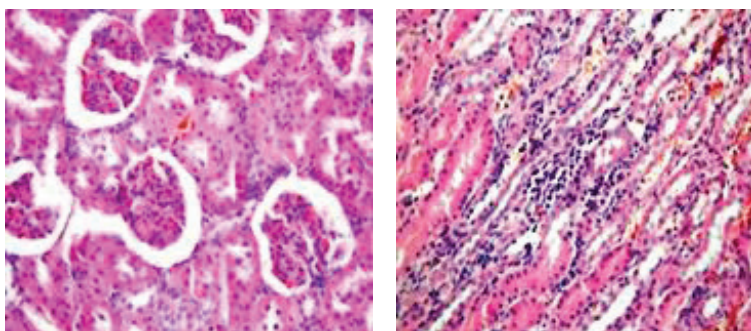


Рис. 1. Микрофотографии почки крысы из группы №2 (плацебо): слева – клубочки нефронов, справа – S-зона канальцев. Окраска гематоксилином и эозином, ув.×200

Клубочки были немного уменьшены в размере, петли капилляров местами коллабированы, мочевое пространство неравномерно расширено, подциты внутреннего и наружного листков капсулы Шумлянского – Боумэна реактивно изменены, от-

ростки их уменьшены в размере и разобщены. Отмечен очаговый начальный фиброз интерстиция почки преимущественно на границе коркового и мозгового слоев (S-зона) в сочетании с очаговой мононуклеарной клеточной инфильтрацией, пол-

нокровием сосудов микроциркуляторного русла, неравномерно выраженными дистрофическими изменениями основного и волокнистого компонентов. В печени выявлены дистрофические из-

менения гепатоцитов, неравномерное содержание гликогена и лимфоидная инфильтрация стромального компонента, расширение печеночных сосудов и стаз клеток крови (рис. 2).

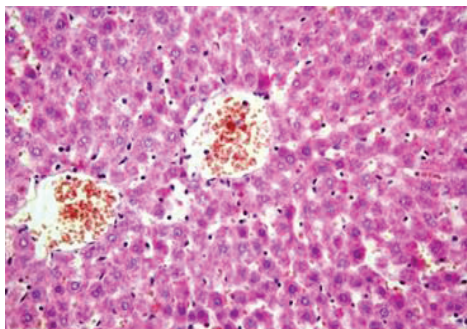


Рис. 2. Микрофотография печени крысы из группы №2 (плацебо). Окраска гематоксилином и эозином, ув.×200

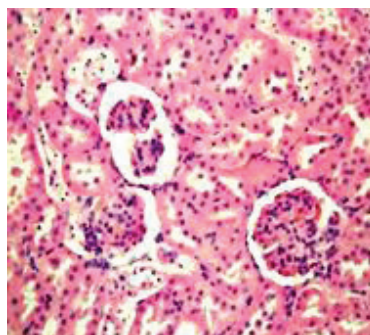


Рис. 3. Микрофотографии почки крысы из группы, получавшей S-аденозилметионин, слева – клубочки нефронов. Окраска гематоксилином и эозином, ув.×200; справа: S-зона канальцев, ув.×400

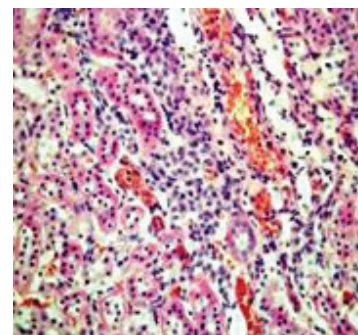


Рис. 4. Микрофотография печени крысы из группы, получавшей S-аденозилметионин. Окраска гематоксилином и эозином, ув.×400

У животных, получавших лечение S-аденозилметионином, в корковом слое отмечено уменьшение степени дистрофических изменений эпителия прямых и извитых канальцев, отека стромального компонента, а также степени фибропластических изменений с заметным усилением регенерации нефротелиоцитов (рис. 3). Размеры клубочков были в пределах нормы, с восстановлением степени полнокровия капилляров и артериол. В S-зоне на границе коркового и мозгового слоев почки терапия не повлияла на степень мононуклеарной клеточной инфильтрации (рис. 3, справа).

Строение печени не изменено, патологической инфильтрации не наблюдали (рис. 4). Исключение составил сладж эритроцитов в печеночных синусоидах, обусловленный методом эвтаназии.

ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе совокупности наблюдаемых клинических признаков у экспериментальных животных, подвергшихся длительному воздействию УАД, показано, что у крыс вследствие повреждения почек, а также мальабсорбции, приводящей к снижению поступления из рациона в организм нутриентов, происходило угнетение неспецифической резистентности. В течение первой недели эксперимента животные гибли от развития острого повреждения почек, а также сливной пневмонии. В отдаленном периоде развивался дисбаланс Т-клеточного звена, не корригируемый S-аденозилметионином.

У животных наблюдали развитие гипостенурии на фоне статистически несущественно измененного диуреза (тенденция к полиурии), что свидетельствует о нарушении концентрационной функции почечных канальцев. Отмечали также признаки глюкозурии, гемато- и протеинурии и лейкоцитурии, что можно охарактеризовать как развитие вторичного

синдрома Де'Тони – Дебре – Фанкони. Данный синдром включает множественное нарушение функций почечных канальцев и, наряду с лейкоцитурией, является диагностическим компонентом токсического тубулоинтерстициального нефрита [25]. Таким образом, у крыс на фоне хронического отравления УАД развивалось острое повреждение почек токсического или смешанного радиационно-токсического генеза умеренной степени выраженности, поскольку при длительном поступлении соединений урана, наряду с механизмами его токсичности как тяжелого металла, нельзя исключать и радиационный компонент, связанный с альфа-излучением этого радионуклида. Выявленное увеличение в крови концентрации креатинина свидетельствовало о снижении скорости клубочковой фильтрации. В патогенезе хронических отравлений, наряду с нарушениями в системе детоксикации, наблюдали и накопление низкомолекулярных метаболитов. Синдром эндогенной интоксикации проявлялся повышением уровня веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ) в крови и снижением их выведения с мочой. Выявленные биохимические изменения в крови (АлАТ, АсАТ, ЩФ, ЛДГ) и появление в моче билирубина указывали на гепатотоксическое действие УАД.

Известно, что активация апоптоза в лимфоцитах после воздействия даже фоновых концентраций обедненного урана, встречаемых в окружающей среде, может приводить к серьезному повреждению иммунной системы [26]. В условиях нашего эксперимента со стороны иммунной системы наблюдали уменьшение относительного количества Т-хелперов и увеличение цитотоксических/ супрессорных Т-лимфоцитов, повышение частоты апоптотической гибели лимфоцитов. Похожие изменения наблюдали и у ветеранов военных кон-

фликтов, в которых были применены боеприпасы, содержащие обедненный уран [27].

У погибших животных при патоморфологическом исследовании регистрировали пневмонию (отек легких, поражение их долей), что являлось следствием иммунотоксического действия УАД. Патологические изменения в органах-мишенях токсического воздействия УАД характеризовались развитием некробиотических, фибропластических и дистрофических процессов в почках (в большей степени) и печени.

S-аденозилметионин снижал гепатотоксический эффект хронической интоксикации УАД: гипостенурию, протеинурию и лейкоцитурию, уровень экскретируемого билирубина за счет гепатопротекторного действия; уровень ВНИСММ – катаболического пула в плазме крови, представленных продуктами деградации белков. Прове-

денная терапия способствовала положительному патоморфозу в печени и почках, что проявилось в уменьшении степени дистрофических изменений эпителия прямых и извитых канальцев, отека стромального компонента, а также степени фибропластических изменений. Изменение субпопуляционного состава лимфоцитов и процента представленности апоптотических клеток было следствием благоприятного фармакодинамического действия S-аденозилметионина на иммунную систему крыс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальная терапия гепатопротектором S-аденозилметионином гепато-, нефро- и иммунотоксических эффектов при хронической интоксикации УАД способствовала более низкой степени повреждения органов-мишеней, иммунной системы и эндогенной интоксикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Этическая экспертиза

Исследование проведено в соответствии с этическими стандартами, изложенными в Хельсинской декларации. Протокол исследования был одобрен независимой биоэтической комиссией ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Сморodinцева» (протокол от 17.11.2020 №26).

Conflicts of interests

The authors declare no conflicts of interests.

Funding source

The authors state that there was no external funding in the conduct of the study.

Ethics approval

The study was conducted in accordance with the ethical standards outlined in the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the independent bioethical commission of the Smorodintsev Research Institute of Influenza (Protocol of 17.11.2020 No. 26).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

- Shakia F, Zamanib E, Arjmandc A, Pourahmad J. A Review on Toxicodynamics of Depleted Uranium. *Iran J Pharmaceutical Res.* 2019;18:(Suppl1):90–100. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.113045.14085>.
- Стосман К.И., Сивак К.В., Саватеева-Любимова Т.Н. Нарушения в функционировании иммунной системы как следствие пролонгированного низкодозового воздействия обедненным ураном. Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2018;3:73–79. <https://doi.org/10.25016/2541-7487-2018-0-3-73-79>.
- Stosman KI, Sivak KV, Savateeva-Ljubimova TN. Disturbances in the functioning of the immune system as a consequence of a prolonged exposure to low dosages of depleted uranium. *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations.* 2018;(3):73–79. (In Russ.). <https://doi.org/10.25016/2541-7487-2018-0-3-73-79>.
- Yue YC, Li MH, Wang HB, et al. The toxicological mechanisms and detoxification of depleted uranium exposure. *Environ Health Prev Med.* 2018;23:18. <https://doi.org/10.1186/s12199-018-0706-3>.
- Liu F, Du KJ, Fang Z et al. Chemical and biological insights into uranium-induced apoptosis of rat hepatic cell line. *Radiat Environ Biophys.* 2015;54(2):207–216. <https://doi.org/10.1007/s00411-015-0588-3>.
- Zhang XF, Ding CL, Liu H et al. Protective effects of ion-imprinted chitoooligosaccharides as uranium-specific chelating agents against the cytotoxicity of depleted uranium in human kidney cells. *Toxicology.* 2011;286(1–3):75–84. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.05.011>.
- Pourahmad J, Hosseini MJ. Application of isolated mitochondria in toxicological and clinical studies. *Iran J Pharm Res.* 2012;11(3):703–704.
- Shaki F, Hosseini MJ, Shahraki J, Ghazi-Khansari M, Pourahmad J. Toxicity of depleted uranium on isolated liver mitochondria: a revised mechanistic vision for justification of clinical complication of depleted uranium (DU) on liver. *Toxicol Environ Chem.* 2013;95:1221–1234. <https://doi.org/10.1080/02772248.2013.863419>.
- Pourahmad J, Ghashang M, Ettehadi HA, Ghalandari R. A search for cellular and molecular mechanisms involved in depleted uranium (DU) toxicity. *Environ Toxicol.* 2006;21(4):349–354. <https://doi.org/10.1002/tox.20196>.
- Shaki F, Pourahmad J. Mitochondrial toxicity of depleted uranium: Protection by beta-glucan. *Iran J Pharm Res.* 2012;12(1):131–140.
- Gueguen Y, Rouas C, Monin A, et al. Molecular, cellular, and tissue impact of depleted uranium on xenobiotic-metabolizing enzymes. *Archi Toxicol.* 2014;88(2):227–239. <https://doi.org/10.1007/s00204-013-1145-y>.
- Leggett RW, Pellmar TC. The biokinetics of uranium migrating from embedded DU fragments. *J Environ Radioact.* 2003;64(2–3):205–225. [https://doi.org/10.1016/s0265-931x\(02\)00050-4](https://doi.org/10.1016/s0265-931x(02)00050-4).
- Guéguen Y, Grandcolas L, Baudelin C et al. Effect of acetaminophen administration to rats chronically exposed to depleted uranium. *Toxicology.* 2007;229(1–2):62–72. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.10.006>.
- Yapar K, Cavuşoğlu K, Oruç E, Yalçın E. Protective role of ginkgo biloba against hepatotoxicity and nephrotoxicity in uranium-treated mice. *J Med Food.* 2010;13:179–188. <https://doi.org/10.1089/jmf.2009.0028>.

14. Pourahmad J, Shaki F, Tanbakosazan F et al. Protective effects of fungal β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucan against oxidative stress cytotoxicity induced by depleted uranium in isolated rat hepatocytes. *Hum Exp Toxicol*. 2011;30(3):173–181. <https://doi.org/10.1177/0960327110372643>.
15. Pourahmad J, Ghashang M, Ettehadi HA, Ghalandari R. A search for cellular and molecular mechanisms involved in depleted uranium (DU) toxicity. *Environ Toxicol* 2006;21(4):349–354. <https://doi.org/10.1002/tox.20196>.
16. Shaki F, Hosseini MJ, Ghazi-Khansari M, Pourahmad J. Toxicity of depleted uranium on isolated rat kidney mitochondria. *Biochim Biophys Acta Gen*. 2012;1820(12):1940–1950. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.08.015>.
17. Топчий Н.В., Топорков А.С., Кузенкова Н.Н. Применение адеметионина в терапии хронических заболеваний печени. Медицинский совет. 2016;9:124–129.
- Topchij N.V., Toporkov A.S., Kuzenkova N.N. The use of ademetionine in the treatment of chronic liver disease. *Medical Council*. 2016;9:124–129. (In Russ.)
18. Dublaineau I, Grandcolas L, Grison S et al. Modifications of inflammatory pathways in rat intestine following chronic ingestion of depleted uranium. *Toxicol Sci*. 2007;98(2):458–468. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm132>.
19. Kalinich JF, Ramakrishnan N, Villa V, McClain DE. Depleted uranium-uranyl chloride induces apoptosis in mouse J774 macrophages. *Toxicology*. 2002;179(1–2):105–114. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(02\)00318-9](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(02)00318-9).
20. Wan B, Fleming JT, Schultz TW, Saylor GS. In vitro immune toxicity of depleted uranium: effects on murine macrophages, CD4+ T cells, and gene expression profiles. *Environ Health Perspect*. 2006;114(1):85–91. <https://doi.org/10.1289/ehp.8085>.
21. Галибин Г.П., Новиков Ю.В. Токсикология промышленных соединений урана. Под ред. проф. Ю.И. Москалева. М.: Атомиздат; 1976. С. 74–90.
- Galibin G.P., Novikov Ju.V. Toxicology of industrial uranium compounds. Under the editorship of Prof. Y.I. Moskalyov. Moscow: Atomizdat; 1976. pp. 74–90. (In Russ.)
22. Малахова М.Я. Методы биохимической регистрации эндогенной интоксикации. Эфферентная терапия. 1995;1(1):61–63.
- Malahova MJa. Methods of biochemical registration of endogenous intoxication. *Efferent Therapy*. 1995;1(1):61–63. (In Russ.).
23. Медицинские лабораторные технологии. Том 2. Под ред. проф. А.И. Карпищенко. СПб.: Интермедика; 2002. С. 577–580.
- Medical laboratory technology. Volume 2. Edited by Prof. A.I. Karpishchenko. SPb.: Intermedica; 2002. pp. 577–580. (In Russ.).
24. Фролов В.М., Пересадин Н.А., Рычнев В.Е. Исследование циркулирующих иммунных комплексов их диагностическое и прогностическое значение. Лабораторное дело. 1986;3:159–161.
- Frolov VM, Peresadin NA, Rychnev VE. Study of circulating immune complexes their diagnostic and prognostic value. *Laboratory Work*. 1986;3:159–161. (In Russ.).
25. Чеботарева Н.В., Цыгин А.Н., Буланов Н.М. с соавт. Синдром Фанкони у взрослых и детей. Клиническая фармакология и терапия. 2022;31(1):69–74. <https://doi.org/10.32756/0869-5490-2022-1-69-74>.
- Chebotareva N, Tsygin A, Bulanov N et al. Fanconi syndrome in adults and children. *Clin Pharmacol Ther*. 2022;31(1):69–74. (In Russ.). <https://doi.org/10.32756/0869-5490-2022-1-69-74>.
26. Soltani M, Zarei MH, Salimi A, Pourahmad J. Mitochondrial protective and antioxidant agents protect toxicity induced by depleted uranium in isolated human lymphocytes. *J Environ Radioact*. 2019;203:112–116. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2019.03.009>.
27. Rafid A. Depleted uranium effects on immunophenotyping of human lymphocytes in Southern Iraq. *Iraqi J Comm Med*. 2009;4:249–253. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2019.03.009>.

Сведения об авторах

К.В. Сивак

доктор биологических наук, kvsivak@gmail.com,
<https://orcid.org/0000-0003-4064-5033>

К.И. Стосман

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, labtox6@rambler.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-7959-2376>

Т.Н. Саватеева-Любимова

доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, drugs_safety@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-4516-3308>

Елена Юрьевна Калинина

кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории безопасности лекарственных средств, drkalinina@yandex.ru,
<http://orcid.org/0000-0001-7077-3584>

Татьяна Анатольевна Рассоха

кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории безопасности лекарственных средств, tat.rassoха2012@yandex.ru,
<http://orcid.org/0000-0001-5356-3462>

Information on the authors

Konstantin V. Sivak

Doctor of Science (Biology), kvsivak@gmail.com,
<https://orcid.org/0000-0003-4064-5033>

Kira I. Stosman

PhD (Biology), Senior Researcher,
labtox6@rambler.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-7959-2376>

Tatiana N. Savateeva-Lyubimova

Doctor of Science (Medicine), Professor, Leading Researcher, drugs_safety@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-4516-3308>

Elena Yu. Kalinina

PhD (Medicine), Leading Researcher at the Drug Safety Laboratory, drkalinina@yandex.ru,
<http://orcid.org/0000-0001-7077-3584>

Tatiana A. Rassokha

PhD (Biology), Researcher at the Drug Safety Laboratory, tat.rassoха2012@yandex.ru,
<http://orcid.org/0000-0001-5356-3462>

Статья поступила в редакцию 19.09.2023;
одобрена после рецензирования 16.10.2023;
принята к публикации 06.11.2023.

The article was submitted 19.09.2023; approved
after reviewing 16.10.2023; accepted for publication
06.11.2023.