

МИШІ ЯК ОБ'ЄКТ ДОСЛІДЖЕНЬ ВИДІЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ НИРОК

*С.Ю.Штриголь, О.В.Товчига, Н.Г.Аракелян, Ю.Ю.Лабужева,
О.М.Панова, О.О.Койро, Н.С.Чорна, С.І.Степанова*

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: видільна функція нирок; миші; щури

Стаття присвячена обґрунтуванню доцільності використання мишей для досліджень видільної функції нирок. Встановлена можливість вивчення парціальних функцій нирок у даного виду лабораторних тварин. Здійснено порівняння показників видільної функції нирок в умовах водного та спонтанного діурезу в мишей та щурів. Показано, що вони в обох видів піддослідних тварин є досить близькими, але мишам притаманні менш інтенсивна реабсорбція води та відносно більш високі значення діурезу (як в умовах спонтанного, так і індукованого водним навантаженням сечовиділення). Доведено, що показники видільної функції нирок у мишей характеризуються стабільністю, відтворюваністю, чутливістю до експериментальних впливів, у т.ч. до дії діуретиків. Крім того, проведення дослідів на мишах є економічно менш затратним, технічно зручним та дозволяє одночасно ставити експеримент на значній кількості тварин. Таким чином, можна рекомендувати використання мишей в експериментальній нефрології.

Традиційно у фізіологічних, патофізіологічних, фармакологічних експериментах видільну функцію нирок досліджують переважно на щурах. Використання іншого широко розповсюдженого виду лабораторних тварин — мишей обмежується їх малими розмірами. Більше того, А.І.Гоженко підкреслює, що “исследовать у них гомеостатические функции почек невозможно, так как собрать достаточное количество мочи невозможно” [4].

Для усунення цього недоліку у класичній монографії Є.Б.Берхіна, Ю.І.Іванова [3] рекомендується збирати сечу сумарно від 4 мишей, створюючи декілька груп з 4 тварин з близькою загальною масою. За методом Огава мишу поміщають до циліндра, на дні якого знаходиться фільтрувальний папір відомої маси, а в приміщенні підтримують високу вологість повітря [3]. Кількість сечі визначають зважуванням паперу.

Але обидва методи є незручними і не дозволяють вивчити парціальні функції нирок.

Між тим миші є привабливим об'єктом експериментальної нефрології, оскільки вони дешевші за щурів, що важливо при масових експериментах, наприклад, скринінгу. До того ж витрати досліджуваних речовин (відповідно до значно меншої маси тіла) зменшуються на порядок. Останнім часом на мишах виконуються досліді з виявлення ренальних ефектів, у т. ч. нефропротекторної активності різних лікарських препаратів та субстанцій [1, 2, 7-12]. Втім у більшості випадків оцінюють лише виживаність/смертність, рівень окремих біохімічних та імунологічних маркерів у крові і морфологічних змін у нирках. Інформативність подібних експериментів, виконаних на мишах, може значно зрости при проведенні паралельного аналізу стану видільної функції нирок.

Враховуючи вищенаведене, ми поставили за мету даної роботи оцінку кількісних показників функціонального стану нирок у мишей порівняно зі щурами в умовах спонтанного діурезу та в тесті з водним навантаженням, що дозволить верифікувати придатність даного виду тварин для експериментів із вивчення видільної функції нирок у окремої особини з оцінкою процесів сечоутворення.

Матеріали та методи

Виконано дві серії дослідів на рандомбредних мишах (самців та самиць, n=88) масою 15-30 г. У першій серії досліджували спонтанний діурез та зовнішній баланс рідини, в другій — здатність нирок до виведення водного навантаження. Мишей вміщували до обладнаних напувалками обмінних кліток спеціальної конструкції об'ємом 500-1000 см³ із сітчастою підлогою. Після адаптації тварин до перебування у клітках та до примусового випорожнення сечового міхура визначали добовий діурез та споживання води. У другій серії дослідів мишам за допомогою зонду вводили до шлун-

Таблиця 1

Показники видільної функції нирок у щурів та мишей за умов спонтанного сечовиділення

Показник	Вид тварин	n	M±m	Межі коливань ознаки (lim)	σ	CV, %
Добовий діурез, мл/100 г	щури	19	2,09±0,25	0,21-3,47 (3,26)	1,10	52,6
	миші	17	3,04±0,61	0,43-11,7(11,27)	2,50	82,1
Кількість випитої води, мл/100 г за добу	щури	19	3,27±0,26	1,11-5,14 (4,03)	1,13	34,5
	миші	17	5,91±0,66	2,20-12,7 (10,5)	2,70	45,7
Виведення випитої рідини, %	щури	19	61,5±6,43	9,4-98,3 (88,9)	28,0	45,6
	миші	17	50,2±5,86	20,0-92,0 (72,0)	24,2	48,2
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/хв на 100 г	щури	10	0,23±0,06	0,04-0,64 (0,60)	0,18	77,8
	миші	11	0,24±0,05	0,05-0,61 (0,56)	0,16	64,4
Реабсорбція води, %	щури	10	99,5±0,06	99,3-99,8 (0,50)	0,18	0,18
	миші	11	98,3±0,32	96,6-99,6 (3,0)	1,05	1,07
Концентрація креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л	щури	12	52,7±8,66	27,2-131(103,8)	30,0	56,9
	миші	7	61,6±8,61	33,3-100(66,7)	22,8	37,0
Концентрація сечовини в плазмі крові, ммоль/л	щури	9	5,38±0,77	3,10-9,78 (6,68)	2,17	40,4
	миші	6	3,39±0,65	2,39-6,44 (4,05)	1,58	46,6
Екскреція креатиніну, мкмоль/100 г за добу	щури	15	23,0±3,4	2,4-41,6 (39,2)	13,0	56,5
	миші	17	13,5±2,1	4,1-38,2 (34,1)	8,60	63,7
Екскреція сечовини, ммоль/100 г за добу	щури	11	1,24±0,39	0,24-3,89 (3,65)	1,31	105
	миші	11	1,52±0,21	0,56-2,94 (2,38)	0,70	45,9
Екскреція сечової кислоти, мкмоль/100 г за добу	щури	9	6,53±1,00	2,2-11,9 (9,7)	3,01	46,1
	миші	10	6,42±1,01	2,2-13,6 (11,6)	3,21	50,0
Екскреція Na ⁺ , мкмоль/100 г за добу	щури	15	267±56,1	27,6-655 (627,4)	217	81,5
	миші	13	426±70,2	57,6-780 (722,4)	253	59,5
Екскреція K ⁺ , мкмоль/100 г за добу	щури	13	178±31,5	14,4-432 (417,6)	113	63,6
	миші	14	249±27,9	104-446 (342)	104	41,8
Коефіцієнт Na ⁺ /K ⁺ у сечі	щури	13	1,77±0,30	0,24-4,15 (3,91)	1,09	61,7
	миші	13	1,63±0,19	0,54-3,08 (2,54)	0,68	41,6
Концентрація білка в сечі, г/л	щури	12	0,62±0,11	0,19-1,37 (1,18)	0,38	61,8
	миші	9	0,28±0,07	0,14-0,61 (0,47)	0,20	70,6
Екскреція білка, мг/100 г за добу	щури	12	1,06±0,22	0,14-2,89 (2,75)	0,75	70,8
	миші	9	0,80±0,15	0,37-1,71 (1,34)	0,45	56,3
рН сечі	щури	7	6,11±0,11	5,8-6,6 (0,8)	0,30	4,95
	миші	6	6,40±0,09	6,2-6,6 (0,4)	0,22	3,42

ка водопровідну воду (5% від маси тіла) і збирали сечу протягом двох годин. До початку експерименту виконували пробне введення водного навантаження, що адаптувало тварин до умов дослідження. У сечі вимірювали концентрацію креатиніну за реакцією Яффе, сечовини за реакцією з діацетилмонооксимом або за допомогою уреазного методу, сечо-

вої кислоти — з фосфорновольфрамним реактивом, білка — з сульфосаліциловою кислотою, натрію та калію — на полум'яному фотометрі ПАЖ-3, рН — за стандартним набором індикаторного паперу. Після збору сечі частину тварин декапітували під нембуталовим наркозом; у сироватці крові визначали вміст креатиніну, сечовини, оцінювали наявність за-

лишкової сечі в сечовому міхурі. Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) за ендogenousним креатиніном, інтенсивність канальцевої реабсорбції води розраховували за загальноприйнятими формулами [3], визначали екскрецію креатиніну, білка, сечовини, сечової кислоти, електролітів.

З метою порівняння за аналогічним протоколом досліджува-

Таблиця 2

Показники видільної функції нирок у щурів та мишей за умов водного діурезу

Показник	Вид тварин	n	M±m	Межі коливань ознаки (lim)	σ	CV, %
Діурез, мл/100 г за 2 год	щери	90	1,90±0,07	0,50-2,98 (2,48)	0,71	37,1
	миші	88	3,43±0,10	0,81-4,80 (3,99)	0,94	27,4
Виведення водного навантаження, %	щери	90	62,9±2,47	16,7- 98,4 (81,7)	23,5	37,3
	миші	88	68,2±2,00	16,2-93,9 (77,7)	18,7	27,5
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/хв на 100 г	щери	16	0,45±0,07	0,15-0,91 (0,76)	0,26	58,8
	миші	14	0,48±0,06	0,24-1,06 (0,82)	0,20	42,8
Канальцева реабсорбція води, %	щери	16	95,9±0,78	86,0-98,4 (12,4)	3,14	3,27
	миші	14	92,9±0,69	86,2-96,5 (10,3)	2,59	2,79
Екскреція креатиніну, мкмоль/100 г за 2 год	щери	87	2,67±0,10	0,77-6,58 (5,81)	0,95	35,7
	миші	85	3,71±0,19	1,13-11,8 (10,67)	1,79	48,1
Екскреція сечової кислоти, мкмоль/100 г за 2 год	щери	25	0,83±0,08	0,21-1,86 (1,65)	0,37	44,8
	миші	21	1,22±0,12	0,42-2,37 (1,95)	0,54	44,5
Екскреція сечовини, ммоль/100 г за 2 год	щери	18	0,26±0,04	0,04-0,78 (0,74)	0,18	67,8
	миші	12	0,35±0,05	0,13-0,60 (0,47)	0,17	47,7
Екскреція Na ⁺ , мкмоль/100 г за 2 год	щери	21	44,0±11,5	4,15-198 (193,9)	52,8	120
	миші	23	175±25,6	16,8-415 (398,2)	123	70,4
Екскреція K ⁺ , мкмоль/100 г за 2 год	щери	21	31,3±5,21	5,53-90,8 (85,3)	23,9	76,3
	миші	22	79,1±10,9	33,3-239 (205,7)	50,9	64,4
Коефіцієнт Na ⁺ /K ⁺ у сечі	щери	21	1,46±0,27	0,17-4,74 (4,57)	1,22	83,8
	миші	22	2,36±0,37	0,32-8,27 (7,96)	1,74	73,6
Концентрація білка в сечі, г/л	щери	42	0,11±0,02	0,02-0,51 (0,49)	0,10	86,4
	миші	52	0,15±0,02	0,02-0,62 (0,60)	0,15	102
Екскреція білка, мг/100 г за 2 год	щери	42	0,18±0,02	0,04-0,56 (0,52)	0,13	73,4
	миші	52	0,53±0,07	0,11-2,35 (2,24)	0,52	98,1
рН сечі	щери	7	6,49±0,14	5,8-7,0 (1,2)	0,38	5,87
	миші	6	6,20±0,12	5,8-6,6 (0,8)	0,28	4,56

ли видільну функцію нирок у щурів масою 200-280 г (n=90); різниця полягала в тому, що водне навантаження становило 3%.

Для визначення чутливості мишей до дії діуретиків тваринам внутрішньом'язово вводили фуросемід (лазикс, фірми "Hoechst") у дозах 5 мг/кг (n=3) та 10 мг/кг (n=3) за 5 хв до 5% водного навантаження. Визначали діурез за 2 год, екскрецію натрію та креатиніну.

Кількісні дані представлені у вигляді середнього ± стандартна помилка середнього, зазначені ліміти кожної ознаки (lim), середнє квадратичне відхилення (σ), коефіцієнт варіації (CV). Вірогідність міжгрупових відмінностей у до-

слідах із фуросемідом визначали за критерієм W Уайта [5].

Результати та їх обговорення

Добовий діурез у мишей відносно вище, ніж у щурів — у середньому 3,04 мл/100 г, а загальний об'єм сечі сягав у окремих великих особин (понад 20 г) 2,65 мл. Цього в більшості випадків достатньо для визначення концентрації декількох речовин, особливо при використанні мікрометодів. За необхідності можлива і мікроскопія осаду. Ниркова екскреція випитої рідини становила в середньому 50,2% (табл. 1).

В умовах водного діурезу, коли пригнічена залежна від анти-

діуретичного гормону реабсорбція води, загальний об'єм сечі за 2 год сягав 1,6 мл, у середньому 3,43 мл/100 г, що також більше, ніж у щурів (табл. 2). Таким чином, за цей час водне навантаження екскретується нирками достатньою мірою. Варіабельність показника діурезу в мишей відносно невелика — CV складає лише 27,4%. Це свідчить про добру відтворюваність результатів.

Щодо показників парціальних функцій нирок, то у мишей спостерігається менш інтенсивна реабсорбція води при близьких значеннях ШКФ у порівнянні зі щурами (як в умовах спонтанного сечовиділення, так і при водному

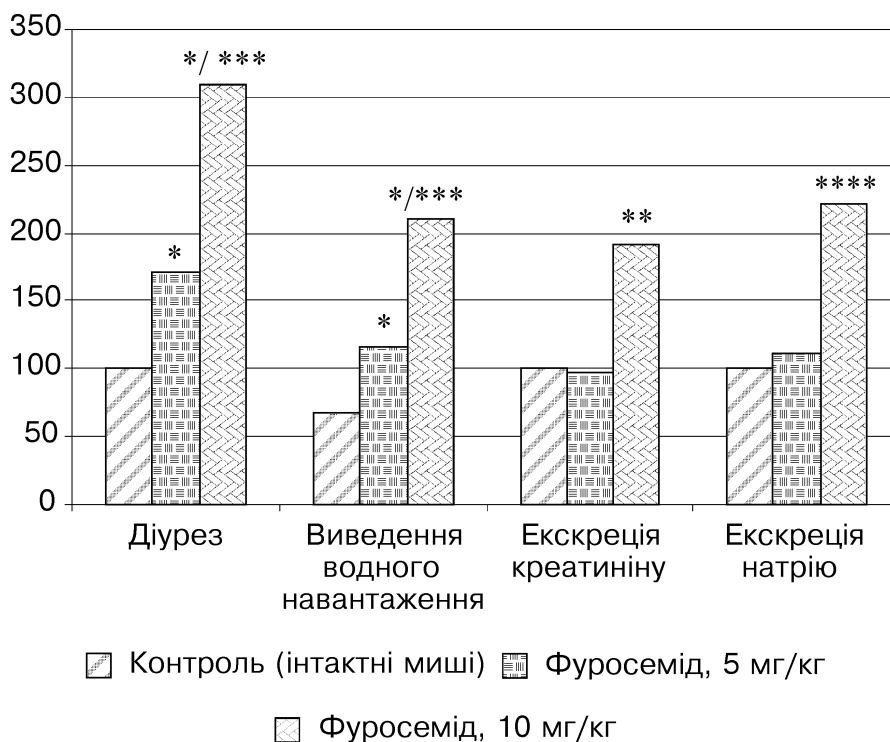


Рис. Дозозалежний вплив фуросеміду на видільну функцію нирок у мишей в умовах водного діурезу

Примітки. По осі ординат — відсотки. Достовірні відмінності:

* — між показниками тварин, які одержували фуросемід, і контрольних тварин ($p < 0,001$);

** — між показниками тварин, які одержували фуросемід, і контрольних тварин ($p < 0,002$);

*** — між показниками тварин, які одержували фуросемід, і контрольних тварин ($p < 0,05$);

**** — між показниками тварин, які одержували фуросемід у дозі 5 мг/кг та 10 мг/кг ($p < 0,05$).

навантаженні). Як свідчать дані табл. 1 і 2, інші показники, в т. ч. креатинін та сечовина плазми крові, в обох видів піддослідних тварин є досить близькими.

Фуросемід викликав у мишей виразну дозозалежну діуретичну відповідь без суттєвих змін екскреції креатиніну і натрію в дозі 5 г/кг, а також значне зростання екскреції креатиніну, що свідчить про збільшення ШКФ, та натрію в дозі 10 мг/кг (рис.). За чут-

ливістю до фуросеміду миші подібні до щурів [6].

Як свідчить комплекс отриманих результатів, виконання дослідів на мишах дає добре відтворені дані щодо парціальних функцій нирок. До того ж воно є технічно зручним та економічним. Простота виготовлення та малий розмір обмінних кліток, що зумовлює достатність невеликої площі для їхнього розміщення, надають можливість одночасно стави-

ти експеримент на великій кількості тварин. Враховуючи всі обговорені аспекти, можна рекомендувати використання мишей в експериментальній фізіології, патофізіології та фармакології нирок.

ВИСНОВКИ

Миші можуть бути успішно використані для дослідження показників видільної функції нирок як в умовах спонтанного сечовиділення, так і в умовах проби з водним навантаженням.

ЛІТЕРАТУРА

1. Айзман Р.И. // *Нефрол.* — 2001. — Т. 5, №3. — С. 89.
2. Аракелян Н.Г., Штрыголь С.Ю., Штрыголь В.С. // *Розвиток наукових досліджень'2005: Матер. міжнар. наук.-практ. конф., м. Полтава, 7-9 листопада 2005 р.* — Полтава: Вид-во "Інтер-Графіка", 2005. — Т. 7. — С. 9-10.
3. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. *Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена.* — Барнаул, 1972. — 199 с.
4. Гоженко А.И. *Лекции по экспериментальной медицине.* — Одесса: Одес. гос. мед. ун-т, 2003. — 314 с.
5. Иванов Ю.И., Погорелюк О.Н. *Обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах.* — М.: Медицина, 1990. — 217 с.

6. Штрыголь С.Ю. Модуляція фармакологічних ефектів при різних солевих режимах. — Х.: Ависта-ВЛТ, 2007. — 360 с.
7. Feng L., Xiong Y., Cheng F. et al. // *Transplant Proc.* — 2004. — Vol. 36, №7. — P. 1949-1951.
8. Ito T., Seo N., Yagi H. et al. // *J. Dermatol. Sci.* — 2002. — Vol. 28, №3. — P. 198-210.
9. Liu S.J., Zhou S.W. // *Acta Pharmacol. Sinica.* — 2000. — Vol. 21, №3. — P. 257-260.
10. Makino T., Ono T., Muso E. et al. // *Nephron.* — 1999. — Vol. 83, №1. — P. 40-46.
11. Philbrick D.J., Bureau D.P., Collins F.W., Holub B.J. // *Kidney Int.* — 2003. — Vol. 63, №4. — P. 1230-1239.
12. Ray S.D., Patel D., Wong V., Bagchi D. // *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* — 2000. — Vol. 107, №1-2. — P. 137-166.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Пушкінська, 53. Тел. (057) 733-92-06.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 29.11.2007 р.