

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ И МОРФОГЕНЕЗ ОСТРОГО ПОЧЕЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ КРЫС ДИХЛОРЕТАНОМ

К.В. Сивак¹, Т.Н. Саватеева-Любимова¹,
Т.А. Гуськова², Г.Н. Кульбицкий³,
М.Л. Александрова³

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России), 197376, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Центр трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова Ярославского государственного педагогического университета им. К.Д. Ушинского, 150010, г. Ярославль, Российская Федерация

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России), 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

В статье представлены результаты экспериментального исследования при отравлении крыс 1,2-дихлорэтаном (250 мкл/кг, в/ж). Целью данной работы являлось изучение взаимосвязи ряда биологических маркеров и морфологических изменений при остром повреждении почек крыс дихлорэтаном. Исследование проб мочи опытных животных методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) выявило 1,2-дихлорэтан в диапазоне концентраций 0,05-0,90 мкг/мл (95% С.И. = 0,09-0,90 мкг/мл). Суточное выделение с мочой составило 0,60-4,50 мкг/16ч (95% С.И. = 1,14-3,93 мкг). Уровни нефрон-специфичных биомаркеров в моче составили 194,62±9,02 МЕ/л (NAGase, $p=0,0022$) и 2,93±0,38 нг/мл (KIM-1, $p=0,0022$), что превосходило таковые в группе контроля в 5 и 23 раза, соответственно. В почках развивались: отек, расстройства внутривисцеральной гемодинамики, миграция лейкоцитов в интерстиций, неравномерное поражение различных зон почек за счет жировой дистрофии и некробиотических изменений нефротелия проксимальных канальцев в основном в корковом слое почек. Выявлено наличие положительных корреляций между уровнем 1,2-дихлорэтана в моче и уровнем KIM-1 (Spearman $r = 0,7427$, 95% С.И. 0,2764-0,9260, $p=0,0083$), β -N-ацетилглюкозаминидазы (Spearman $r = 0,8248$, 95% С.И. 0,4613-0,9512, $p=0,0019$), суммы баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,8064$, 95% С.И. 0,7126-0,8719, $p<0,0001$); уровнем KIM-1 и суммой баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,7427$, 95% С.И. 0,2764-0,9260, $p=0,0083$), β -N-ацетилглюкозаминидазы и суммой баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,4684$, 95% С.И. 0,2764-0,6244, $p<0,0001$), уровнем ВНиСММ в крови и суммой баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,6909$, 95% С.И. 0,5549-0,7909, $p<0,0001$).

Ключевые слова: 1,2-дихлорэтан, крысы, острое повреждение почек, ГЖХ, клиренс креатинина, KIM-1, NAGase, ВНиСММ.

Цит.: К.В. Сивак, Т.Н. Саватеева-Любимова, Т.А. Гуськова, Г.Н. Кульбицкий, М.Л. Александрова. Биологические маркеры и морфогенез острого почечного повреждения при отравлении крыс дихлорэтаном. Токсикологический вестник. 2020; 1: 20-26.

Сивак Константин Владимирович (Sivak Konstantin Vladimirovich), кандидат биологических наук, заведующий отделом доклинических исследований ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, kvsivak@gmail.com

Саватеева-Любимова Татьяна Николаевна (Savateeva-Lyubimova Tatiana Nikolaevna), доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории безопасности лекарственных средств ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, drugs_safety@mail.ru

Гуськова Татьяна Анатольевна (Gus'kova Tatiana Anatolevna), заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заместитель Председателя Всероссийской общественной организации токсикологов, ведущий научный сотрудник отдела доклинических исследований Центра трансфера фармацевтических технологий имени М. В. Дорогова, tagus@rambler.ru

Кульбицкий Глеб Никандрович (Kul'bitzkiy Gleb Nikandrovich), кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории химической и токсикологической диагностики химико-аналитического отдела ФГБУН ИТ ФМБА России, Lab.htd@toxicology.ru

Александрова Марина Леонидовна (Alexandrova Marina Leonidovna), кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории химической и токсикологической диагностики химико-аналитического отдела ФГБУН ИТ ФМБА России, Lab.htd@toxicology.ru

Введение. Органические растворители, в частности хлорорганические (дихлорэтан, тетрахлорметан, трихлорэтилен, хлороформ и др.), широко применяются в промышленности и часто являются причиной острых случайных (на производстве) и преднамеренных (токсикомании, в качестве суррогата алкоголя, суицид) отравлений [1, 2]. Ввиду особенностей токсикокинетики хлорорганические растворители имеют большой кажущийся объем распределения за счет депонирования в жировой ткани, головном мозге и паренхиматозных органах, а также подвергаются так называемому «летальному синтезу», т.е. продукты биотрансформации хлорорганических растворителей оказывают более выраженное токсическое действие на ткани и клетки организма, чем нативные молекулы токсиканта. Токсификация 1,2-дихлорэтана (ДХЭ) проходит в гепатоцитах при окислении изоферментом CYP2E1 цитохрома P450 с образованием 1,2-дихлорэтан-1-ола, затем неэнзиматическом превращении в крайне нестабильный хлоргидрин и, далее, в хлорацетальдегид, который ковалентно связываясь с макромолекулами, превращается в аддукт с глутатионом под влиянием глутатион-S-трансферазы. Из хлоруксусного альдегида под действием альдегиддегидрогеназы образуется монохлоруксусная кислота, а под действием алкогольдегидрогеназы – 2-гидроксиэтил-S-глутатион [3]. Наибольшей чувствительностью к повреждающему действию дихлорэтана, наряду с центральной нервной и сердечно-сосудистой системой, обладают почки и печень. В основе механизма токсичности дихлорэтана лежит каскад свободно-радикальных реакций, активирующих липопероксидацию, повреждение мембран клеток и снижение пула эндогенного восстановленного глутатиона [4], приводящие к дистрофическим изменениям и гибели нефротелиоцитов почечных канальцев [5]. Следует отметить, что в соответствии с современными диагностическими критериями острого повреждения почек, особенности токсического действия 1,2-дихлорэтана на почки являются недостаточно изученными.

Целью данного исследования являлось изучение взаимосвязи ряда биологических маркеров и морфологических изменений при остром повреждении почек крыс дихлорэтаном. Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи: смоделировать острое отравление 1,2-дихлорэтаном на лабораторных животных; провести забор биоматериала с целью сравнительной оценки уровня биологических маркеров в моче и крови и степени морфологических изменений в ткани почек крыс; провести анализ уровня дихлорэтана в моче.

Материалы и методы исследования. Эксперимент *in vivo* выполнен на самцах крыс Wistar с массой тела 200-220 г, полученных из питомника лабораторных животных «Пушино». Экспериментальное исследование проведено в соответствии с этическими принципами обращения с лабораторными животными и регулирующими актами. Категория боли: D – боль и страдания, облегчаемые надлежащим способом (применялся ксилазин, 10 и золетил, 50 мг/кг) [6]. Крысы были разделены на 2 группы: 1 группа – интактные животные с №1-6 (n=6); 2 группа – животные, получавшие ДХЭ в дозе $0,5 \times LD_{50}$ – 250 мкл/кг однократно в/ж с №7-12 (n=6). Для сбора мочи животных на 3 сутки помещали в обменные клетки Techniplast Gazzada (Италия). Оценивали количество выделенной мочи за 16 часов, её плотность (рефрактометрически, г/мл), уровень белка (методом связывания пирогаллолового красного, мг/дл), лейкоцитов (микроскопически, кл/мкл), биомаркеров β -N-ацетилглюкозаминидазы (NAGase, спектрофотометрически с помощью набора фирмы Sigma Aldrich, МЕ/л), молекулы повреждения почек KIM-1 (ИФА, нг/мл), проводили расчёт клиренса креатинина (ClCre, мл/мин). Концентрацию ДХЭ в моче определяли по внешней калибровке методом ГЖХ с детектором электронного захвата (ГЖХ-ДЭЗ) прямым парофазным методом на приборе «Хроматэк-Кристалл 5000.2» [2, 7]. Для этого аликвоту 2,00 мл мочи животных, отравленных ДХЭ, помещали в герметичный контейнер и нагревали до $+60^\circ\text{C}$, после чего отбирали паровую фазу пробы и вводили микрошприцем в инжектор газового хроматографа. Среднеквадратическое отклонение по ДЭЗ составляло менее 4%. С целью проведения биохимических исследований у этих же животных отбирали образцы крови из хвостовой вены. В крови определяли уровень веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ, у.е.), как площадь под кривой абсорбции депротенината плазмы после осаждения белков 30% трихлоруксусной кислотой в диапазоне длин волн 238-306 нм по методу Малаховой М.Я. [8] на спектрофотометрической системе EPOCH2 фирмы BioTek Instruments Inc. (США), креатинин (мкмоль/л) в крови и моче определяли энзиматическим PАР-методом с помощью набора Креатинин-ПАП-Ново фирмы Вектор-Бест (Россия) на автоматическом биохимическом анализаторе Keylab (BPC BioSed srl, Италия). Животных выводили из эксперимента путем плановой эвтаназии, которую проводили на 4-е сутки путем одномоментной декапитации под легким наркозом (применялся ксилазин и золетил) и проводили вскрытие с макроскопическим

и гистологическим исследованием почек (эвисцерация, взвешивание, вырезка, кассетирование, маркировка, фиксация, проводка, заливка в парафиновые блоки, изготовление 5 мкм срезов, окраска гематоксилин-эозином, заключение под покровное стекло и микроскопия) согласно общепринятым протоколам [9]. Криостатные 20 мкм срезы формалин-фиксированных почек окрашивали 0,2% раствором масляного красного О в пропиленгликоле в течение 15 минут, затем заключали под покровное стекло глицерин-желатином. Микрофотографии получали с использованием микроскопа Leica DM1000 (Германия) и камеры TourTek (КНР). Сумму баллов патологических изменений в ткани почек оценивали по интегральной шкале EGPI-score (анализ E – состояния эндотелия, G – клубочков, T – канальцев и I – интерстициальной ткани, от 0 до 4 балла) по методике Khalid U. et al., 2016 [10]. Обработку данных выполняли с использованием пакета статистических программ GraphPad Prism 6.0 (США). Для регистрируемых количественных переменных рассчитывали параметры описательной статистики. Данные представлены в виде среднего (M) и его ошибки ($\pm SE$), 95% доверительного интервала (95% C.I.). Отличия между выборками оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни для парных сравнений и считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. На фоне острого отравления крыс ДХЭ было выявлено двукратное снижение клиренса эндогенного креатинина (в 2 раза, $p=0,0043$) и тенденция к снижению плотности мочи ($p=0,0519$) по сравнению

с группой контроля. Исследование проб мочи отравленных крыс (№7-12) выявило наличие ДХЭ в диапазоне концентраций 0,05-0,90 мкг/мл (95% C.I. = 0,09-0,90 мкг/мл). Суточное выделение с мочой составило 0,60-4,50 мкг/16ч (95% C.I. = 1,14-3,93 мкг). Данные представлены на рисунке 1. В крови отравленных крыс резко увеличивался пул веществ низкой и средней молекулярной массы из-за токсического поражения почек (в 3 раза, $p=0,0022$). В моче отмечали следы кетоновых веществ, увеличение уровня белка (в 11 раз, $p=0,0022$) и лейкоцитов (в 7 раз, $p=0,0043$), что свидетельствовало о развитии интоксикации и острого повреждения почек. Анализ уровня нефрон-специфических маркеров токсического повреждения проксимальных канальцев – активности β -N-ацетилглюкозаминидазы и молекулы повреждения почек KIM-1 в моче – показал, что величины их показателей составили $194,62 \pm 9,02$ МЕ/л (NAGase, $p=0,0022$) и $2,93 \pm 0,38$ нг/мл (KIM-1, $p=0,0022$), что превосходило таковой уровень в группе контроля в 5 и 23 раза, соответственно. Данные представлены на рисунке 2.

Вскрытие отравленных ДХЭ животных после плановой эвтаназии продемонстрировало увеличение почек в размерах (массовый коэффициент превосходил таковое значение у контрольных особей в 1,3 раза, $p=0,0022$), окрас органа был бледно-коричневого цвета, капсула снималась легко. На продольном разрезе обеих почек был отмечен отек коркового слоя, который был обширным и выбухал над поверхностью разреза, рисунок коры был нечетким, имело место полнокровие юкста-



Б

| № крысы | Содержание ДХЭ, мкг/мл | V мочи, мл | Клиренс, мкг/16час |
|---------|------------------------|------------|--------------------|
| 1 | 0 | 4,5 | 0 |
| 2 | 0 | 4 | 0 |
| 3 | 0 | 3,8 | 0 |
| 4 | 0 | 4 | 0 |
| 5 | 0 | 3,5 | 0 |
| 6 | 0 | 2,8 | 0 |
| 7 | 0,4 | 7 | 2,8 |
| 8 | 0,15 | 11 | 1,65 |
| 9 | 0,05 | 12 | 0,6 |
| 10 | 1 | 4,5 | 4,5 |
| 11 | 0,5 | 5 | 2,5 |
| 12 | 0,9 | 3,5 | 3,15 |

Рис. 1. Содержание 1,2-дихлорэтана в моче крыс с острым повреждением почек токсического генеза на 3 сутки после отравления (№7-12). А: типовая ГЖХ-хроматограмма. Б: концентрация ДХЭ в моче крыс и его количество, выделенное за 16 часов.

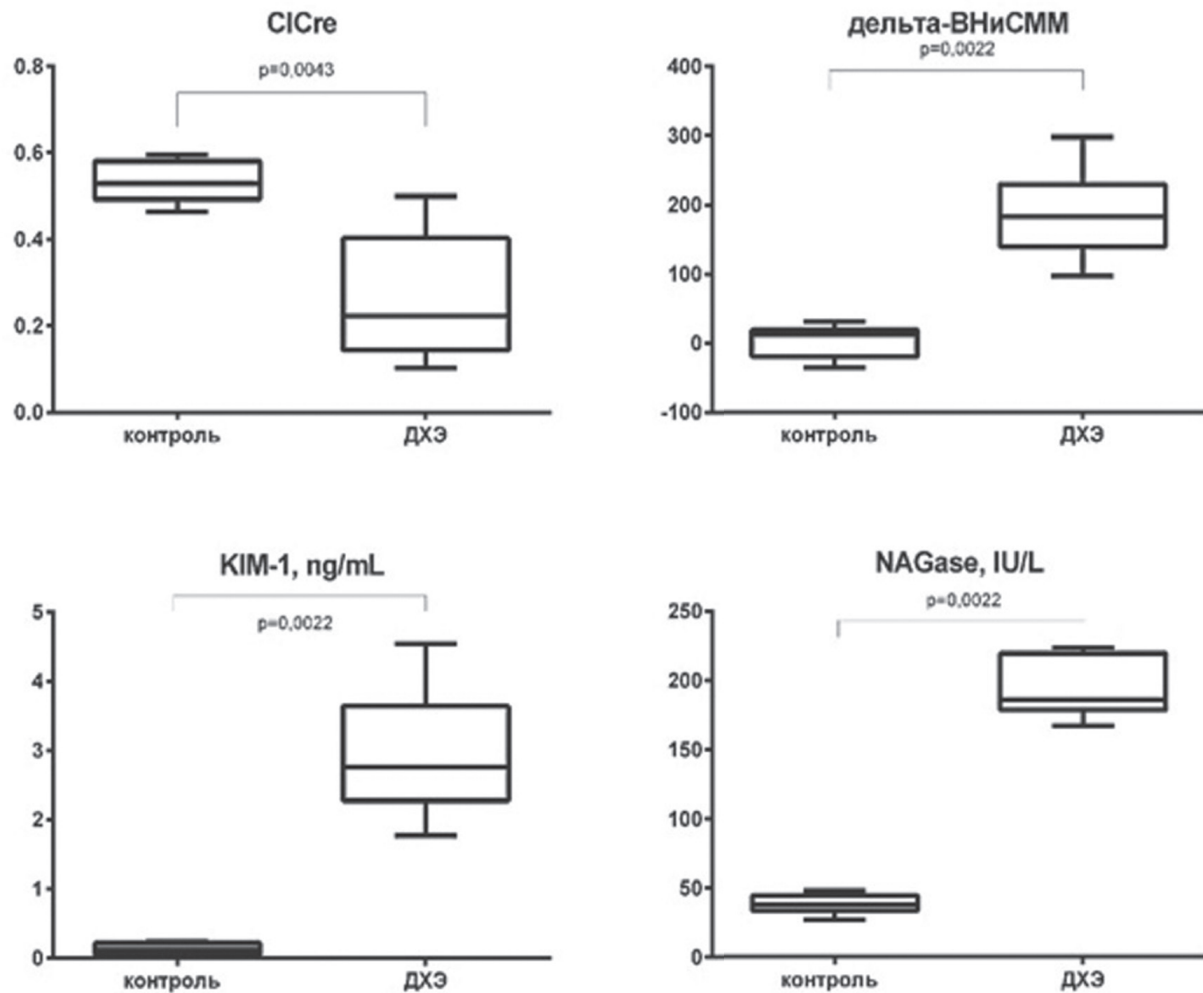


Рис. 2. Величины клиренса эндогенного креатинина (C1Cr, мл/мин), веществ низкой и средней молекулярной массы в крови (дельта-ВНисММ, %), молекулы повреждения почек (KIM-1) и активности β -N-ацетилглюкозаминидазы (NAGase) в моче крыс с острым повреждением почек токсического генеза на 3 сутки после отравления 1,2-дихлорэтаном. По оси абсцисс – экспериментальные группы (контроль и отравленные ДХЭ крысы).

медуллярной зоны. Гистологическое исследование препаратов почек отравленных крыс показало наличие неравномерного поражения различных зон органа. Так, в корковом слое почек преобладали дистрофические и некробиотические изменения нефротелия проксимальных канальцев, захватывающие до 60% площади коркового слоя среза почки с признаками венозной гиперемии и капиллярного стаза; в ряде клубочков отмечали полнокровие капилляров петель. В переходной S-зоне почки острые расстройства гемодинамики в виде расширения перитубулярных и внутригломерулярных капилляров сочетались с дистрофическими и некробиотическими изменениями нефротелия проксимальных канальцев, занимавшими до 25% площади. Как

в корковом слое, так и в переходной зоне наружной медуллы наблюдали локальные очаги лимфогистиоцитарной инфильтрации за счет миграции клеток из сосудистого русла. Гистохимическая реакция на жир с масляным красным O выявила крупные ($p=0,0065$) и мелкие ($p=0,0022$) капли жировых включений в цитоплазме значительной части нефротелиоцитов в проксимальных канальцах коркового слоя почки по сравнению с таковыми в группе контроля. Совокупность баллов по шкале оценки патологических изменений почек EGTI-score, включающей в анализ состояние эндотелия сосудов, клубочков, канальцев и интерстициальной ткани, у отравленных ДХЭ животных составила $5,00 \pm 1,57$ балла ($p=0,0022$), превосходя в 10 раз фоновые возрастные, половые

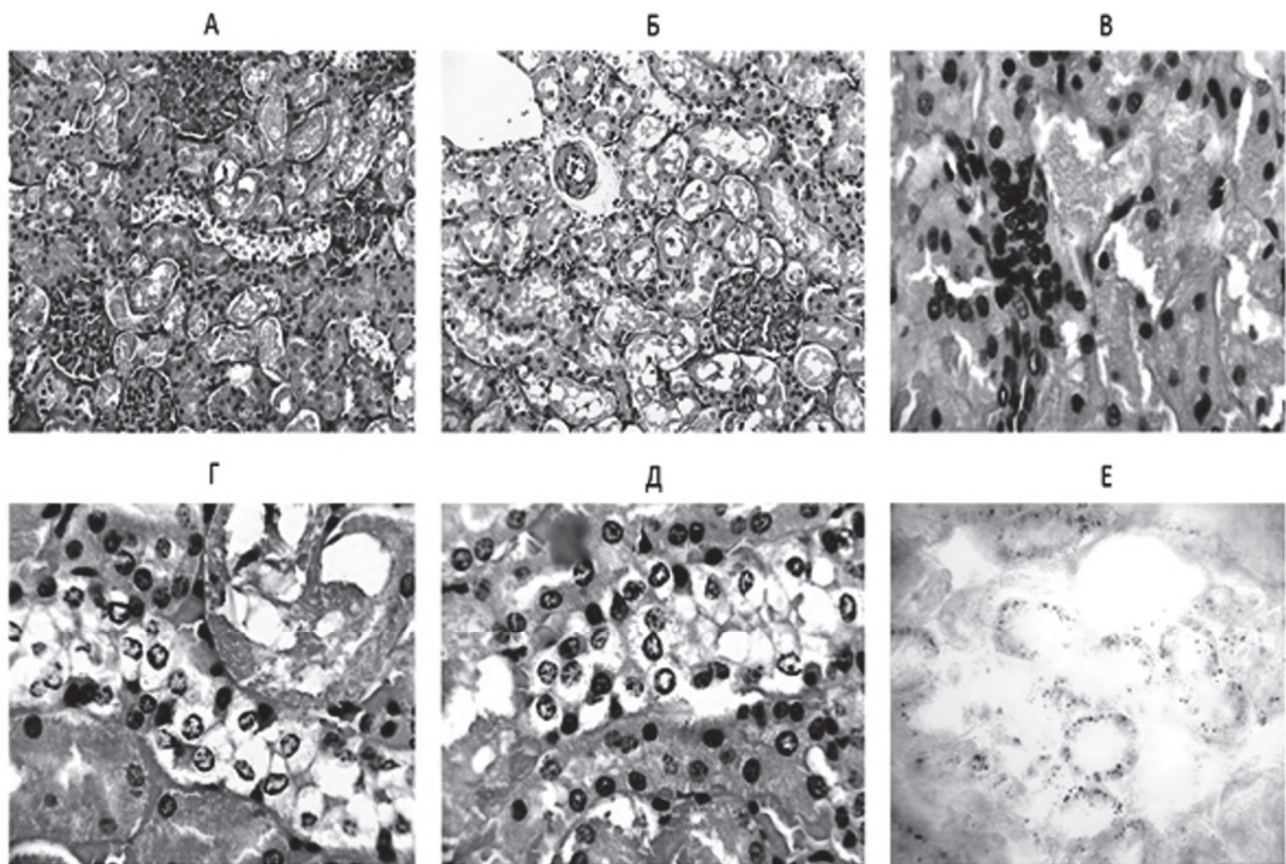


Рис. 3. Патоморфологические изменения в ткани почек крыс с острым повреждением почек токсического генеза на 4 сутки после отравления 1,2-дихлорэтаном. Окраска гематоксилин-эозином. А: ув. 200х, острые расстройства гемодинамики в виде расширения перитубулярных и внутригломерулярных капилляров, дистрофические и некробиотические изменения нефротелия проксимальных канальцев, занимающие до 25% площади переходной S-зоны коркового слоя почек. Б: ув. 200х, распространенные некробиотические изменения нефротелия проксимальных канальцев, занимающие до 60% площади коркового слоя почек, периваскулярный отек. В: ув. 400х, лимфогистиоцитарный инфильтрат в интерстициальной ткани коркового слоя почек. Г и Д: ув. 400х, выраженная дистрофия эпителия проксимального канальца. Е: ув. 200х, положительная гистохимическая реакция на жир в нефротелии проксимальных канальцев коркового слоя почек при окраске масляным красным О (красные капли в цитоплазме клеток).

и внутривидовые изменения в контрольной группе крыс. Полученные данные представлены на рисунках 3 и 4.

Анализ корреляций Спирмена показал наличие прямых положительных корреляций между уровнем ДХЭ в моче и содержанием биомаркера нефротоксичности молекулы повреждения почек KIM-1 (Spearman $r = 0,7427$, 95% С.И. 0,2764-0,9260, $p=0,0083$), а также активностью β -N-ацетилглюкозаминидазы (Spearman $r = 0,8248$, 95% С.И. 0,4613-0,9512, $p=0,0019$) и величиной суммы баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,8064$, 95% С.И. 0,7126-0,8719, $p<0,0001$). Аналогичные данные были получены при анализе между уровнем биомаркера нефротоксичности молекулы повреждения почек KIM-1 и суммой баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,7427$, 95% С.И. 0,2764-0,9260, $p=0,0083$), активностью β -N-ацетилглюкозаминидазы и суммой баллов по

шкале EGTI (Spearman $r = 0,4684$, 95% С.И. 0,2764-0,6244, $p<0,0001$), уровнем веществ низкой и средней молекулярной массы ВНиСММ в крови и суммой баллов по шкале EGTI (Spearman $r = 0,6909$, 95% С.И. 0,5549-0,7909, $p<0,0001$). Отрицательные корреляции отмечали между уровнем клиренса эндогенного креатинина и суммой баллов по шкале EGTI (Spearman $r = -0,7909$, 95% С.И. -0,9410-0,3807, $p=0,0017$), уровнем ДХЭ и клиренсом эндогенного креатинина (Spearman $r = -0,6805$, 95% С.И. -0,9057-0,1559, $p=0,0080$); уровнем ВНиСММ и клиренсом эндогенного креатинина (Spearman $r = -0,7636$, 95% С.И. -0,9325-0,3203, $p=0,0050$).

Заключение. При отравлении 1,2-дихлорэтаном у крыс развивается острое повреждение почек, которое характеризуется признаками мочевого синдрома (протеинурией, лейкоцитурией), снижением клиренса эндо-

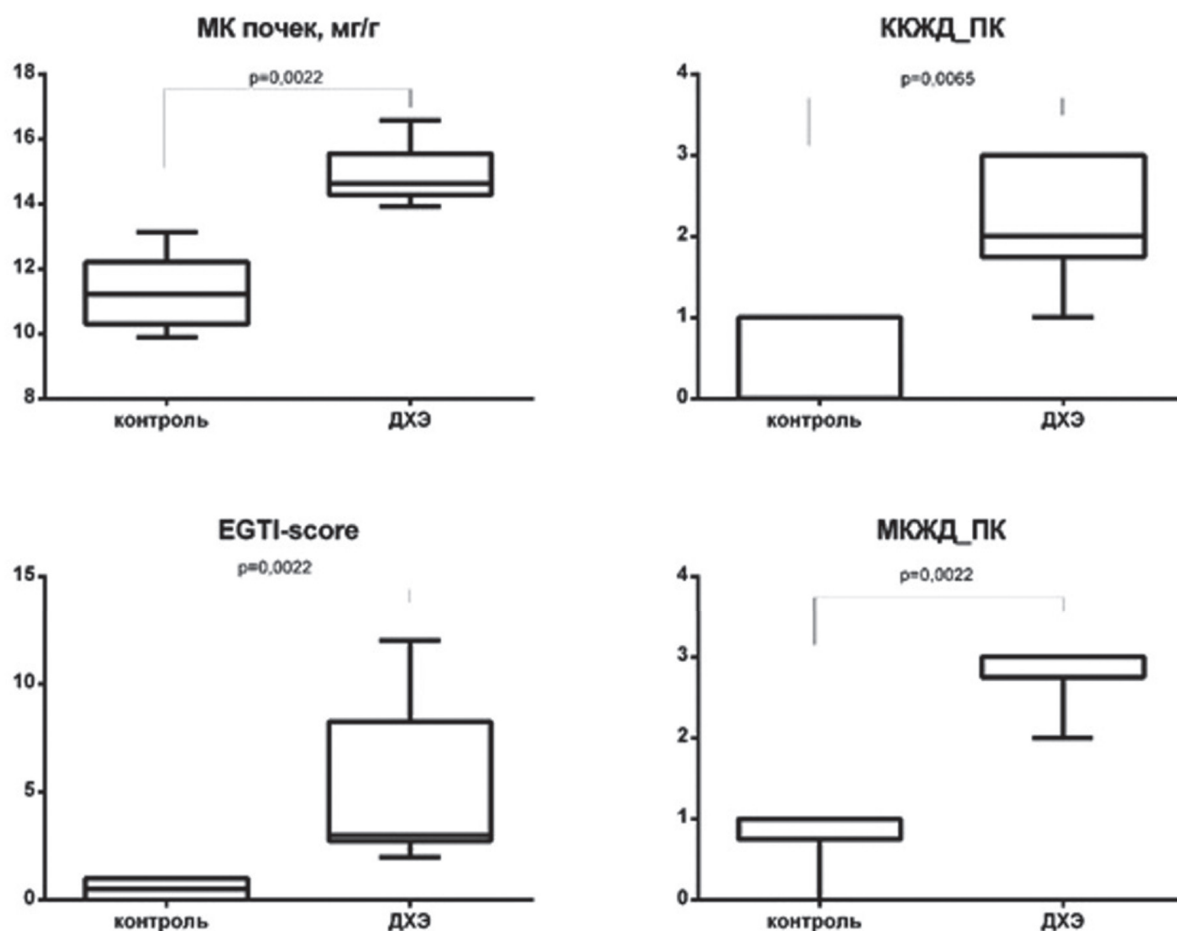


Рис. 4. Количественная характеристика патоморфологических изменений в ткани почек крыс с острым повреждением почек токсического генеза на 4 сутки после отравления 1,2-дихлорэтаном. Величины массового коэффициента почек (МК почек, мг/г), суммарный индекс патологических изменений по шкале EGTI-score, количество клеток нефротелия проксимальных канальцев почек, содержащих крупные капли (ККЖД_ПК) и мелкие капли (МКЖД_ПК) жира при окраске масляным красным O. По оси абсцисс – экспериментальные группы (контроль и отравленные ДХЭ крысы).

генного креатинина, повышением уровня веществ низкой и средней молекулярной массы в крови. Маркер нефротоксичности – молекула повреждения почек КИМ-1 увеличивалась в моче в 23 раза, а активность лизосомального фермента β -N-ацетилглюкозаминидазы – в 5 раз по сравнению с контрольной группой крыс. Величина уровня биомаркеров нефротоксичности в моче крыс положительно кор-

релировала с уровнем как самого токсиканта, так и степенью патологических и гистопатологических изменений в нефротелии проксимальных канальцев. Выявленные изменения в уровне биомаркеров, а также корреляционные взаимосвязи со степенью патоморфологических изменений расширяют современные представления о нефротоксичности данного хлорорганического растворителя.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каштанова И.С., Лось Д.П., Федотова И.Н. Острое отравление дихлорэтаном (клинические наблюдения) // Трудный пациент №6, Т.12, 2014. С. 48-52
2. Бушуев Е.С., Башарин В.А., Горбачёва Т.В., Фокин М.Б. Летучие органические соединения: химико-токсикологический анализ. – СПб.: ООО «Издательство «Левша. Санкт-Петербург», 2018. – 240 с.
3. Mehendale H.M. Halogenated Hydrocarbons // Compr. Toxicol. 2010. С. 459-474.
4. Бонитенко Ю.Ю., Бонитенко Е.Ю. Этанол и токсичность 1,2-дихлорэтана // Medline. – 2003. – Т.4. – С. 451-460
5. Ермоленко В.М., Николаев А.Ю. Острая почечная недостаточность: руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 240 с.
6. Директива 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. Rus-LASA. СПб. 2012; 48 с.
7. Савчук С.А., Веденин А.Н. Обнаружение и количественное определение летучих токсических веществ и гликолей в биологических объектах методом газожидкостной хроматографии и масс-спектрометрии. Методические рекомендации / Под ред. Б.Н. Изотова, 2003; 30 с.
8. Медицинские лабораторные технологии. Том 2. / Под ред. проф. А.И. Карпищенко. – СПб: Интермедика, 2002. – 600 с.
9. Стандартные технологические процедуры при проведении патолого-анатомических исследований: клинические рекомендации RPS1.1(2016) / П.Г. Мальков, Г.А. Франк, М.А. Пальцев; Российское общество патологоанатомов. – М.: Практическая медицина, 2017. – 136 с.
10. Khalid U., Pino-Chavez G., Nesargikar P., Jenkins R.H., Bowen T., Fraser D.J. and Chavez R. Kidney ischaemia reperfusion injury in the rat: the EGTI scoring system as a valid and reliable tool for histological assessment. J Histol Histopathol. 2016; 3:1. <http://dx.doi.org/10.7243/2055-091X-3-1>

REFERENCES:

1. Kashtanova I.S., Elk D.P., Fedotova I.N. Acute poisoning with dichloroethane (clinical observations) // *Trudny patsiyent* №6, T.12, 2014. P. 48-52 (in Russian)
2. Bushuyev Ye.S., Basharin V.A., Gorbachova T.V., Fokin M.B. Volatile organic compounds: chemical-toxicological analysis. – SPb.: 000 «Izdatel'stvo «Levsha. Sankt-Peterburg», 2018. – 240 P. (in Russian)
3. Mehendale H.M. Halogenated Hydrocarbons // *Compr. Toxicol.* 2010. C. 459–474.
4. Bonitenko, Yu.Yu., Bonitenko, E.Yu. Ethanol and toxicity of 1,2-dichloroethane // *Medline.* – 2003. – T.4. – P. 451-460 (in Russian)
5. Yermolenko V.M., Nikolaev A.D. Acute renal failure. – Moscow: GEOTAR-Media, 2010. – 240 P. (in Russian)
6. Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and the European Union Council for the Protection of Animals used for scientific purposes. *Rus-LASA.* SPb. 2012; 48 P. (in Russian)
7. Savchuk S.A., Vedenin A.N. Detection and quantitative determination of volatile toxic substances and glycols in biological objects by gas-liquid chromatography and mass spectrometry. *Methodical recommendations* / Ed. B.N. Izotov, 2003; 30 p. (in Russian)
8. *Medical laboratory technology. Volume 2.* / Ed. prof. A.I. Karpischenko. – SPb: Intermedika, 2002. – 600 p. (in Russian)
9. Standard technological procedures for conducting anatomical studies: clinical guidelines RPS1.1 (2016) / PG Malkov, G.A. Frank, MA Fingers; Russian Society of Pathologists. – M.: Practical medicine, 2017. – 136 p. (in Russian)
10. Khalid U., Pino-Chavez G., Nesargikar P., Jenkins R.H., Bowen T., Fraser D.J. and Chavez R. Kidney ischaemia reperfusion injury in the rat: the EGTI scoring system as a valid and reliable tool for histological assessment. *J Histol Histopathol.* 2016; 3:1. <http://dx.doi.org/10.7243/2055-091X-3-1>

K.V. Sivak¹, T.N. Savateeva-Lyubimova¹, T.A. Gus'kova², G.N. Kul'bitzkiy³, M.L. Alexandrova³

BIOLOGICAL MARKERS AND MORPHOGENESIS OF ACUTE RENAL INJURY IN RAT DICHLOROETHANE POISONING

¹Smorodintsev Research Institute of Influenza, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 197376, Saint Petersburg, Russian Federation

²M.V. Dorogov Yaroslavl Center for Transfer of Pharmaceutical Technologies, K.D. Ushinsky Yaroslavl State Pedagogical University, 150010, Yaroslavl, Russian Federation

³Institute of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency, 192019, Saint Petersburg, Russian Federation

The article presents the results of an experimental study on rat poisoning with 1,2-dichloroethane (250 µl / kg, intragastric administration). The aim of this work was to find the relationship between biological markers and morphological changes in acute damage to rat kidneys with dichloroethane. The study of urine samples of experimental animals by gas-liquid chromatography (GLC) revealed 1,2-dichloroethane in the concentration range of 0,05 – 0,90 µg / ml (95% C.I. = 0,09 – 0,90 µg / ml). Daily excretion with urine was 0,60 – 4,50 µg / 16h (95% C.I. = 1,14 – 3,93 µg / ml). Levels of nephron-specific biomarkers in urine were 194,62 ± 9,02 IU / L (NAGase, p = 0,0022) and 2,93 ± 0,38 ng / ml (KIM-1, p = 0,0022), which exceeded those in the control group by 5 and 23 times, respectively. Edema, disorders of intrarenal hemodynamics, leukocyte migration in interstitium, uneven damage to various areas of the kidneys due to adipose dystrophy and necrobiotic changes in the nephrothelium of the proximal tubules mainly in the cortical layer of the kidneys have developed in the kidneys. Positive correlations between the level of 1,2-dichloroethane in the urine and the level of KIM-1 (Spearman r = 0,7427, 95% C.I. 0,2764 – 0,9260, p = 0,0083), β-N-acetylglucosaminidase (Spearman r = 0,8248, 95% C.I. 0,4613 – 0,9512, p = 0,0019), the scores on the EGTI scale (Spearman r = 0,8064, 95% C.I. 0,7126 – 0,8719, p < 0,0001); the level of KIM-1 and the scores on the EGTI scale (Spearman r = 0,7427, 95% C.I. 0,2764 – 0,9260, p = 0,0083), β-N-acetylglucosaminidase and the scores on the EGTI scale (Spearman R = 0,4684, 95% C.I. 0,2764 – 0,6244, p < 0,0001), the level of the low and medium molecular weight substances in the blood and the scores on the EGTI scale (Spearman R = 0,6909, 95% C.I. 0,5549 – 0,7909, p < 0,0001) were found.

Keywords: 1,2-dichloroethane, rats, acute kidney damage, GLC, creatinine clearance, KIM-1, NAGase, low and medium molecular weight substances.

Quote: K.V. Sivak, T.N. Savateeva-Lyubimova, T.A. Gus'kova, G.N. Kul'bitzkiy, M.L. Alexandrova. Biological markers and morphogenesis of acute renal injury in rat dichloroethane poisoning *Toxicological Review.* 2020; 1: 20-26.

Материал поступил в редакцию 20.08.2019 г.

