

В. П. Пішак, чл.-кор. АМН України, д-р мед. наук, проф.,

Ю. Є. Роговий, д-р мед. наук, проф.,

О. В. Злотар,

В. М. Магальяс, канд. мед. наук,

М. В. Халатурник, канд. хім. наук, доц.

РОЛЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ В ЗАХИСТІ ВІД ДИСФУНКЦІЇ S₃-СЕГМЕНТІВ НЕФРОНУ ТА ЗНАЧЕННЯ ТКАНИННОЇ ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ У ЗМІНАХ ФУНКЦІЇ НИРОК ПРИ РОЗВИТКУ ТУБУЛО-ІНТЕРСТИЦІАЛЬНОГО СИНДРОМУ

Буковинська державна медична академія, Чернівці

Проблема швидкого прогресування та розвитку хронічного патологічного процесу сьогодні є однією з найактуальніших у сучасній нефрології. Її розв'язання значною мірою визначається з'ясуванням механізмів розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому [5], який являє собою патологію ниркових каналців та інтерстицію у вигляді клітинних інфільтратів, набряку та склерозу. Для розв'язання важливих аспектів цієї проблеми було обрано модель сулемової нефропатії, при якій має місце первинне і вторинне ушкодження проксимального відділу нефрону [1; 3], а на 30-й день пізнього періоду поліурічної стадії спостерігається патологія інтерстицію у вигляді розростання сполучної тканини [7; 11]. У роботі була з'ясована роль порушень у системі антиоксидантного захисту в патології ниркових проксимальних каналців, оскільки відомо, що активність супероксиддисмутази в нормі більш низька в сегменті S₃ проксимального відділу нефрону порівняно із сегментами S₁ та S₂ [8; 9], а при хронічній патології нирок має місце зменшення її активності в крові, що може призводити до інтенсифікації перекисного окислення ліпідів [7]. Крім того, необхідно було з'ясувати

роль тканинної фібринолітичної системи в порушенні функцій нирок, оскільки з літератури відомо про зниження фібринолітичної активності крові при хронічному патологічному процесі [2; 8].

Мета роботи — з'ясувати роль змін активності супероксиддисмутази (СОД) в захисті від дисфункції S₃-сегментів та значення тканинного фібринолізу у змінах функцій нирок у пізній період поліурічної стадії сулемової нефропатії на момент формування тубуло-інтерстиціального синдрому.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведені на 32 білих нелінійних щурах-самцях вагою 160–180 г в умовах ліпонатрієвого раціону харчування. Сулему вводили підшкірно дозою 5 мг/кг маси тіла. Функцію нирок досліджували на 30-й день сулемової нефропатії в умовах водного індукованого діурезу, для чого водогінну воду (5 % від маси тіла) за допомогою зонда вводили щурам у шлунок із подальшим збиранням сечі протягом 2 год. Величину діурезу (V) оцінювали в мл/2 год /100 г маси тіла. Відразу після збирання сечі проводили евтаназію тварин шляхом декапітації під ефірним нарко-

зом. Кров збирали в пробірки з гепарином. У плазмі крові й у сечі визначали концентрації креатиніну за реакцією з пікриновою кислотою та іонів натрію методом полум'яної фотометрії. Білок у сечі оцінювали за методом із сульфосаліциловою кислотою. Клубочкову фільтрацію (Ccr) оцінювали за кліренсом ендogenous креатиніну. Відносну реабсорбцію води (RH₂O %) розраховували за формулою:

$$\frac{RH_2O}{Ccr} = \frac{(Ccr - V)}{Ccr} \cdot 100 \%$$

Фракцію іонів натрію (RFNa⁺), що реабсорбується, розраховували за формулою:

$$RFNa^+ = \frac{Ccr \cdot PNa^+ - V \cdot UNa^+}{Ccr}$$

де PNa⁺ та UNa⁺ — концентрації іонів натрію (ммоль/л) у плазмі крові та в сечі відповідно. Екскрецію білка (Epr) розраховували за формулою:

$$Epr = V \cdot Upr$$

де Upr — концентрація білка в сечі (мг/мл).

Проксимальну реабсорбцію іонів натрію (TPNa⁺) оцінювали в умовах водного діурезу за формулою:

$$TPNa^+ = (Ccr \cdot V) \cdot PNa^+ [6]$$

Нирки негайно вилучали та заморожували в рідкому азо-

ті. В нирковій тканині оцінювали фібринолітичну активність, яку визначали за здатністю гомогенату ниркової тканини спричинювати лізис азофібрину із вивільненням азобарвника, що має максимум поглинання при E_{440} . В роботі вивчалися три види фібринолітичної активності: сумарна (СФА), неферментативна (НФА) інкубація гомогенату за присутності блокатора ферментного фібринолізу ϵ -амінокапронової кислоти та ферментативна фібринолітична активність (ФФА), яка розраховувалася за формулою:

$$\text{ФФА} = \text{СФА} - \text{НФА} [4].$$

У мозковій речовині нирок оцінювали активність супероксиддисмутази [7]. Білок у нирках визначали за методом Лоурі [10].

Для підтвердження розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому були проведені гістоморфологічні дослідження нирок із забарвленням депарафінованих зрізів гематоксилін-еозином та за Слинченко.

Статистичну обробку, в тому числі кореляційний та регресійний аналіз, проводили за допомогою комп'ютерної програми "Statgrafics".

Результати дослідження та їх обговорення

На 30-й день сулемової нефропатії встановлені дистрофічні зміни ниркових каналців, дифузне розростання сполучної тканини й інфільтрація стромы клітинними елементами, що свідчить про формування тубуло-інтерстиціального синдрому [7].

Цей період поліуричної стадії нефропатії характеризувався зростанням діурезу на 30,13 % ($P < 0,05$), головним чином, за рахунок збільшення процесів клубочкової фільтрації на 37,43 % ($P < 0,02$). Зростала екскреція білка з $0,244 \pm 0,041$ мл/2 год/100 г ($P < 0,01$) при сулемовій нефропатії. В нирковому сосочку відмічено вірогід-

не зниження фібринолітичної активності: сумарна знижувалася на 28,63 % ($P < 0,001$), неферментативна — на 85,82 % ($P < 0,001$), ферментативна — на 20,54 % ($P < 0,001$). Щодо активності супероксиддисмутази в мозковій речовині нирок не відмічалось вірогідних змін ($0,640 \pm 0,050$ Е/мг білка/хв у контролі та $0,840 \pm 0,179$ Е/мг білка/хв при сулемовій нефропатії). Встановлений позитивний кореляційний зв'язок між діурезом й екскрецією білка (таблиця) свідчить про те, що збільшена кількість білка надходить у процесі зростання клубочкової фільтрації в проксимальний відділ нефрону, де порушується його реабсорбція та, відповідно, зростає його виділення із сечею. Разом з тим проксимальна реабсорбція іонів натрію не змінювалася, становлячи $9,92 \pm 0,17$ мкмоль/100 мкл клубочкової фільтра-

ту на 30-й день сулемової нефропатії, що можна пояснити підсиленням процесів регенерації ниркового епітелію в сегментах S_1 , S_2 проксимального каналця в кірковій речовині. Це також підтверджується виявленими позитивними кореляційними зв'язками між клубочковою фільтрацією та проксимальною реабсорбцією іонів натрію, що забезпечує функціонування клубочково-каналцевого балансу за рахунок S_1 та S_2 . На це також вказують виявлені позитивні кореляційні зв'язки між клубочковою фільтрацією та відносною реабсорбцією води, клубочковою фільтрацією та фракцією іонів натрію, що реабсорбується. Встановлений позитивний кореляційний зв'язок між відносною реабсорбцією води та проксимальною реабсорбцією іонів натрію свідчить про ізотонічність процесу реабсорбції в

Таблиця

Матриця вірогідних кореляційних зв'язків між показниками функцій нирок, активністю супероксиддисмутази та фібринолізом

Пари кореляційних зв'язків		Коефіцієнт кореляції, r_{xy}	Вірогідність кореляційного зв'язку
Діурез	Екскреція білка	0,877	<0,01
Клубочкова фільтрація	Проксимальна реабсорбція Na^+	0,977	<0,001
Клубочкова фільтрація	Відносна реабсорбція H_2O	0,947	<0,01
Клубочкова фільтрація	Фракція Na^+ , що реабсорбується	0,947	<0,001
Відносна реабсорбція H_2O	Проксимальна реабсорбція Na^+	0,966	<0,001
Фракція Na^+ , що реабсорбується	Проксимальна реабсорбція Na^+	0,999	<0,001
Діурез	Сумарна фібринолітична активність (сосочок)	0,782	<0,05
Діурез	Ферментна фібринолітична активність (сосочок)	0,791	<0,05
Клубочкова фільтрація	СОД (мозкова речовина нирок)	0,849	<0,02
Фракція Na^+ , що реабсорбується	СОД (мозкова речовина нирок)	0,786	<0,05
Проксимальна реабсорбція Na^+	СОД (мозкова речовина нирок)	0,786	<0,05
Клубочкова фільтрація	Сумарна фібринолітична активність (сосочок)	0,765	<0,05

проксимальному відділі нефрону, а виявлений позитивний кореляційний зв'язок між фракцією іонів натрію, що реабсорбується, та проксимальною реабсорбцією іонів натрію свідчить про те, що процеси реабсорбції іонів натрію відбуваються, головним чином, у проксимальному відділі нефрону в зазначених сегментах S_1 та S_2 .

Позитивні кореляційні зв'язки між діурезом та сумарною, ферментативною фібринолітичною активністю в нирковому сосочку можна пояснити таким чином. Ушкодження юкстагломерулярного апарату нирок призводить до зниження активності урокінази до рівня, що не може забезпечити ефективний фібриноліз у збиральних трубках ниркового сосочка. Це призводить до утворення уротромбозу та, відповідно, до обмеження діурезу. Встановлення даної кореляційної залежності дало можливість розрахувати рівняння лінійної регресії між діурезом та ферментативною фібринолітичною залежністю ниркового сосочка ($V=2,640\pm 0,009$ ФФАс) (рис. 1). Виявлені позитивні кореляційні зв'язки між активністю супероксиддисмутази в мозковій речовині нирок та фракцією іонів натрію, що реабсорбується, та проксимальною реабсорбцією іонів натрію свідчать про потенційну здатність даного ферменту надавати захисної дії S_3 -сегментам проксимального відділу нефрону, що локалізовані в мозковій речовині нирок. Рівняння лінійної регресивної залежності проксимальної реабсорбції натрію й активності супероксиддисмутази ($T^{\beta}Na^+=2,03\pm 0,90$ СОДм) у мозковій речовині нирок подано на рис. 2. Це, в свою чергу, може привести до нормалізації клубочково-канальцевого балансу за рахунок сегмента S_3 , про що свідчить позитивний кореляційний зв'язок між клубочковою фільтрацією й активністю супер-

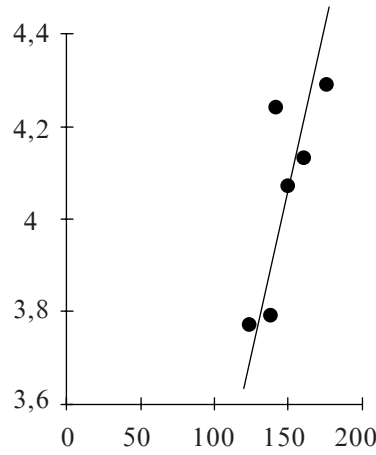


Рис. 1. Регресійний аналіз залежності між діурезом та ферментною фібринолітичною активністю ниркового сосочка в пізній період поліурічної стадії сулемової нефропатії (30-й день). За віссю абсцис — ферментна фібринолітична активність (сосочок) (E440/год/г); за віссю ординат — діурез (мл/2 год/100 г); $r = 0,731$; $n=7$; $P<0,05$

оксиддисмутази в мозковій речовині нирок. Позитивний кореляційний зв'язок між клубочковою фільтрацією та сумарною фібринолітичною активністю свідчить про те, що уротромбоз збиральних каналців ретроградно обмежує не тільки надмірне зростання діурезу, але й клубочкової фільтрації.

Висновки

1. Виявлений позитивний кореляційний зв'язок між активністю супероксиддисмутази в мозковій речовині нирок та сумарною реабсорбцією іонів натрію дозволяє зробити висновок про здатність даного ферменту надавати захисної дії S_3 -сегментам проксимального відділу нефрону в пізній період поліурічної стадії сулемової нефропатії на момент формування тубуло-інтерстиціального синдрому.

2. Виявлені позитивні кореляційні зв'язки між фібринолітичною активністю в нирковому сосочку, діурезом та клубочковою реабсорбцією дають можливість стверджува-

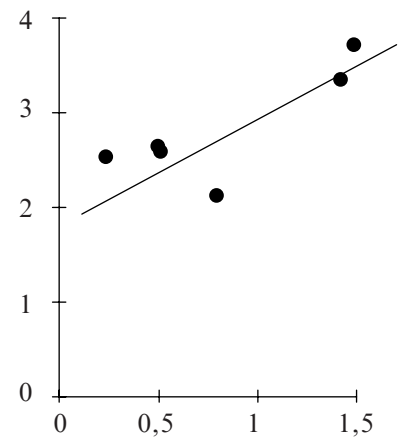


Рис. 2. Регресійний аналіз залежності між активністю СОД у мозковій речовині нирок та проксимальною реабсорбцією іонів натрію в пізній період поліурічної стадії сулемової нефропатії (30-й день). За віссю абсцис — активність СОД (мозкова речовина нирок) (Е/мг/білка/хв); за віссю ординат — проксимальна реабсорбція іонів натрію (ммоль/2 год/100 г); $r = 0,786$; $n=7$; $P<0,05$

ти, що фібринолітична активність нирок істотно впливає на рівень клубочкової фільтрації та діурез в момент формування тубуло-інтерстиціального синдрому.

Обґрунтовано перспективу подальших досліджень щодо з'ясування ролі змін у різних сегментах проксимального відділу нефрону: S_1 , S_2 , S_3 в механізмах розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреев В. П. Особенности восстановления эпителиа канальцев почки белой крысы в поздние сроки сулемового некронефроза // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 1991. — Т. 111, № 6. — С. 659-661.
2. Братчик А. М. Клинические проблемы фибринолиза. — К.: Здоров'я, 1993. — 344 с.
3. Взаимосвязь энергетического обмена, почечных процессов и функций в норме и патологии / А. И. Гоженко, С. И. Конкин, А. С. Федорук и др. // Укр. НПО «Медицина транспорта». — Одесса, 1997. — 70 с. — Рус. — Деп. в ГНТБ 04.04.97, № 307-Ук97.
4. Декларацийний пат. 30727 Україна. МПК G 01 N 33/48. Спосіб визначення тканинної фібринолітичної ак-

тивності Б. М. Боднар, О. Л. Кухарчук, В. М. Магальяс, Я. І. Пенішкевич, О. В. Пішак, Ю. Є. Роговий, В. І. Сливка, В. П. Шаповалов (Україна). — № 98042121. Заявл. 28.04.1998. Опубл. 15.12.2000. Бюл. № 7–11. — 2 с.

5. Команденко М. С., Шостка Г. Д. Основные механизмы развития тубуло-интерстициальных повреждений при болезнях почек // Нефрология. — 2000. — Т. 4, № 1. — С. 10-16.

6. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії: Навчально-методичний

посібник / В. М. Магальяс, А. О. Міхеев, Ю. Є. Роговий та ін. — Чернівці: Буковинська державна медична академія, 2001. — 42 с.

7. Пішак В. П., Гоженко А. І., Роговий Ю. Є. Тубуло-інтерстиційний синдром. — Чернівці: Медакадемія, 2002. — 221 с.

8. Роговий Ю. Є., Бойко О. В., Філіпова Л. О. Функціонально-структурна характеристика сегментів нефрону // Фізіол. журнал. — 2003. — Т. 49, № 6. — С. 94-100.

9. *Intranephron* distribution and properties of xanthine oxidase, superoxide dismutase and guanase activities

in control and nephrotic rats / H. Endou, H. Yamada, T. Takahashi et al. // *Mol/ Nephrol.: Biochem. Aspects Kidney Funct.: Proc. 8 th Int. Symp. Dubrovnic, Oct. 5–8, 1986.* — Berlin; N. Y., 1987. — P. 347-352.

10. *Protein* measurment with Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. I. Rosebrough, A. L. Parr, R. I. Randwall // *J. Biol. Chem.* — 1951. — Vol. 193, N 1. — P. 265-275.

11. *Weber Karl T.* Hormones and Fibrosis: A case for lost reciprocal regulation // *News in physiological sciences.* — 1994. — Vol. 9, N 6. — P. 123-128.

УДК 616.61:577:612.46

В. П. Пішак, Ю. Є. Роговий, О. В. Злотар, В. М. Магальяс, М. В. Халатурник

РОЛЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ В ЗАХИСТІ ВІД ДИСФУНКЦІЇ S₃-СЕГМЕНТІВ НЕФРОНУ ТА ЗНАЧЕННЯ ТКАНИННОЇ ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ У ЗМІНАХ ФУНКЦІЇ НИРОК ПРИ РОЗВИТКУ ТУБУЛО-ІНТЕРСТИЦІАЛЬНОГО СИНДРОМУ

В дослідях на 32 білих щурах-самцях на моделі сулемової нефропатії в пізній період поліурічної стадії (30-й день) встановлений позитивний кореляційний зв'язок між активністю супероксиддисмутази в мозковій речовині нірок та проксимальною реабсорбцією іонів натрію, що можна розглядати як захисний вплив даного ферменту на S₃-сегменти.

Виявлені позитивні кореляційні зв'язки між фібринолітичною активністю в нирковому сосочку та діурезом, клубочковою фільтрацією дозволяють дійти висновку про те, що фібринолітична активність ниркового сосочка істотно впливає на рівень клубочкової фільтрації та діурезу в момент формування тубуло-інтерстиціального синдрому.

Ключові слова: нирки, функція, S₃-сегменти, тубуло-інтерстиціальний синдром, супероксиддисмутаза, фібринолітична активність.

UDC 616.61: 577:612.46

V. P. Pishak, Yu. Ye. Rohovy, O. V. Zlotar, V. M. Magalyas, M. V. Khalaturnyk

THE ROLE OF SUPEROXID DISMUTASE IN PROTECTION FROM DISFUNCTION OF S₃-SEGMENTS OF THE NEPHRON AND FIBRINOLITIC ACTIVITY IN RENAL FUNCTIONS DURING THE DEVELOPMENT OF TUBULO-INTERSTITIAL SYNDROME

In experiments on white male rats on the sublimate nephropathy model in the late period of polyuretic stage (30 days) there was established the positive correlative connection between superoxide dismutase activity in renal medullary substance and proximal reabsorption of sodium that is explained by protective action this enzyme on S₃-segments of the nephron.

The revealed positive correlative connections between fibrinolytic activity in renal papilla and diures, glomerular filtration, give us an opportunity to make a conclusion that phybrinolytic activity of renal papilla exerts the essential influence over the level of the glomerular filtration and diuresis at the moment of tubulo-interstitial forming syndrome.

Key words: kidneys, function, S₃-segments, tubulo-interstitial syndrome, superoxide dismutase, phybrinolytic activity.

УДК 615.033.07

М. Я. Головенко, акад. АМН України, д-р біол. наук,
І. Ю. Борисяк

ОСОБЛИВОСТІ ПРОЦЕСІВ ВИВЕДЕННЯ АМІКСИНУ З ОРГАНІЗМУ МИШЕЙ ПРИ ЙОГО БАГАТОРАЗОВОМУ ВВЕДЕННІ

Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, Одеса

Пошук та вивчення нових фармакологічних засобів — одна з важливих проблем сучасної медицини [1]. Сьогодні спостерігається зростання поширеності гострих, хронічних, інфекційних, особливо вірусних, хвороб на фоні зниження

імунологічної реактивності населення. Саме тому підвищення інтересу вчених до лікарських засобів, що здійснюють стимульований вплив на імунітет, цілком виправдане. Першим вітчизняним пероральним індуктором інтерферону, доз-

воленим для клінічного застосування, є аміксин — низькомолекулярна синтетична сполука класу флуоренонів [2; 3]. Препарат ефективно застосовують у лікуванні гострих і хронічних гепатитів В і С, розсіяного склерозу, профілак-