

Increase phosphorylation of signal protein on tyrosine enhance platelet aggregation in patients with type I diabetes mellitus

T. Makhnevych, N. Sybirna, M. Velykyi, L. Drobot

Our results demonstrated increase of the protein tyrosine phosphorylation level in the total lysates of resting and thrombin-stimulated platelets in patients with type I diabetes mellitus. The decrease of the c-Src kinase level and phosphorylation in the Triton X-100 soluble fraction of resting platelets under type I diabetes mellitus was shown. It was demonstrated that SH3-domain of c-Src kinase interacted specifically with 70 and 125 kDa proteins in the resting platelets in patients with type I diabetes mellitus. Summarizing our results, we can suggest that the increased platelet function in the patients may be partially determined by diabetes-induced activation of phosphotyrosine specific protein kinases such as c-Src kinase.

УДК 616.441-008.64:612.46-019

О.А. ОЛЕНОВИЧ

Буковинська державна медична академія, Чернівці

Характеристика функціонального стану нирок у щурів з експериментальним гіпотиреозом

Первинний гіпотиреоз – поширене захворювання, яке виявляється в 0,5...2% жінок та близько 0,2% чоловіків [1, 3]. Навіть найменший дефіцит тиреоїдних гормонів, які регулюють усі види обміну речовин, спричиняє суттєві, іноді незворотні, порушення в цілому організмі [1, 9]. Тироксин має велике фізіологічне значення, зокрема, як важливий "нирковий регулятор" [8, 9]. На думку деяких авторів [8, 9], існує навіть так звана гіпотиреоїдна тубулопатія, що складається з порушень осмо- та іонорегулюючої й кислотовидільної функцій нирок. Проте відомості про характер та механізми виникнення ниркових дисфункцій при гіпотиреозі недостатні та суперечливі. Тому мета цієї роботи – з'ясування характеру змін екскреторної, іонорегулювальної і кислотовидільної діяльності нирок при експериментальному гіпотиреозі.

Матеріал і методи досліджень. Дослід проводили на 28 білих щурках-самцях. Експериментальний гіпотиреоз моделювали введенням мерказолілу в дозі 10 мг/кг маси тіла впродовж 14 діб. Контрольним тваринам вводили відповідний об'єм розчинника, після чого за допомогою металевого зонда в їхній шлунок вводили підігріту до 37°C водопровідну воду в кількості 5% маси тіла. Відтак розміщували тварин в індивідуальних обмінних клітках і збирали сечу впродовж 2 год. У момент декапітації (під легкою ефірною анестезією) у тварин збирали кров в охолоджені центрифужні пробірки, використовуючи стабілізатор гепарин. Центрифуж-

гували пробірки протягом 15 хв при 3000 об./хв, відокремлювали плазму від формених елементів.

Функціональний стан нирок оцінювали кліренс-методом визначення показників діяльності нирок [10]: діурезу, концентрації креатиніну в плазмі крові та сечі [2, 4], екскреції білка [5], вмісту іонів натрію і калію в сечі та плазмі крові, *pH* сечі, виділення кислот, що титруються, та аміаку.

Результати дослідження опрацьовували методами варіаційного статистичного аналізу з визначенням критерію Стюдента за програмою "BioStat".

Т а б л и ц я 1

Показники екскреторної діяльності нирок у щурів з експериментальним гіпотиреозом за умов індукованого водного діурезу, $\bar{x} \pm S_x$

Показники	Контроль, <i>n</i> =12	Гіпотиреоз, <i>n</i> =18
Діурез, мл за 2 год	3,38±0,20	3,31±0,20 <i>p</i> >0,8
Концентрація креатиніну в сечі, ммоль/л	1,08±0,04	0,99±0,03 <i>p</i> <0,07
Концентрація креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л	69,00±1,10	86,13±5,17 <i>p</i> <0,02
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв	448,40±38,64	322,90±24,44 <i>p</i> <0,01
Концентраційний індекс ендogenous креатиніну, од.	15,69±0,57	11,86±1,02 <i>p</i> <0,01
Відносна реабсорбція води, %	93,53±0,24	91,21±0,61 <i>p</i> <0,01
Концентрація білка в сечі, г/л	0,008±0,002	0,005±0,001 <i>p</i> >0,1
Екскреція білка, мг за 2 год	0,027±0,007	0,015±0,004 <i>p</i> >0,1
Стандартизована екскреція білка, мг/ 100 мкл клубочкового фільтрату	0,006±0,001	0,005±0,001 <i>p</i> >0,5

П р и м і т к и: *p* – ступінь вірогідності різниці показників щодо контролю; *n* – кількість спостережень.

Результати досліджень та їх обговорення. При дослідженні екскреторної діяльності нирок у щурів з експериментальним гіпотиреозом (табл. 1) вірогідних змін діурезу та концентрації креатиніну в сечі ми не спостерігали. Однак вміст креатиніну в плазмі крові підвищувався на 24,8%, що за умов водного навантаження слід розцінювати як гіперкреатинінемію. Накопичення креатиніну в крові гіпотиреодних тварин було зумовлене зменшенням швидкості клубочкової фільтрації на 28,0%. Внаслідок підвищення вмісту в крові креатиніну відповідно (на 24,4%) зменшувався концентраційний індекс ендogenous креатиніну, що супроводжувалось послабленням відносної реабсорбції води. Обмеження зворотного транспорту води в ниркових каналцях забезпечувало достатньо високий рівень

діурезу в умовах зниження швидкості клубочкової фільтрації. Концентрація білка в сечі та його абсолютна і стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату екскреція відповідали контрольним величинам. Тобто у тварин з експериментальним гіпотиреозом грубі ушкодження ниркових структур, які супроводжуються гломерулярною або тубулярною протеїнурією [6, 7, 10], ми не спостерігали.

Т а б л и ц я 2

Показники каналцевого транспорту іонів натрію і калію в щурів з експериментальним гіпотиреозом за умов індукованого водного діурезу, $x \pm Sx$

Показники	Контроль, <i>n</i> =12	Гіпотиреоз, <i>n</i> =18
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	0,68±0,12	0,86±0,06 <i>p</i> >0,1
Екскреція іонів натрію, мкмоль за 2 год	2,24±0,41	2,77±0,15 <i>p</i> >0,1
Стандартизована екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	0,52±0,08	0,88±0,06 <i>p</i> <0,01
Концентрація іонів натрію в плазмі крові, ммоль/л	129,17±1,49	135,63±2,30 <i>p</i> <0,05
Концентраційний індекс іонів натрію, од.	0,005±0,001	0,006±0,001 <i>p</i> >0,5
Фільтраційний заряд натрію, мкмоль/хв	58,20±5,40	43,84±3,56 <i>p</i> <0,05
Абсолютний каналцевий транспорт іонів натрію, мкмоль/хв	58,18±5,40	43,81±3,56 <i>p</i> <0,05
Відносна реабсорбція іонів натрію, %	99,97±0,01	99,95±0,01 <i>p</i> >0,1
Кліренс іонів натрію, мл за 2 год	0,017±0,003	0,020±0,001 <i>p</i> >0,2
Кліренс безнатрієвої води, мл за 2 год	3,37±0,20	3,29±0,20 <i>p</i> >0,7
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату за 1 хв	12,08±0,16	12,37±0,25 <i>p</i> >0,3
Дистальний транспорт іонів натрію, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату за 2 год	0,83±0,03	1,18±0,08 <i>p</i> <0,01
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	9,54±0,66	8,75±0,58 <i>p</i> >0,3
Екскреція іонів калію, мкмоль за 2 год	31,27±1,57	29,14±2,94 <i>p</i> >0,5
Коефіцієнт співвідношення концентрацій іонів натрію і калію в сечі, од.	0,075±0,016	0,099±0,007 <i>p</i> >0,1

П р и м і т к и: *p* – ступінь вірогідності різниці показників щодо контролю; *n* – кількість спостережень.

Концентрація іонів натрію в сечі та їх абсолютна екскреція вірогідно від контрольних показників не відрізнялись (табл. 2). Водночас стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату екскреція іонів натрію перевищувала контроль на 69,2%. Привертало увагу те, що на такому фоні концентрація цих іонів у плазмі крові зростала на 5,0%, хоч і не виходила за межі встановлених для щурів нормальних параметрів натрієвого гомеостазу. Концентраційний індекс натрію вірогідно не змінювався. Фільтраційний заряд іонів натрію зменшувався на 24,7% при відповідному послабленні їх абсолютного транспорту в ниркових каналцях. Відносна реабсорбція, кліренс іонів натрію та безнатрієвої води відповідали контрольним величинам. Проксимальна реабсорбція іонів натрію також не змінювалась, проте їх дистальний транспорт посилювався на 42,2%. Слід вважати, що саме інтенсифікація реабсорбції іонів натрію в дистальних каналцевих відділах нефронів призвела до підвищення концентрації цих іонів у плазмі крові.

У щурів з експериментальним гіпотиреозом майже не змінювався нирковий транспорт іонів калію: їх концентрація в сечі та екскреція не відрізнялись від контрольних показників. Ми не спостерігали вірогідних змін також коефіцієнта співвідношення концентрацій у сечі іонів натрію та калію.

Т а б л и ц я 3

Показники кислотовидільної діяльності нирок у щурів з експериментальним гіпотиреозом за умов індукованого водного діурезу, $x \pm Sx$

Показники	Контроль, <i>n</i> =12	Гіпотиреоз, <i>n</i> =18
Екскреція титрованих кислот, мкмоль за 2 год	39,74±2,66	48,22±3,16 <i>p</i> >0,06
Екскреція амонійних сполук, мкмоль за 2 год	71,10±4,31	82,66±5,45 <i>p</i> >0,1
Стандартизована екскреція титрованих кислот, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	9,77±0,58	15,24±0,92 <i>p</i> <0,001
Стандартизована екскреція амонійних сполук, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	16,73±1,24	26,24±1,50 <i>p</i> <0,001
Амонійний коефіцієнт, од.	1,83±0,10	1,91±0,22 <i>p</i> >0,7
Екскреція активних іонів водню, нмоль за 2 год	0,48±0,05	2,49±0,18 <i>p</i> <0,001
Стандартизована екскреція активних іонів водню, нмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	0,11±0,02	0,83±0,07 <i>p</i> <0,001
<i>pH</i> сечі	6,92±0,07	6,25±0,13 <i>p</i> <0,001

П р и м і т к и: *p* – ступінь вірогідності різниці показників щодо контролю; *n* – кількість спостережень.

Варто звернути увагу на особливості кислотовидільної діяльності нирок у гіпотиреодних щурів (табл. 3). Абсолютна екскреція титрованих кислот й амонійних сполук відповідала контролю, однак при її стандарти-

зації за об'ємом клубочкової фільтрації ми виявили підвищення інтенсивності ацидо- й амоніогенезу – на 56,0 і 56,8% відповідно. Амонійний коефіцієнт вірогідно не змінювався. Екскреція активних іонів водню посилювалася в 5,2 разу, а при перерахунку на одиницю об'єму клубочкового фільтрату перевищувала контрольний показник в 7,5 разу. При цьому рН сечі знижувалася на 9,7%.

Таким чином, при експериментальному гіпотиреозі механізми ацидифікації сечі, пов'язані з ацидо-, амоніогенезом і прямим натрій-водневим антипортом, не порушуються, однак кислотовидільна діяльність нирок обмежується внаслідок зниження швидкості клубочкової фільтрації, що зменшує надходження в ниркові каналці нелетких кислот.

Висновки. 1. При експериментальному гіпотиреозі спостерігається послаблення екскреторної діяльності нирок зі зменшенням швидкості клубочкової фільтрації майже на 30%, що призводить до накопичення в плазмі крові продуктів білкового метаболізму.

2. Обмеження фільтраційного завантаження нефронів іонами натрію зумовлене зменшенням швидкості клубочкової фільтрації, а підвищення вмісту іонів натрію в плазмі крові пов'язане з інтенсифікацією їх дистального транспорту.

3. При експериментальному гіпотиреозі кислотовидільна діяльність нирок послаблюється внаслідок зменшення швидкості клубочкової фільтрації та надходження в ниркові каналці нелетких кислот.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аметов А.С., Грановская-Цветкова А.М. Гипотиреоз // Клинич. фармакология и терапия. – 1997. – №6. – С.65–68.
2. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена. – Барнаул: Алтай. кн. изд., 1972. – 60с.
3. Герасимов Г.А. Лечение препаратами тироксина больных с заболеваниями щитовидной железы: зарубежный опыт его использования в России // Пробл. эндокринологии. – 1996. – №1. – С.80–83.
4. Мерзон А.К. Современные представления о почечном кровообращении и клубочковой фильтрации // Физиология и патология почек и водно-солевого обмена. – К.: Наук. думка. – 1974. – С.16–26.
5. Михеева А.И., Богодарова И.А. К методике определения общего белка в моче на ФЭК-Н-56 // Лаб. дело. – 1969. – №7. – С.441–442.
6. Наточин Ю.В. Основы физиологии почки. – М.: Медицина, 1982. – С.196.
7. Нефрология: Руководство для врачей: В 2-х т. / Под ред. И.Е. Тареевой. – М.: Медицина, 1995. – Т.1.
8. Николаева А.В., Пименов Л.Т. Сравнительная характеристика клинико-функционального состояния почек у больных с декомпенсированным гипотиреозом и его сочетание с хроническим пиелонефритом // Нефрология. – 2000. – Т.4, №4. – С.61–64.
9. Почечная эндокринология / Под ред. М.Дж. Данна. – М.: Медицина, 1987. – 672с.
10. Шюк О. Функциональное исследование почек. – Прага: Авиценум, Мед. изд-во, 1981. – 344с.

Стаття надійшла до редколегії 15.09.03

Характеристика функционального состояния почек у крыс с экспериментальным гипотиреозом

О.А. Оленович

Исследовано функциональное состояние почек у крыс с экспериментальным гипотиреозом. Установлено, что для экспериментального гипоти-

реоза характерно угнетение экскреторной деятельности почек с уменьшением скорости клубочковой фильтрации, что приводит к накоплению в плазме крови продуктов белкового метаболизма. Ограничение фильтрационной загрузки нефронов ионами натрия обусловлено снижением скорости клубочковой фильтрации, а повышение содержания ионов натрия в плазме крови связано с интенсификацией их дистального транспорта. Кислотовыделительная деятельность почек угнетается вследствие уменьшения скорости клубочковой фильтрации и поступления в почечные канальцы титруемых кислот.

The characteristic of kidney functional status in rats with experimental hypothyrosis

O. Olenovych

The investigation of kidney functional status established, that experimental hypothyrosis is characterised by inhibition of excretive kidney function with decrease of a glomerular filtration rate, that causes an accruing of proteometabolism products in a blood plasma. The limitation of filtrational loading of nephrons with sodium ions is stipulated by, and rising of sodium ions in a blood plasma is connected with intensification of their distal transport. Acidosecretory kidney function is depressed because of the decrease of a glomerular filtration rate and entering of titratable acids into renal canaliculi.