

Ступінь морфологічних змін в експерименті корелює з вираженістю порушень функції нирок.

2. Застосування WOBENZYM® призводить до зменшення ураження ниркових структур, сприяє відновленню функції нирок і нормалізації ліпідного обміну, а призначення його разом із препаратами патогенетичної терапії веде до взаємного підсилення цих ефектів та нівелювання побічної дії імунодепресантів.

*Література.* 1. Коваленко В.Н. Обоснование и клиническое применение системной энзимотерапии // Врачебная практика.- 1997.- №2.- С.59-64. 2. Корпан М.И., Чекман И.С., Бобков В.Н., Фиалка В. Взаимодействие физиологически активных веществ вобензима с компонентами биомембраны // Архив клинической и экспериментальной медицины.- 1999.- Т. 8, №1.- С.13-17. 3. Краснова Т.Н., Тареева И.Е., Шилов Е.М., и др. Сандимун в лечении хронического гломерулонефрита с нефротическим синдромом // Терапевтический архив.- 1997.- №6.- С.21-23. 4. Швед Н.И., Мартынюк Л.П. Клинико-лабораторная оценка эффективности вобензима у больных хроническим пиелонефритом // Врачебная практика.-1997.- №4.- С.38-42. 5. Kolas C., Streichhan P., Lehr C.M. Oral bioavailability of proteolytic enzymes // Eur. J. Pharm. Biopharm.- 1996.- Vol. 42, №4.- P.222-232. 6. J.Reynolds, C.D.Pusey. In vivo treatment with a monoclonal antibody to T helper cells in experimental autoimmune glomerulonephritis in the BN rat // Clinical and Experimental Immunology.- 1995.- Vol.1.- P.122-127. 7. White R.B., Lowrie., Stork J.E. Targeted enzyme therapy of experimental glomerulonephritis // J. Clin. Invest.- 1991.- Vol.87.- P. 1819-1827.

#### COMPARATIVE EFFICIENCY OF TREATMENT OF EXPERIMENTAL GLOMERULONEPHRITIS

*I.V. Mukhin*

**Abstract.** A comparative evaluation of the influence of different methods of treatment on lipid metabolism, the function and morphologic structure of the kidneys was performed on the glomerulonephritis model in albino rats. We managed to obtain alterations similar with human chronic glomerulonephritis in case of experimental lesion of the rats' kidneys. The character of morphologic derangements corresponded to the frankness of disorders of the renal function. It was proved that the use of WOBENZYM® contributed to the improvement of lipid metabolism, renal function and a decrease of the extent of lesion of the renal structures.

**Key words:** systemic enzymotherapy, experimental glomerulonephritis, renal function, lipid metabolism.

Donetsk Regional Clinical Territorial Medical Association

---

УДК 616.61.27-072.72-08-039.71:615.273.5

*Ю.Є.Роговий*

#### ЗАХИСНИЙ ВПЛИВ УРОКІНАЗИ НА РОЗВИТОК ТУБУЛО-ІНТЕРСТИЦІЙНОГО КОМПОНЕНТА В ПОЛУРИЧНІЙ СТАДІЇ СУЛЕМОВОЇ НЕФРОПАТІЇ

Кафедра патологічної фізіології та біологічної фізики (зав. – проф. В.Ф.Мислицький)  
Буковинської державної медичної академії

**Резюме.** У досліджах на 62 білих нелінійних щурах-самцях встановлено захисний вплив урокінази на розвиток тубуло-інтерстиційного компонента, що

проявляється посиленням тканинного необмеженого протеолізу, зростанням фібринолітичної активності сечі, проксимальної та дистальної реабсорбції іонів натрію, зниженням величини протеїнурії.

**Ключові слова:** урокіназа, тубуло-інтерстиційний компонент, необмежений протеоліз, фібриноліз, функція нирок.

**Вступ.** Відомо, що пошкодження ниркових канальців та інтерстицію на сьогоднішній день є провідним фактором, який визначає механізми швидкого прогресування та хронізації захворювань нирок [8]. Ця патологія характеризується дистрофічними, атрофічними змінами канальців нефрону та пошкодженнями інтерстицію у вигляді клітинних інфільтратів, набряку і склерозу [14]. Одним з механізмів склерозування тканини нирок є знижена продукція урокінази в просвіт ниркових канальців внаслідок пошкодження проксимального відділу нефрону. Це призводить до уротромбозу з наступною заміною фібрину на колаген [9]. Крім того, внаслідок розвитку венозної гіперемії в мозковій речовині нирок виникає тромбоз, що також сприяє заміні фібрину на колаген у цій ділянці нирок [10]. Формування тубуло-інтерстиційного фіброзу супроводжується пригніченням системи необмеженого протеолізу, що призводить до дисбалансу між анаболізмом та катаболізмом у сполучній тканині та до підсилення синтезу колагену [11]. Все вищезазначене обґрунтовує можливість застосування урокінази, яка є активатором тканинних систем необмеженого фібринолізу та протеолізу, [2,5] для корекції цих змін.

**Мета дослідження.** Визначити характер впливу урокінази на функціонально-біохімічний стан нирок за умов розвитку тубуло-інтерстиційного компонента в поліуричній стадії сулемової нефропатії.

**Матеріали і методи.** Експерименти проведено на 62 білих нелінійних щурах-самцях масою 0,12-0,18 кг за умов гіпонатрієвого раціону харчування. Сулему вводили одноразово підшкірно в дозі 5 мг/кг маси тіла. Дослідження проводили в пізній поліуричний період на момент формування тубуло-інтерстиційного компонента на 30-ту добу після введення двохлористої ртуті за умов гіпонатрієвого раціону харчування. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації під ефірним наркозом.

Урокіназу НВФ "Simko, ltd" з питомою активністю 3000 од. Plough/мг білка вводили в черевну порожнину в дозі 5 од. Plough/100 г 1 раз у 3 дні в 0,2 мл дистильованої води впродовж 30 днів розвитку тубуло-інтерстиційного компонента за сулемової нефропатії [3].

Функціональний стан нирок вивчався за умов водного індукованого діурезу, для чого водопровідну воду при температурі 37°C у кількості 5% від маси тіла за допомогою металевого зонда вводили щурам у шлунок із наступним збиранням сечі впродовж 2 год. Величину діурезу (V) оцінювали в мл/2 год/100 г маси тіла. Кров збирали в пробірки з гепарином. Клубочкову фільтрацію ( $C_{cr}$ ) оцінювали за кліренсом ендogenous креатиніну, яку розраховували за формулою:

$$C_{cr} = U_{cr} \cdot V/P_{cr}$$

де  $U_{cr}$  і  $P_{cr}$  - концентрації креатиніну в сечі і плазмі крові відповідно.

Фільтраційну фракцію іонів натрію ( $FFNa^+$ ) оцінювали за формулою:

$$FFNa^+ = C_{cr} \cdot PNa^+$$

де  $PNa^+$  - концентрація іонів натрію в плазмі крові.

Екскреторні фракції білка ( $EF_{pr}$ ), іонів натрію ( $EFNa^+$ ) оцінювали за формулами:

$$EF_{pr} = V \cdot U_{pr}$$

$$EFNa^+ = V \cdot UNa^+$$

де  $U_{pr}$ ,  $UNa^+$ , - концентрації білка, іонів натрію в сечі відповідно.

Абсолютну реабсорбцію іонів натрію ( $RFNa^+$ ) розраховували за формулою:

$$RFNa^+ = C_{cr} \cdot PNa^+ - V \cdot UNa^+$$

Проксимальну та дистальну реабсорбцію іонів натрію ( $T^pNa^+$ ,  $T^dNa^+$ ) оцінювали за О. Шюк (1981) [13]: при відсутності реабсорбції води в дистальному відділі нефрону і збірних каналцях за умов водного діурезу; при різкому зниженні концентрації антидіуретичного гормону в плазмі крові; при ізотонічності первинної сечі в проксимальному відділі нефрону. При цьому осмолярність сечі не перевищувала осмолярності плазми крові, тобто нирки функціонували в режимі водного діурезу. Розрахунки проводили за формулами:

$$T^pNa^+ = (C_{cr} - V) \cdot PNa^+$$

$$T^dNa^+ = (PNa^+ - UNa^+) \cdot V$$

Оцінювали індекс співвідношення екскреції білка до екскреції креатиніну [12].

У пробах сечі концентрацію креатиніну визначали за Фолінім [1], у плазмі крові за Поппером у пропису А.К.Мерзона [6]. Концентрацію білка в сечі визначали сульфосаліциловим методом за А.І.Міхеевою та І.А.Богодаровою [7], концентрацію іонів натрію в плазмі крові, сечі визначали методом фотометрії полум'я з використанням фотометра ФПЛ-1. [1].

Нирки швидко вилучали і заморожували в рідкому азоті. Стан необмеженого протеолізу в кірковій, мозковій речовині та сосочку нирок оцінювали за лізісом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу (Simko Ltd, Львів). Фібринолітичну активність сечі вивчали за лізісом азофібрину з оцінкою сумарної (СФА), неферментативної (НФА) (інкубація гомогенату в присутності інгібітора ферментативного фібринолізу  $\epsilon$  - амінокапронової кислоти) та ферментативної фібринолітичної активності, яку визначали за формулою:  $ФФА = СФА - НФА$  [4].

Для морфологічного підтвердження розвитку тубуло-інтерстиційного компонента проводили гістологічні дослідження із забарвленням депарафінованих зрізів гематоксилін-еозином та за Слінченком. Статистичну обробку даних проводили на комп'ютері IBM PC AT 386 DX за допомогою програми "Statgrafics" та "Exel 7.0".

**Результати досліджень та їх обговорення.** За результатами дослідження розвиток тубуло-інтерстиційного компонента відбувається на 30-ту добу поліуричної стадії сулемової нефропатії, про що свідчить дифузне зростання сполучної тканини в інтерстицію, інфільтрація строми клітинними елементами, дистрофічні зміни ниркових каналців.

Застосування урокінази за умов розвитку тубуло-інтерстиційного компонента характеризувалося зростанням діурезу, відносного діурезу, швидкості клубочкової фільтрації (табл. 1). Відмічалось зниження концентрації білка в сечі, його екскреції, включаючи і стандартизований показник за клубочковим фільтратом. Знижувався індекс співвідношення екскреції білка до екскреції креатиніну. За умов введення урокінази зростали фільтраційна фракція іонів натрію, його абсолютна реабсорбція, включаючи проксимальний та дистальний транспорт.

**Таблиця 1**

**Вплив урокінази на функцію нирок на 30-ту добу сулемової нефропатії (x±Sx)**

Показники функції нирок	Сулемова нефропатія (n=6)	Сулемова нефропатія +урокіназа (n=7)
Діурез, мл/2 год /100 г	1,91±0,446	3,45±0,309 p<0,01
Відносний діурез, %	38,28±8,914	69,17±6,178 p<0,01
Клубочкова фільтрація, мкл/хв/100 г	1117,93±107,24	2284,18±445,69 p<0,05
Концентрація білка в сечі, мг/мл	0,294±0,0749	0,040±0,0070 p<0,001
Екскреція білка, мг/2 год/100 г	0,294±0,0749	0,130±0,0193 p<0,05
Екскреція білка, мг/100 мкл C <sub>cr</sub>	0,029±0,0083	0,007±0,0013 p<0,02
Екскреція білка /екскреції креатиніну, од.	0,063±0,0095	0,031±0,0047 p<0,01
Фільтраційна фракція іонів натрію, мкмоль/хв/100 г	167,83±19,474	294,93±46,561 p<0,05
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/хв/100 г	167,82±19,475	294,902±46,564 p<0,05
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/2 год/100 г	283,91±65,871	461,21±47,610 p<0,05
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, ммоль/2 год/100 г	19,86±2,361	34,93±5,572 p<0,05

**Примітка до табл. 1 - 3 :**

p - вірогідність різниці у порівнянні з сулемовою нефропатією;  
n - число спостережень.

Вплив урокінази на протеолітичну активність у кірковій речовині нирок характеризувався зростанням лізису азоказеїну при відсутності змін протеолізу за азоальбуміном та азоколом (табл.2). У мозковій речовині нирок після введення урокінази зростав протеоліз за азоказеїном та азоколом при

відсутності змін лізису за азоальбуміном. Аналогічні закономірності характерні і для ниркового сосочка. У сечі на фоні введення урокінази зростала протеолітична активність за азоальбуміном, азоказеїном та азоколом.

Таблиця 2

Вплив урокінази на протеолітичну активність нирок та сечі на 30-ту добу сулемової нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ )

Показники протеолітичної активності, $E_{440}/\text{год}/\text{г}$	Сулемова нефропатія (n=7)	Сулемова нефропатія + урокіназа (n=8)
Кіркова речовина:		
- за азоальбуміном	10,74±0,627	11,68±0,637
- за азоказеїном	8,23±0,652	11,96±0,805 p<0,01
- за азоколом	7,86±0,350	7,65±0,327,
Мозкова речовина:		
- за азоальбуміном	7,86±1,143	7,61±0,977
- за азоказеїном	5,82±0,279	10,43±1,286 p<0,01
- за азоколом	3,79±0,095	5,72±0,328 p<0,001
Сосочок:		
- за азоальбуміном	18,48±2,075	17,48±1,161
- за азоказеїном	15,33±3,966	30,69±3,228 p<0,01
- за азоколом	4,91±0,458	6,77±0,574 p<0,05
Сеча:		
- за азоальбуміном	0,634±0,0569	1,35±0,165 p<0,01
- за азоказеїном	0,505±0,0242	1,37±0,192 p<0,01
- за азоколом	0,133±0,0088	0,195±0,0052 p<0,001

При дослідженні впливу урокінази на фібринолітичну активність сечі визначено зростання ферментативної фібринолітичної активності з тенденцією до збільшення сумарної та неферментативної фібринолітичної активності (табл.3).

Проведення регресивного аналізу дало можливість встановити вірогідну негативну кореляційну залежність між протеолізом за азоказеїном у мозковій речовині нирок та екскрецією білка ( $r_{xy} = -0,836$ ; n=8; p<0,01) і позитивну кореляційну залежність між протеолізом за азоколом сечі та ферментативною фібринолітичною активністю сечі ( $r_{xy} = 0,904$ ; n=8; p<0,01). Діаграми цих регресивних залежностей наведено на рис. 1.

Захисний вплив урокінази за умов розвитку тубуло-інтерстиційного компонента обумовлений стимулюючим впливом на необмежений протеоліз і фібриноліз. Свідченням цього є зростання на фоні введення урокінази лізису

Таблиця 3

Вплив урокінази на фібринолітичну активність сечі на 30-ту добу  
поліуричної стадії сулемової нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ )

Показники фібринолітичної активності, $E_{440}/\text{год}/\text{мл}$	Сулемова нефропатія ( $n=7$ )	Сулемова нефропатія + урокіназа ( $n=8$ )
Сумарна	$1,03 \pm 0,079$	$1,345 \pm 0,1214$
Ферментативна	$0,504 \pm 0,0527$	$0,706 \pm 0,0712$
Неферментативна	$0,529 \pm 0,0405$	$0,639 \pm 0,0623$

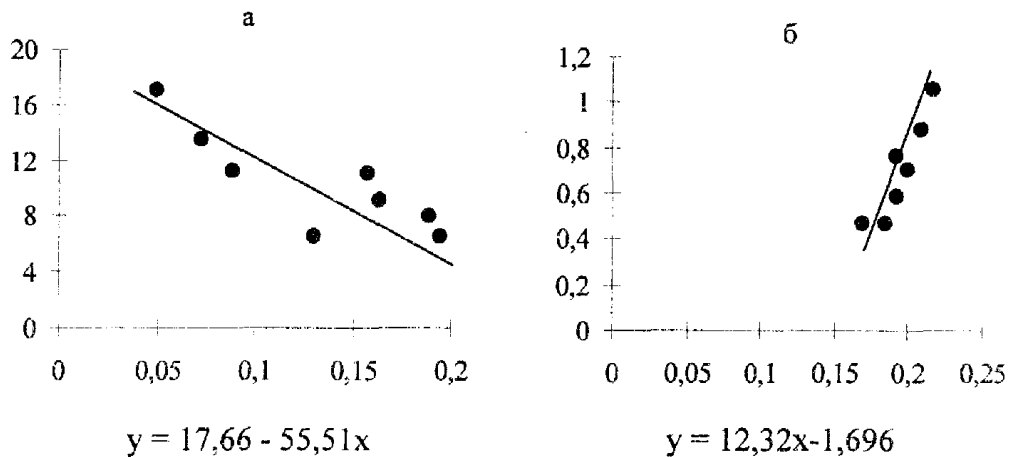


Рис. 1. Регресивний аналіз між показниками необмеженого протеолізу, фібринолітичної активності сечі та екскреції білка в поліуричну стадію сулемової нефропатії за умов введення урокінази:

- а) вісь абсцис - екскреція білка ( $\text{мг}/2 \text{ год}/100 \text{ г}$ ), вісь ординат - протеолітична активність за азоказеїном у мозковій речовині нирок ( $E_{440}/\text{год}/\text{г}$ );  
б) вісь абсцис - протеолітична активність за азоколом сечі ( $E_{440}/\text{год}/\text{мл}$ ); вісь ординат - ферментативна фібринолітична активність сечі ( $E_{440}/\text{год}/\text{мл}$ ).

азоказеїну в кірковій, мозковій речовині, сосочку нирок та сечі; лізису азоколу в мозковій речовині, сосочку нирок та сечі; лізису азоальбуміну та ферментативної фібринолітичної активності сечі. Ліквідацією уротромбозу на фоні застосування урокінази пояснюється зростання діурезу, відносного діурезу, клубочкової фільтрації, фільтраційної фракції іонів натрію. Зменшення концентрації білка в сечі та його екскреції, включаючи і стандартизовані показники за клубочковою фільтрацією й екскрецією креатиніну, обумовлене зменшенням ступеня інтерстиційного фіброзу внаслідок покращання протеолізу і відновлення функції проксимального відділу нефрону - реабсорбції білка. Зростання абсолютної, проксимальної, дистальної реабсорбції іонів натрію, на фоні застосування урокінази, пояснюється не тільки збільшенням фільтраційного завантаження нефрону, але і покращанням функції цих каналців внаслідок зменшення ступеня інтерстиційного фіброзу, що обумовлено відновленням необмеженого протеолізу на фоні застосування урокінази. Негативну кореляційну залежність між екскрецією білка та протеолітичною активністю за азоколом сечі пояснюємо тим, що з нормалізацією протеолізу в нирках зменшується ступінь інтерстиційного фіброзу і покращується функ-

ція проксимального канальця щодо реабсорбції білка. Встановлена позитивна кореляційна залежність між лізисом азоколу сечі та ферментативною фібринолітичною активністю сечі вказує на здатність урокінази активувати колагеназу.

**Висновок.** Захисний вплив урокінази на розвиток тубуло-інтерстиційного компонента проявляється підсиленням тканинного необмеженого протеолізу, зростанням фібринолітичної активності сечі, проксимальної та дистальної реабсорбції іонів натрію, зниженням величини протеїнурії.

**Література.** 1. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена.-Барнаул, 1972.- 200 с. 2. Братчик А.М. Клинические проблемы фибринолиза.-К.:Здоров'я, 1993.- 344 с. 3. Кухарчук А.Л. Влияние урокиназы на функцию почек при сулемовой нефропатии// Фармакология почек. Тезисы докладов третьей Всероссийской научной конференции.-Барнаул.-1990.- С. 60. 4. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис ... д-ра мед.наук: 14.03.05/ Буковинська держ. мед. академ.-Одеса, 1996.- 36 с. 5. Мазуров В.И., Лил А.М., Стернин Ю.И. Системная энзимотерапия.- СПб.: Моби Дик, 1996.- 206 с. 6. Мерзон А.К., Титаренко О.Т., Андреева Е.К. Сравнительная оценка методов химической индикации креатинина// Лаб. дело.-1970.- N. 7.- С. 416-418. 7. Михеева А.И., Богодарова И.А. К методике определения общего белка в моче на ФЭК-Н-56// Лаб. дело.-1969.-N. 7.- С. 441-442. 8. Ратнер М.Я., Серов В.В., Шумаков В.И. Роль тубуло - интерстициальных изменений в генезе быстрого прогрессирования хронического гломерулонефрита// Урология и нефрология-1995.- N 3.- С. 7-9. 9. Rogovoy Yu.E., Kukcharchuk O.L., Davidenko I.S. et al. The morpho-functional bases of development of interstitial component in poliuric stage of sublimite nephropathy// Вісник морфології-1998.-N 1.- С. 126-127. 10. Rogoviy Ю.Є. Особливості патогенезу тубуло-інтерстиційного компонента в мозковій речовині нирок при сулемовій нефропатії// Одеський медичний журнал.-1998.-N. 5.- С.22-24. 11. Rogoviy Ю.Є. Роль необмеженого протеолізу в патогенезі поліуричної стадії сулемової нефропатії// Одеський медичний журнал.-1999.-N 3.- С.22-25. 12. Рябов С.И., Наточин Ю.В. Функциональная нефрология.- СПб.: Лань, 1997.- 304 с. 13. Шюк О. Функциональное исследование почек.- Прага: Авиценум, 1981.- 344 с. 14. Shiiki H., Nishino T., Uyama H. et al. Clinical and morphological predictors of renal outcome in adult patients with focal and segmental glomerulosclerosis (FSGS)// Clin. Nephrol.-1996.- V. 46, N 6.- P. 362-368.

#### THE PROTECTIVE INFLUENCE OF UROKINASE ON THE DEVELOPMENT OF THE TUBULO-INTERSTITIAL COMPONENT INTO THE POLYURIC STAGE OF SUBLIMATE NEPHROPATHY

*Yu. Ye. Rogoviy*

**Abstract.** In experiments on 62 albino non-line male rats the protective influence of urokinase on the development of the tubulo-interstitial component was established. It was demonstrated by enhanced tissue unlimited proteolysis, increased urinary fibrinolytic activity, proximal and distal reabsorption of sodium ions, a decreased value of proteinuria .

**Key words:** urokinase; tubulo - interstitial component, unlimited proteolysis, fibrinolysis, renal function.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)