

О.М. Горошко, І.І. Заморський, О.В. Геруш, І.В. Геруш, І.М. Сахацька
 БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ЧЕРНІВЦІ

ЗМІНИ ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПЛАЗМИ КРОВІ, СЕЧІ ТА ТКАНИНИ НИРОК ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГОСТРІЙ НИРКОВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЯ КОРВІТИНОМ

В експерименті на білих щурах вивчено вплив корвітину на зміни протеолітичної активності плазми крові, сечі та тканини нирок щурів при гліцеровій гострій нирковій недостатності, викликаній внутрішньом'язовим введенням 50 % розчину гліцерину, та проведено корекцію корвітином. Корвітин вводили внутрішньоочеревинно у дозі 8 мг/кг протягом 7 діб один раз на день. Доведено, що корвітин відновлює протеолітичний потенціал рідин організму (плазми крові, сечі) й тканин нирок тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гостра ниркова недостатність, корвітин, протеолітична активність.

ВСТУП. У патогенезі розвитку ГНН важливе місце займає порушення окисно-відновних процесів внаслідок активації антиоксидантної системи вільнорадикального окиснення на фоні дисбалансу АОС [11]. Відомо, що окиснені білком притаманна підвищена чутливість до протеолізу, й фактично в організмі протеолітичному розщепленню піддаються окиснені білки, а не нативні [7]. У нормі існує динамічна рівновага між активністю протеаз та їх інгібіторів. Надмірна активація системи необмеженого протеолізу є важливою патогенетичною ланкою в розвитку деструктивних, запальних та алергічних реакцій [8]. Протеолітичні ферменти не тільки беруть участь у розщепленні білків у тканинах і травному тракті, але і мають регульовальне значення, оскільки є одним із механізмів біологічного контролю функцій органів і тканин організму [2]. Інкреторна діяльність нирок забезпечує баланс компонентів системи гемостазу, в т.ч. протеолітичної та фібринолітичної активності. Зміни в діяльності нирок можуть викликати порушення процесів протеолізу і фібринолізу та навпаки [10], тому пошук шляхів корекції цих процесів є актуальним.

Метою дослідження було вивчити зміни протеолітичної активності при гліцеровій моделі гострої ниркової недостатності та з'ясувати можливість впливу корвітину на її активність у сечі, плазмі крові й тканині нирок при тривалому використанні препарату.

© О.М. Горошко, І.І. Заморський, О.В. Геруш, І.В. Геруш, І.М. Сахацька, 2010.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проводили на 21 нелінійному білому щурі масою 120-180 г. Піддослідних тварин було поділено на такі групи: 1-ша – контроль, тваринам вводили внутрішньоочеревинно воду для ін'єкцій в об'ємі, що є еквівалентним кількості розчину корвітину; 2-га – створювали модельну патологію нирок і вводили внутрішньоочеревинно воду для ін'єкцій в об'ємі, що є еквівалентним кількості розчину корвітину; 3-тя – тварини, які після моделювання патології одержували корвітин.

ГНН викликали шляхом внутрішньом'язового введення 50 % розчину гліцерину в дозі 8 мг/кг [3]. Препарати корвітину (Борцагівський ХФЗ, 2003 р.) вводили внутрішньоочеревинно в дозі 8 мг/кг у перерахунку на кверцетин протягом 7 днів. Дозу цього лікарського засобу обрали з огляду на дані літератури [5, 6, 9].

Вплив препаратів кверцетину на функцію нирок у тварин досліджували за умов водного навантаження організму. Водне навантаження створювали шляхом внутрішньошлункового введення питної води кімнатної температури в об'ємі 5 % від маси тіла, після чого збирали сечу протягом 2 год. Щурів забували шляхом декапітації під легким ефірним наркозом, дотримуючись положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Забій тварин проводили на 48 год і 7 добу на фоні тривалого введення препаратів кверцетину.

Матеріалами дослідження були сеча, плазма крові, сироватка крові, гомогенат нирки. Ступінь пошкодження ниркової тканини при ГНН оцінювали за інтенсивністю протеолізу. Стан протеолітичної активності визначали на основі реакції з азосполуками [1]. Результати досліджень обробляли статистично за допомогою програми "Statgraphics" з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При дослідженні гліцеролової моделі ГНН (табл. 1-3) виявлено, що зміни стану крові відбувались при різкому пригніченні протеолітичної активності. За умов гліцеролової ГНН також знижувалися показники активності фібринолізу [4], ймовірно, внаслідок пошкодження проксимальних відділів каналців нефрону, що повинно було спричинити зменшення синтезу і, відповідно, активності урокінази. Зниження досліджуваних показників протеолітичної активності ми можемо пояснити одночасним зменшенням активності фібринолізу, оскільки процеси фібринолізу активують ферменти протеолізу.

Згідно з даними експерименту, при корекції ГНН корвітином протеолітична активність сечі була більшою щодо нелікованих тварин майже протягом усього експерименту. При багаторазовому введенні корвітину (табл. 1) відмічали підвищення протеолітичної активності сечі.

Так, на 48 год та 7 добу експерименту лізис альбуміну зріс в 1,6 раза при використанні корвітину; лізис азоказеїну зріс в 1,9 раза на 48 год експерименту та в 1,7 раза на 7 добу. Показники розпаду азоколу під впливом препарату збільшувались, порівняно з нелікованими тваринами, при семиденному введенні у 2,3 раза.

У плазмі крові піддослідних тварин (табл. 2) також мало місце відновлення протеолітичної активності при використанні корвітину. Отже, інтенсивність лізису низькомолекулярних білків перевищувала показники нелікованих щурів: лізис азоальбуміну зріс на 48 год в 1,5 раза, на 7 добу – в 2,1 раза. Протеолітична деструкція високомолекулярних білків, визначена за лізисом азоказеїну, збільшилась на 48 год в 1,7 раза, на 7 добу – в 1,8 раза. Колігенолітична активність плазми крові за лізисом азоколу під впливом препаратів кверцетину збільшувалася, порівняно з нелікованими тваринами, на 48 год у 2,6 раза.

Результати дослідження протеолітичної активності на тлі ГНН у тканині нирок (табл. 3) показали також достовірне зростання лізису азоальбуміну протягом експерименту. Так, на 48 год і 7 добу експерименту показники лізису азоальбуміну підвищились при використанні корвітину, відповідно, в 1,5 та 1,4 раза. Аналогічно зріс лізис азоказеїну при застосуванні корвітину: на 48 год і 7 добу експерименту – в

Таблиця 1 – Зміни протеолітичної активності сечі щурів при гліцероловій гострій нирковій недостатності після багаторазового введення корвітину ($M \pm m$, $n=7$)

Показники, які вивчали	Контроль	ГНН	ГНН+корвітин
		На 48 год експерименту	
Лізис азоальбуміну, $E_{440}/(мл \times год)$	$7,12 \pm 0,56$	$3,65 \pm 0,21$ $p_1 < 0,001$	$5,79 \pm 0,28$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$
Лізис азоказеїну, $E_{440}/(мл \times год)$	$6,79 \pm 0,39$	$3,43 \pm 0,29$ $p_1 < 0,001$	$6,57 \pm 0,44$ $p_2 < 0,001$
Лізис азоколу, $E_{440}/(мл \times год)$	$0,39 \pm 0,04$	$0,14 \pm 0,04$ $p_1 < 0,01$	$0,46 \pm 0,38$
На 7 добу експерименту			
Лізис азоальбуміну, $E_{440}/(мл \times год)$	$7,13 \pm 0,56$	$3,44 \pm 0,20$ $p_1 < 0,001$	$5,61 \pm 0,27$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$
Лізис азоказеїну, $E_{440}/(мл \times год)$	$6,79 \pm 0,39$	$3,93 \pm 0,19$ $p_1 < 0,001$	$6,86 \pm 0,61$ $p_2 < 0,001$
Лізис азоколу, $E_{440}/(мл \times год)$	$0,39 \pm 0,04$	$0,14 \pm 0,02$ $p_1 < 0,001$	$0,32 \pm 0,06$ $p_2 < 0,05$

Примітки в цій таблиці й усіх наступних:

1. ГНН – гостра ниркова недостатність.
2. p_1 – вірогідність відмінностей показників порівняно з контролем.
3. p_2 – вірогідність відмінностей показників порівняно з ГНН.

Таблиця 2 – Зміни протеолітичної активності плазми крові щурів при гліцероловій гострій нирковій недостатності після багаторазового введення корвітину ($M \pm m$, $n=7$)

Показники, які вивчали	Контроль	ГНН	ГНН+корвітин
		На 48 год експерименту	
Лізис азоальбуміну, $E_{440}/(\text{мл} \times \text{год})$	6,12±0,14	4,06±0,65 $p_1 < 0,01$	6,24±0,37 $p_2 < 0,05$
Лізис азоказеїну, $E_{440}/(\text{мл} \times \text{год})$	6,09±0,17	3,81±0,21 $p_1 < 0,001$	6,57±0,28 $p_2 < 0,001$
Лізис азоколу, $E_{440}/(\text{мл} \times \text{год})$	0,38±0,06	0,12±0,02 $p_1 < 0,01$	0,32±0,05 $p_2 < 0,01$
На 7 добу експерименту			
Лізис азоальбуміну, $E_{440}/(\text{мл} \times \text{год})$	6,12±0,14	2,72±0,13 $p_1 < 0,001$	5,69±0,32 $p_2 < 0,001$
Лізис азоказеїну, $E_{440}/(\text{мл} \times \text{год})$	6,09±0,17	3,56±0,17 $p_1 < 0,001$	6,28±0,21 $p_2 < 0,001$
Лізис азоколу, $E_{440}/(\text{мл} \times \text{год})$	0,38±0,06	0,14±0,02 $p_1 < 0,01$	0,28±0,09

Таблиця 3 – Зміни протеолітичної активності тканини нирок щурів при гліцероловій гострій нирковій недостатності після багаторазового введення корвітину ($M \pm m$, $n=7$)

Показники, які вивчали	Контроль	ГНН	ГНН+корвітин
		На 48 год експерименту	
Лізис азоальбуміну, $E_{440}/(\text{мл} \times \text{год})$	78,0±6,7	37,7±3,9 $p_1 < 0,001$	57,1±2,0 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$
Лізис азоказеїну, $E_{440}/(\text{мл} \times \text{год})$	79,7±6,3	50,6±2,4 $p_1 < 0,01$	66,2±1,5 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$
Лізис азоколу, $E_{440}/(\text{мл} \times \text{год})$	5,3±0,8	3,5±0,3 $p_1 < 0,05$	7,5±1,3 $p_2 < 0,01$
На 7 добу експерименту			
Лізис азоальбуміну, $E_{440}/(\text{мл} \times \text{год})$	78,0±6,7	40,1±3,3 $p_1 < 0,001$	57,4±3,2 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$
Лізис азоказеїну, $E_{440}/(\text{мл} \times \text{год})$	79,7±6,3	42,5±2,9 $p_1 < 0,001$	62,4±1,0 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$
Лізис азоколу, $E_{440}/(\text{мл} \times \text{год})$	5,3±0,8	2,1±0,3 $p_1 < 0,01$	6,8±0,4 $p_2 < 0,001$

1,3 та 1,5 раза відповідно. Інтенсивність розпаду азоколу також збільшувалась у лікованих тварин порівняно з нелікованими, що наведено в зазначеній вище таблиці: на 48 год – у 2,1 раза, на 7 добу – в 3,2 раза на тлі корвітину.

Отже, водорозчинний препарат кверцетину корвітин при тривалому використанні сприяв відновленню протеолітичної активності в організмі тварин з гліцероловою ГНН, що про-

являлось більшою мірою відновленням протеолізу білків.

ВИСНОВОК. Багаторазове застосування водорозчинного препарату кверцетину корвітину збільшує протеолітичну активність рідин організму і тканин нирок за умов ГНН, що дає підстави для проведення подальших клінічних досліджень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Веремеенко К.Н. Протеолиз в норме и патологии / К.Н. Веремеенко, О.П. Голобородько, А.И. Кизим. – К. : Здоров'я, 1988. – 199 с.
2. Веремеенко К.Н. Роль протеолиза в инвазии и метастазировании злокачественных опухолей (обзор литературы и собственных исследований) / К.Н. Веремеенко, Д.И. Заболотный, А.И. Кизим // Журн. АМН України. – 2002. – 2. – С. 217-237.
3. Викторов И.В. Роль оксида азота и других свободных радикалов в ишемической патологии мозга / И.В. Викторов // Вестник РАМН. – 2000. – № 4. – С. 5-11.
4. Горошко О.М. Вплив препаратів кверцетину на фібринолітичні процеси в організмі лабораторних щурів за умов гострої ниркової недостатності / О.М. Горошко, І.І. Заморський // V Міжнародна медико-фармацевтична конференція студентів та молодих вчених. – Хист. – 2008. – Вип. 10. – Чернівці, 2008. – С. 201.
5. Зупанець І.А. Дослідження гострої токсичності та середньоєфективних доз кверцетину при парантеральному введенні в умовах розвитку ниркової недостатності у щурів / І.А. Зупанець, С.К. Шебеко, Д.С. Харченко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2009. – № 1 (8). – С. 28-32.
6. Зупанець І.А. Дослідження ефективності корвітину при нирковій недостатності у щурів / І.А. Зупанець, С.К. Шебеко, Д.С. Харченко // Клінічна фармація в Україні : матеріали VII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 15-16 листоп. 2007 р., М-во охорони здоров'я України; Нац. фарм. ун-т. – Х., 2007. – С. 148-149.
7. Орлова Е.А. Протеолитическая активность ткани почек при стимуляции апоптоза на фоне введения даларгина / Е.А. Орлова // Укр. мед. альм. – 2002. – 5, № 6. – С. 106-108.
8. Орлова О.А. Динаміка протеолітичної активності в тканині нирок щурів за умов окиснювального стресу / О.А. Орлова // Укр. мед. альм. – 2002. – 5, № 5. – С. 98-99.
9. Chander V. Reversal of Experimental Myoglobinuria Acute Renal Failure in Rats by Quercetin, a Bioflavonoid / V. Chander, D. Singh, K. Chopra // Phamakologi. – 2004. – 2773, № 1. – P. 49-56.
10. Heidland A. Renal fibrosis: Role impaired proteolysis and potential therapeutic strategies / A. Heidland, K. Sebekova, L. Paczek // Kidney Int. – 1997. – 52. – P. 1-4.
11. Li P.F. Oxidative modification of bovine erythrocyte superoxide dismutase by hydrogen peroxide and ascorbate-Fe (III) / P.F. Li, Y.Z. Fang, X. Lu // Biochem. Mol. Biol. Int. – 1993. – 29, № 5. – P. 929-937.

А.М. Горошко, И.И. Заморский, О.В. Геруш, И.В. Геруш, И.М. Сахацкая
БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ

ІЗМЕНЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЛАЗМЫ КРОВИ, МОЧИ И ТКАНИ ПОЧЕК КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И ЕЁ КОРРЕКЦИЯ КОРВИТИНОМ

Резюме

В эксперименте на белых крысах изучено влияние корвитина на изменения протеолитической активности плазмы крови, мочи и ткани почек крыс при глицероловой острой почечной недостаточности, вызванной внутримышечным введением 50 % раствора глицерина, и проведено коррекцию корвитином. Корвитин вводили внутривентриально в дозе 8 мг/кг в течение 7 суток один раз в день. Доказано, что корвитин возобновляет протеолитический потенциал жидкостей организма (плазмы крови, мочи) и тканей почек животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острая почечная недостаточность, корвитин, протеолитическая активность.

O.M. Horoshko, I.I. Zamorskiy, O.V. Herush, I.V. Herush, I.M. Sakhatska
BUKOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI

CHANGES OF THE PROTEOLYTIC POTENCY OF RATS' BLOOD PLASMA, IN CASE OF EXPERIMENTAL ACUTE RENAL FAILURE AND THEIR CORRECTION BY CORVITINE

Summary

The effect of corvistine on the changes of the proteolytic potency of blood plasma, urine and renal tissue on glycerol acute renal failure associated with intramuscular injection of 50 % glycerin solution and their correction have been experimentally studied in white rats. A single intraperitoneal injection of corvistine has been introduced during 7 days in dosage 8 mg/kg. The study has showed that corvistine renews the impaired proteolytic potency of body fluids (blood plasma, urine) and renal tissue in animals.

KEY WORDS: acute renal failure, corvitin, proteolytic activity.

Отримано 20.10.10

Адреса для листування: О.М. Горошко, вул. Кочубея, 40/14, Чернівці, 58003, Україна.