

Роговий Ю.Є., Савка В.Г.

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ КОРЕЛЯЦІЙНО-ОПТИЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ КІРКОВОЇ РЕЧОВИНИ НИРОК ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ТУБУЛО-ІНТЕРСТИЦІАЛЬНОГО СИНДРОМУ

Буковинський державний медичний університет, Чернівецький національний університет

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ КОРЕЛЯЦІЙНО-ОПТИЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ КІРКОВОЇ РЕЧОВИНИ НИРОК ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ТУБУЛО-ІНТЕРСТИЦІАЛЬНОГО СИНДРОМУ – У досліджах на 32 білих нелінійних щурах-самцях за умов розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому встановлено в кірковій речовині нирок розростання сполучної тканини за збільшенням вмісту оксипроліну, що підтверджено застосуванням кореляційно-оптичної діагностики із зростанням вмісту кристалічної речовини за зниження аморфної. Виявлені порушення пояснюються розростанням оптично активної сполучної тканини в інтерстиції, потовщенням базальних мембран ниркових каналців та фіброзною трансформацією нефроцитів.

ПАТОФІЗІОЛОГІЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КОРРЕЛЯЦИОННО-ОПТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ КОРКОВОГО ВЕЩЕСТВА ПОЧЕК ПРИ УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ТУБУЛО-ИНТЕРСТИЦИОНАЛЬНОГО СИНДРОМА – В исследованиях на 32 белых нелинейных крысах-самцах при условиях развития тубуло-интерстициального синдрома установлено в корковом веществе почек разрастания соединительной ткани при увеличении содержания оксипролина, что подтверждено применением корреляционно-оптической диагностики из возрастанием содержания кристаллического вещества при снижении аморфной. Выявленные нарушения объясняются разрастанием оптично активной соединительной ткани в интерстиции, утолщением базальных мембран почечных канальцев и фиброзной трансформацией нефроцитов.

PATHOPHYSIOLOGICAL ANALYSIS OF CORRELATION-OPTICAL DIAGNOSTICS OF THE RENAL CORTICAL SUBSTANCE UNDER CONDITIONS OF TUBULO-INTERSTITIAL SYNDROME DEVELOPMENT – In experiments on 32 albino nonlinear male rats under conditions of tubulo-Interstitial syndrome development it has been established that there exists an enlargement of the connective tissue in case of an increased content of oxyproline, the latter being proved by the use of correlation-optical diagnostics due to an elevated content of a crystalline substance and a decrease of an amorphous substance. The revealed disturbances are accounted for by an enlargement of optically active connective tissue in the interstitium, thickening of the basic membranes of the renal tubules and fibrous transformation of nephrocytes.

Ключові слова: тубуло-інтерстиціальний синдром, нирки, функція, кореляційно-оптична діагностика.

Ключевые слова: тубуло-интерстициальный синдром, почки, функция, корреляционно-оптическая диагностика.

Key words: tubulo-Interstitial syndrome, kidneys, function, correlation-optical diagnostics.

ВСТУП Діагноз тубуло-інтерстиціального синдрому в клініці та експерименті встановлюється на основі гістологічного дослідження ниркової тканини з виявленням пошкодження каналців нефрону та інтерстицію з явищами набряку, інфільтрації клітинними елементами, дифузним розростанням сполучної тканини [5, 7]. Маркером синтезу колагену є оксипролін, що дає можливість за кількісним визначенням цієї амінокислоти судити про ступінь колагеногенезу [6]. В каналцях кіркової речовини нирок виявляє високу активність ферменту циклу Кребса - сукцинатдегідрогенази, яка характеризує енергетичний стан каналців і є дуже чутливою до пошкодження [8]. На сьогодні зростає інтерес до кореляційно-оптичної діагностики тубуло-інтерстиціального синдрому, який дає можливість виявити ступінь розростання колагену як кристалічної речовини [1, 9, 11]. Водночас даний метод для оцінки цієї патології в кірковій речовині нирок практично не застосовувався.

Мета дослідження. Провести патофізіологічний аналіз можливостей кореляційно-оптичної діагностики кіркової речовини нирок при розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Досліди проведено на 32 білих нелінійних щурах-самцях масою 0,16-0,18 кг за умов гіпонатрієвого раціону харчування. Тубуло-інтерстиціальний синдром моделювали шляхом одноразового введення сулеми підшкірно в дозі 5 мг/кг маси тіла з проведенням дослідження на 30-ту добу поліурічної стадії нефропатії [6].

Функцію нирок вивчали шляхом введення щурам водопровідної води в шлунок в кількості 5 % від маси тіла за допомогою металевого зонда, з подальшим збором сечі впродовж двох год. Величину діурезу (V) оцінювали в мл/2 год/100 г маси тіла. Негайно після збору сечі проводили евтаназію тварин шляхом декапітації під ефірним наркозом. Кров збирали в пробірки з гепарином. У плазмі крові і сечі визначали концентрацію креатиніну за реакцією з пікриновою кислотою. 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. Визначали рН сечі та розраховували екскрецію іонів водню. Нирки швидко вилучали і заморожували в рідкому азоті. У кірковій ділянці нирок визначали активність сукцинатдегідрогенази [КФ 1.3.99.1, використовуючи сіль 2,3,5 -трифенілтетразолію хлориду, вміст оксипроліну та протеолітичну активність за лізісом азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену [4]. Фібринолітичну активність сечі оцінювали за лізісом азофібрину з розрахунком сумарної (СФА), ферментативної (ФФА) та неферментативної (НФА) фібринолітичної активності [2].

Для морфологічного підтвердження розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому проводили гістологічні дослідження із забарвленням депарафінованих зрізів за Слінченком та сріблення за Джонсом-Моурі. Проводили поляризацийне мікроскопічне лазерне дослідження гістологічних зрізів кіркової речовини нирок у нормі та за умов розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому [3, 10]. Статистичну обробку даних проводили за допомогою програм "Statgrafics" та "Excel 7.0".

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Розвиток тубуло-інтерстиціального синдрому встановлено на 30-ту добу поліурічної стадії сулемової нефропатії, який характеризувався явищами дистрофії ниркових каналців та змінами інтерстицію у вигляді клітинних інфільтратів набряку, склерозу. В цей час виявлено у кірковій ділянці нирок зростання вмісту маркера колагеногенезу - оксипроліну та зниження активності сукцинатдегідрогенази (рис. 1). Підсилення колагеногенезу спостерігалось на фоні гальмування протеолізу за азоальбуміном, азоказеїном, у кірковій ділянці нирок. Зростання протеолізу за азоколагеном можна розцінювати як прояв дисрегенеративної за рахунок процесів вторинної деструкції сполучної тканини. Діурез не змінювався, виявлено гіперфільтрацію, зниження екскреції іонів водню, рН та сумарної, ферментативної і неферментативної фібринолітичної активності сечі. Кореляційно-оптична діагностика кіркової речовини нирок виявила наявність кристалічної та аморфної речовини в цій ділянці нирок. За умов розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому на 30-ту добу сулемової нефропатії спостерігалось зростання вмісту кристалічної за зниження аморфної речовини в кірковій ділянці нирок (табл. 1; рис. 2).

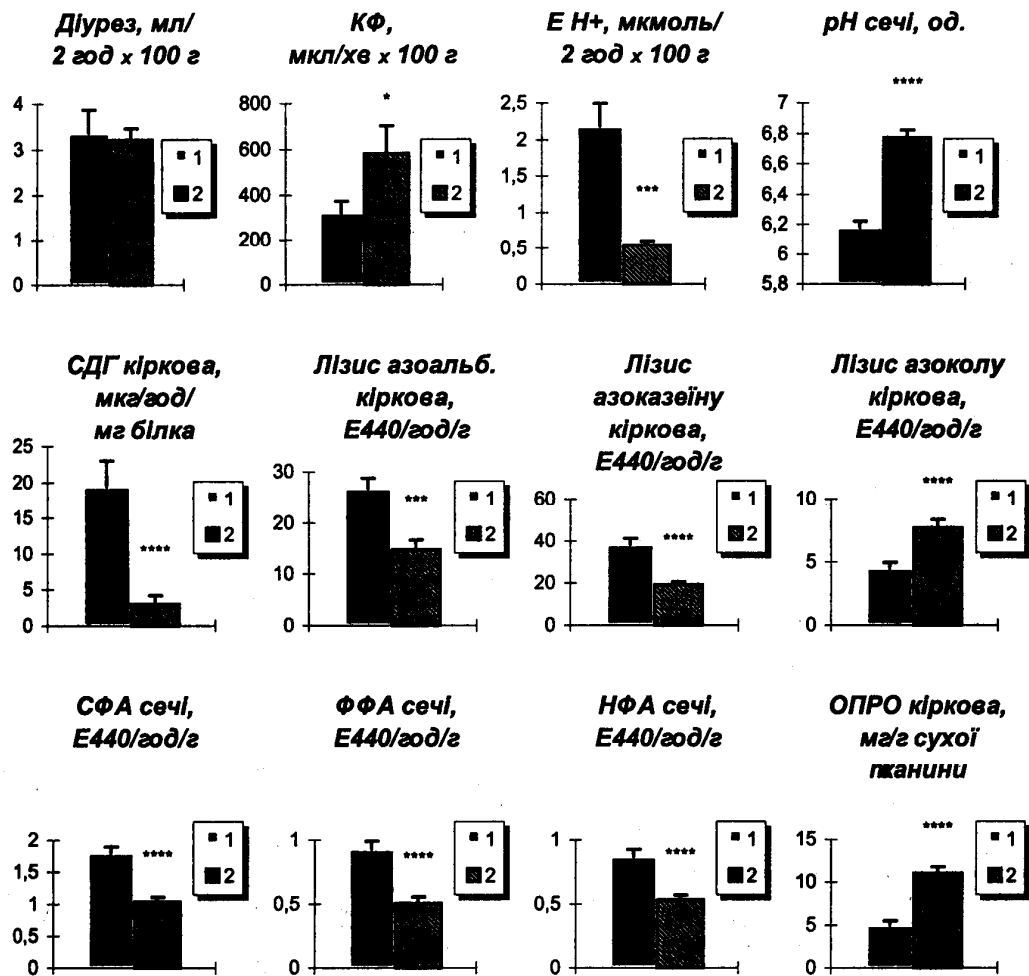


Рис. 1. Функціонально-біохімічний стан нирок у поліурічну стадію сулемової нефропатії за умов розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому ($x \pm Sx$). 1 - контроль, 2 - пізня поліурічна стадія на момент формування тубуло-інтерстиціального синдрому. КФ - клубочкова фільтрація; $E H^+$ - екскреція іонів водню; СДГ - активність сукцинатдегідрогенази; СФА, ФФА, НФА - сумарна, ферментативна, неферментативна фібринолітична активність; ОПРО - оксипролін. Вірогідність різниць відзначено: * - $p < 0,05$; *** - $p < 0,01$; **** - $p < 0,001$ порівняно до контролю.

Таблиця 1. Вміст кристалічної та аморфної речовини в кірковій ділянці нирок за умов розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому на 30-ту добу сулемової нефропатії за даними кореляційно-оптичної діагностики ($x \pm Sx$)

Показники	Контроль (n= 12)	Тубуло-інтерстиціальний синдром (n= 12)
Вміст кристалічної речовини, %	38,81±0,249	47,63±0,235 $p < 0,001$
Вміст аморфної речовини, %	60,35±0,921	52,36±0,236 $p < 0,001$
Співвідношення аморфна речовина/ кристалічна речовина, од.	1,58±0,017	1,09±0,010 $p < 0,001$

p - достовірність різниць порівняно з контролем; n - число спостережень.

Тлумачення отриманих результатів полягає в такому. Дифузний інтерстиціальний фіброз у кірковій ділянці нирок за умов розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому із зростанням маркера колагеногенезу - оксипроліну обумовлений колагеностимулювальним впливом вазоконстрикторного олігопептиду ангіотензину II, який зростає в кірковій ділянці нирок внаслідок активації ренін-ангіотензи-

нової системи за цієї патології [6]. Склерозування інтерстицію призводить до гіпоксії ниркових каналців, викликає розлади енергетичного обміну і супроводжується зниженням активності сукцинатдегідрогенази в кірковій ділянці нирок за умов розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому.

Енергодефіцит призводить до порушення кислоторегульовальної функції нирок, на що вказує зниження екскреції

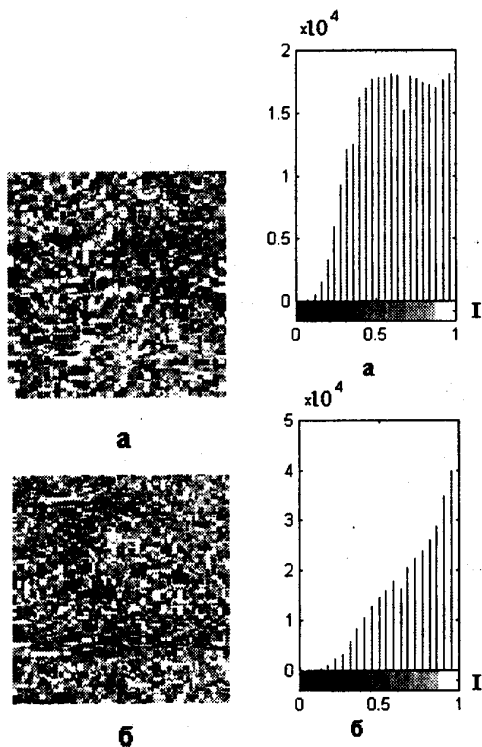


Рис. 2. Поляризаційне мікроскопічне лазерне зображення гістологічних зрізів кіркової речовини нирок у нормі (рис. 2а) та за умов розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому (рис. 2б). Всі зображення відповідають схрещеним ($\alpha_0 - \Theta = 0.5\pi$) співвідношенням між азимутом поляризації

α_0 пучка, що освітлює зразок, та кутом повороту осі пропускання аналізатора Θ . Архітектура тканини нирки характеризується виразною оптичною анізотропією, - поляризаційні зображення являють собою координатно розподілені, відмінні від нуля, значення інтенсивності $I''_k(X, Y)$

іонів водню та рН сечі. Гіперфільтрація викликає утворення бета-трансформувального фактору росту, який гальмує протеоліз і сприяє нефросклерозу [6].

Таким чином, за умов розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому встановлено в кірковій речовині нирок розростання сполучної тканини за збільшенням вмісту оксипроліну, що надходить підтвердження за даними кореляційно-оптичної діагностики із зростанням вмісту кристалічної речовини. Збільшення вмісту кристалічної речовини за зниження вмісту аморфної речовини пояснюється розростанням оптично активної сполучної тканини в інтерстиції, потовщенням базальних мембран ниркових канальців та фіброзною трансформацією нефроцитів.

ВИСНОВКИ 1. Дослідження кіркової речовини нирок за допомогою застосування кореляційно-оптичної діагностики показує наявність оптично інертної аморфної та оптично активної кристалічної речовини.

2. За умов розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому встановлено в кірковій речовині нирок розростання сполучної тканини за збільшенням вмісту оксипроліну, що підтверджено застосуванням кореляційно-оптичної діагностики із зростанням вмісту кристалічної речовини за зниження вмісту аморфної речовини. Ці порушення пояснюються розростанням оптично активної сполучної тканини в інтерстиції, потовщенням базальних мембран ниркових канальців та фіброзною трансформацією нефроцитів.

Перспектива наукового пошуку. Представляють інтерес подальші наукові дослідження щодо з'ясування можливостей використання кореляційно-оптичної діагностики для оцінки формування патологічних змін у мозковій речовині та сосочку нирок за умов розвитку тубуло-інтерстиціального синдрому.

Література

1. Ангельський О.В., Ушенко А.Г., А.Д.Архелюк и др. Лазерная поляриметрия патологических изменений биотканей // Опт. и спектр. - 2000. - Т. 89, № 6. - С. 1050-1055.
2. Декларацийний пат. 30727 Україна. МПК G 01 N 33/48 Спосіб визначення тканинної фібринолітичної активності: Декларацийний пат. 30727 Україна. МПК G 01 N 33/48/ Б.М. Боднар, О.Л. Кухарчук, В.М. Магальяс, Я.І. Пенішквич, О.В. Пішак, Ю.Є. Роговий, В.І. Сливка, В.П. Шаловалов (Україна). - № 98042121. Заявл. 28. 04. 1998. Опубл. 15. 12. 2000. Бюл. № 7-11. - 2 с.
3. Лазерна поляриметрична діагностика в біології та медицині / Пішак В.П., Ушенко О.Г., Ангельський О.В. та ін./ За ред. Пішака В.П. та Ушенко О.Г. - Чернівці: Медакадемія, 2000. - С.194-205.
4. Магальяс В.М., Міхеєв А.О., Роговий Ю.Є. та ін. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії. - Навчально-методичний посібник. - Чернівці: Буковинська державна медична академія, 2001. - 42 с.
5. Пішак В.П., Білоокій В.В., Роговий Ю.Є. Універсальність ушкодження проксимального канальця при захворюваннях нирок // Клінічна та експериментальна патологія. - 2005. - Т. 4, № 1. - С. 72 -76.
6. Пішак В.П., Гоженко А.І., Роговий Ю.Є. Тубуло-інтерстиціальний синдром. - Чернівці: Медакадемія, 2002. - 221 с.
7. Роговий Ю.Є., Бойко О.В., Філіпова Л.О. та ін. Метод дослідження фізико-хімічних проявів ниркового канальцево-інтерстиціального синдрому // Патологія. - 2004. - Т. 1, № 1. - С. 72-73.
8. Роговий Ю.Є., Гоженко А.І., Магальяс В.Н. Спосіб определения повреждения отделов нефрона // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. - 2003. - Т. 1, № 2. - С. 73 - 74.
9. Тучин В.В. Исследование биотканей методами светорассеяния // Успехи физ.наук. - 1997. - Т. 167, №5. - С.517-539.
10. Angelsky O.V., Ushenko A.G., Burkovets D.N., Ushenko Yu.A. Laser polarization visualization and selection of biotissue images // Optica Applicata. - 2002. - Vol. 32, № 4.
11. Ushenko A. Laser biospeckles' fields vector structure and polarization diagnostics of skin collagen structure // Laser Physics. - 2000. - V.10, № 5. - P.1143-1149.
12. Ushenko A.G. Polarization correlometry and wavelet analysis of dynamics of changes in orientation-phase structure of tissue architectonics // Proc SPIE - 2002. - V., 4900. - P. 1323-1326.