

УДК 616.61-092-085.355

В. П. Пішак, Ю. Є. Роговий, В. П. Шаповалов, М. В. Халатурник, І. А. Палагнюк

ОСОБЛИВОСТІ ПАТОГЕНЕЗУ ТУБУЛО-ІНТЕРСТИЦІЙНОГО СИНДРОМУ В СОСОЧКАХ НИРОК І ЗАСТОСУВАННЯ WOBЕ MUGOS E ДЛЯ ЙОГО КОРЕКЦІЇ

Буковинська державна медична академія, Чернівці

Тубуло-інтерстиційний син-
дром як поєднану патологію
каналців й інтерстицію на

рівні кіркової та мозкової речо-
вин і сосочків нирок визнано
провідним фактором, який

визначає розвиток швидко-
прогресуючого та хронічного
патологічного процесу цього

органа [2]. Обґрунтовано застосування препаратів системної ензимотерапії для патогенетичної корекції цієї патології [2]. Слід зауважити, що патогенез тубуло-інтерстиційного синдрому досить глибоко з'ясований для кіркової [5] та мозкової речовин нирок [4]. Водночас механізм розвитку цього синдрому на рівні ниркового сосочка, який має істотні морфологічні, функціональні, біохімічні відмінності від кіркової та мозкової речовин нирок [2; 11], з'ясовано недостатньо. Крім того, недостатньо вивчено роль препарату системної ензимотерапії Wobe Mugos E (комплексу папаїну, трипсину та хімотрипсину) як засобу корекції тубуло-інтерстиційного синдрому на рівні цієї ділянки нирок.

Мета дослідження — з'ясувати особливості патогенезу тубуло-інтерстиційного синдрому в сосочках нирок та обґрунтувати доцільність застосування Wobe Mugos E як засобу корекції цієї патології.

Матеріали та методи дослідження

В експериментах на 32 самцях білих нелінійних щурів масою 0,16–0,18 кг досліджували патогенез тубуло-інтерстиційного синдрому в сосочках нирок, який моделювали шляхом одноразового введення сулеми дозою 5 мг/кг маси тіла. Дослідження проводили на 1-шу, 30-ту, 60-ту добу після введення двохлористої ртуті за умов гіпонатрієвого раціону харчування [2]. Функція нирок вивчалася за умов вод-

ного індукованого діурезу (50 мл/кг маси тіла) [6]. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації під ефірним наркозом.

Для виявлення простаноїдів сосочки нирок заморожували в рідкому азоті з подальшою їх екстракцією на мікроколонках C_{18} (Amrger, Англія) з елюацією на етилацетаті. Після випарювання елюату й відновлення осаду в фосфатному буфері (pH 7,4) радіоімунним методом визначали вміст у сосочках нирок простагландину E_2 за допомогою набору фірми Seragen Inc., США; простагландину $F_{2\alpha}$, використовуючи набори фірми Institute of Isotopes of Hungarian Academy of Sciences, Угорщина. Активність визначали на комплексі «Гамма-12».

Тканинний фібриноліз у сосочках нирок оцінювали за лізисом азофібрину, визначали сумарну (СФА), неферментативну (НФА) — (інкубація проб у присутності блокатора ферментативного фібринолізу ϵ -амінокапронової кислоти) і ферментативну фібринолітичну активність (ФФА), яку розраховували за формулою: $ФФА = СФА - НФА$ [1]. Стан необмеженого протеолізу в сосочках нирок оцінювали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну й азоколу [2].

Проводили гістологічні дослідження із забарвленням депарафінованих зрізів гематоксилін-еозином за Слінченком, PAS-реакцію, сріблення за Джонсом — Моурі [2; 9].

Щодня Wobe Mugos E вводили внутрішньочеревинно

дозою 8,5 мг/кг маси тіла в 0,2 мл 1%-го розчину лідокаїну впродовж 30 діб розвитку поліурічної стадії сулемової нефропатії [2].

Весь цифровий матеріал статистично оброблено методами параметричної статистики за допомогою програм "Statgrafics" та "Excel 7.0".

Результати дослідження та їх обговорення

Результати досліджень показали розвиток тубуло-інтерстиційного синдрому на 30-ту добу сулемової нефропатії в сосочках нирок. Формування цього синдрому характеризувалося початковою гіперфункцією цієї ділянки нирок з двократним підсиленням синтезу простагландинів E_2 ($P < 0,001$) і $F_{2\alpha}$ ($P < 0,001$) через 24 год після введення сулеми з наступною фіброзною трансформацією інтерстиційних клітин II типу цієї ділянки нирок і розвитком дифузного фіброзу на 30-ту добу після введення двохлористої ртуті (рис. 1, б). На 60-ту добу сулемової нефропатії, виявлено ознаки вторинної деструкції цих клітин (рис. 1, в), які набували великих розмірів, павукоподібної форми з довгими відростками. Контури клітин були нерівними, їх відростки у багатьох місцях виглядали фрагментованими та надірваними, тобто розпадалися. Ці клітини розміщувалися вкрай нерегулярно, нашаровувалися одні на одних, перепліталися між собою [3].

Дослідження з використанням PAS-реакції показали де-

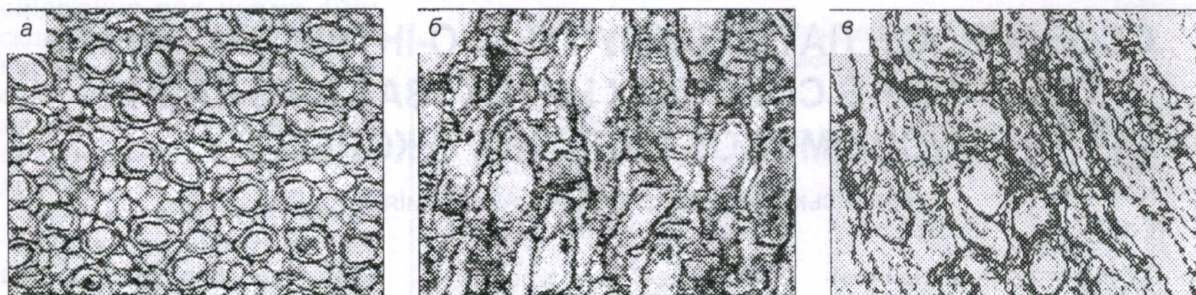


Рис. 1. Сосочок нирки. Сріблення за Джонсом — Моурі: а — контроль; б — 30-та доба сулемової нефропатії; в — 60-та доба сулемової нефропатії. $\times 90$

струкцію базальних мембран, наявність уротромбозу та безпосереднього контакту колагенових волокон з фібрином (рис. 2, б) на 30-ту добу сулемової нефропатії. У цей же термін при забарвленні гематоксилін-еозином (рис. 3, б) виявлено збільшення об'єму інтерстиційного простору, інфільтрацію стромі клітинними елементами (макрофагами, нейтрофілами), атрофію збірних каналців і петлі нефрону. Дослідження фібринолітичної та протеолітичної активності сосочків нирок показало зниження сумарної, ферментативної, неферментативної фібринолітичної активності і лізису азоальбуміну, азоказеїну й азоколу за умов розвитку тубуло-інтерстиційного синдрому на 30-ту добу сулемової нефропатії (рис. 4). Застосування препарату Wobe Muges E виявляло захисну дію на зазначені види тканинного фібринолізу та протеолізу. Цікаво, що ферментативна фібринолітична активність у сосочку нирки за умов формування ту-

було-інтерстиційного синдрому позитивно корелювала з величиною діурезу (рис. 5).

Тлумачення отриманих результатів полягає у зниженні активності тканинного фібринолізу, що відіграє важливу роль на рівні ниркового сосочка, тому що основою фібринолітичної системи нирок є урокіназа, яка продукується проксимальним відділом нефрону і юктагломерулярним апаратом, надходить у просвіт нефрону, концентрується разом із сечею і забезпечує високий рівень фібринолізу на рівні сосочків нирок у нормі. За умов розвитку тубуло-інтерстиційного синдрому ушкодження проксимального відділу нефрону сулемою призводило до порушення синтезу в ньому урокінази, яка в недостатній кількості надходила у просвіт нефрону, не концентрувалася до необхідного рівня в сосочках, що призводило внаслідок зниження сумарної, ферментативної та неферментативної фібринолітичної активності сосочків нирок до розвитку

уротромбозу збірних каналців. Локалізацію тромбів у просвіті збірних каналців сосочка підтверджено великим розміром тромбів, який значно перевищував діаметр судин у цій ділянці нирок, і позитивною кореляційною залежністю між ферментативною фібринолітичною активністю сосочків нирок і діурезом. У подальшому тромби були основою для фіброзогенезу, що підтверджено наявністю контакту колагенових волокон із фібрином та інфільтрацією макрофагами цієї ділянки нирок. Стимулювальний вплив ангіотензину II на інтерстиційні клітини II типу сосочків нирок призводив до їх початкової гіперфункції з підсиленням синтезу простагландинів E_2 і $F_{2\alpha}$ з подальшою фіброзною трансформацією цих клітин і розвитком дифузного фіброзу [7; 12].

Нагромадження в цій ділянці нирки хемотрактантів типу лейкотрієну B_4 призводило до інфільтрації стромі клітинними елементами з реалізацією процесу макрофагально-фібробластичної взаємодії, що сприяло прогресуванню склерозу. Зниження інтенсивності необмеженого протеолізу в сосочках нирок за розвитку тубуло-інтерстиційного синдрому призводило до дисбалансу між анаболізмом і катаболізмом у сполучній тканині та підсилення синтезу колагену, що обумовлювало розвиток склерозу цієї ділянки нирок.

Виявлені явища вторинної деструкції фіброзно-трансформованих інтерстиційних клітин II типу сосочків нирок на 60-ту добу сулемової нефропатії були подібними до тих змін, що спостерігав Леонард Гейфлік при досягненні клітинами генетично запрограмованої межі поділу (50 разів) [3; 8]. Патогенез тубуло-інтерстиційного синдрому на рівні сосочків слід розглядати не тільки як результат ушкодження сегментів нефрону і наявність підсилення розростан-

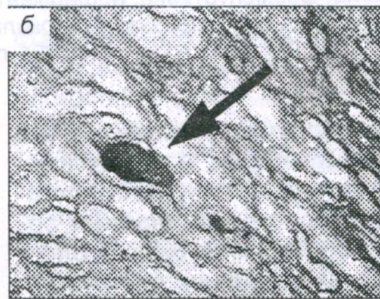
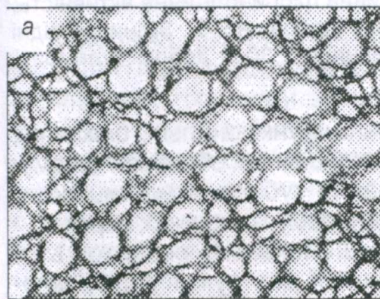


Рис. 2. Сосочок нирки: а — контроль; б — уротромбоз із наявністю безпосереднього контакту колагенових волокон з фібрином (▲) на 30-ту добу сулемової нефропатії. PAS-реакція. $\times 90$

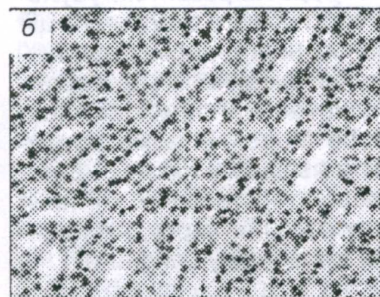
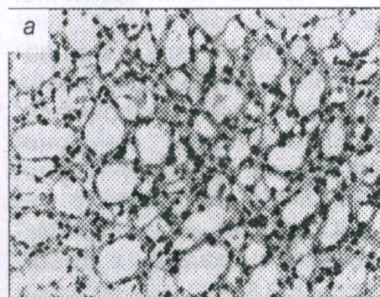


Рис. 3. Сосочок нирки: а — контроль; б — склероз сосочка нирки зі збільшенням об'єму інтерстиційного сектора, інфільтрацією стромі клітинними елементами на 30-ту добу сулемової нефропатії. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 90$

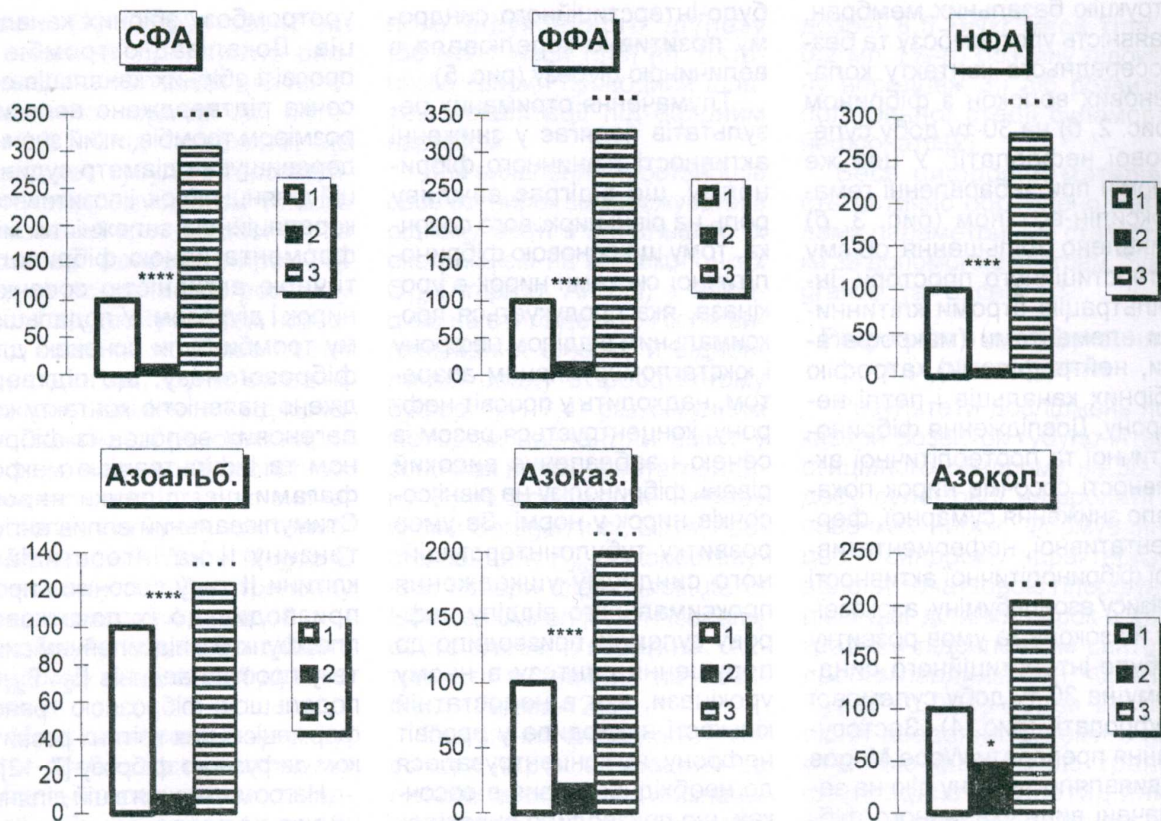


Рис. 4. Вплив Wobe Muges E на фібринолітичну та протеолітичну активність сосочків нирок на 30-ту добу сулемової нефропатії, $\bar{x} \pm Sx$: 1 — контроль; 2 — 30-та доба сулемової нефропатії; 3 — 30-та доба сулемової нефропатії на фоні застосування Wobe Muges E

Примітка. СФА, ФФА, НФА — сумарна, ферментативна, неферментативна фібринолітична активність, %; Азоальб., Азоказ, Азокол. — лізис азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену відповідно, %. Зміни вірогідні порівняно з контролем: * — $P < 0,05$; **** — $P < 0,001$; — $P < 0,001$ порівняно з 30-ю добою сулемової нефропатії.

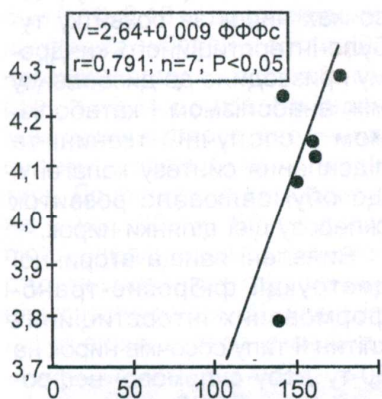


Рис. 5. Регресійний аналіз ферментативної фібринолітичної активності сосочка нирки і діурезу на 30-ту добу сулемової нефропатії

Примітка. Вісь абсцис: ФФА_c — ферментативна фібринолітична активність, E₄₄₀/год/г; вісь ординат: V — діурез, мл/2 год/100 г; r — коефіцієнт кореляції; P — вірогідність кореляційного зв'язку; n — кількість спостережень.

ня сполучної тканини в цій ділянці нирок, а також приділяти увагу тому, що інтерстиційна сполучна тканина сосочків нирок за цієї патології зазнає вторинних деструктивних змін, що визначається як дизрегенерація [10]. Препарат Wobe Muges E проявляє захисну дію на розвиток тубуло-інтерстиційного синдрому в цій ділянці нирок, нормалізує тканинний фібриноліз і протеоліз. Водночас малоімовірно, що Wobe Muges E може протидіяти явищам вторинної деструкції інтерстиційних клітин II типу сосочків нирок, які досягли межі поділу Гейфліка.

Висновки

1. У досліджах на білих нелінійних щурах-самцях на моделі сулемової нефропатії з'ясо-

вано функціональні, біохімічні, гістологічні особливості формування тубуло-інтерстиційного синдрому в сосочках нирок.

2. Показано розвиток вторинної деструкції у фіброзно-трансформованих інтерстиційних клітинах II типу цієї ділянки нирок, що пояснюється досягненням ними критичної межі поділу Гейфліка.

3. Wobe Muges E має захисний вплив на стан тканинного фібринолізу та необмеженого протеолізу в сосочках нирок за умов розвитку тубуло-інтерстиційного синдрому.

Обґрунтованою є перспективність подальших досліджень для з'ясування ролі вторинних деструктивних змін сполучної тканини у патогенезі тубуло-інтерстиційного синдрому та можливостей профі-

лактики прискороного досягнення інтерстиційними клітинами II типу сосочків нирок межі поділу Гейфліка.

ЛІТЕРАТУРА

1. Деклараційний патент 30727 Україна. МПК G 01 N 33/48 Спосіб визначення тканинної фібринолітичної активності: Деклараційний пат. 30727 Україна. МПК G 01 N 33/48/ 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.
2. Пішак В. П., Гоженко А. І., Роговий Ю. Є. Тубуло-інтерстиційний синдром. — Чернівці: Медакадемія, 2002. — 221 с.
3. Прокопчук В. С. Нова теорія атеросклерозу // Бук. мед. вісник. — 1998. — № 3-4. — С. 203-210.
4. Роговий Ю. Є. Особливості патогенезу тубуло-інтерстиційного компонента в мозковій речовині нирок при сулемовій нефропатії // Одес. мед. журнал. — 1998. — № 5. — С. 22-24.
5. Роговий Ю. Є. Функционально-биохимические особенности формирования тубуло-интерстициального компонента при сулемовой нефропатии // Урол. и нефрология. — 1997. — № 4. — С. 15-17.
6. Рябов С. И., Наточин Ю. В. Функциональная нефрология. — Спб.: Лань, 1997. — 304 с.
7. Ультроструктурные изменения интерстициальных клеток мозгового вещества почек кроликов-сосунок при экспериментальной холере / Н. Г. Харланова, Ю. М. Ломов, Т. И. Ткачева, Э. А. Бардахьян // Морфология. — 1996. — Т. 109, № 3. — С. 67-71.
8. Хейфлик Л. Клеточные основы старения человека // Молекулы и клетки. — М.: Мир, 1982. — С. 134-148.
9. Цибель Б. П. Методика выявления базальных мембран и соединительной ткани клубочка // Архив патол. — 1962. — № 3. — С. 77-79.
10. Шехтер А. Б., Серов В. В. Воспаление, адаптивная регенерация и дисрегенерация (анализ межклеточных взаимодействий) // Архив патол. — 1991. — Т. 53, № 7. — С. 7-14.
11. Pfaller W., Rittinger M. Quantitative morphology of the rat kidney // Int. J. Biochem. — 1980. — Vol. 12, N 1. — P. 17-20.
12. Weber K. T. Hormones and Fibrosis: A case for lost reciprocal regulation // News in physiological sciences. — 1994. — Vol. 9, N 6. — P. 123-128.