

Л.О. Філіпова, Н.Д. Філінець, О.В. Бойко

МЕХАНІЗМИ ПОРУШЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ
НИРОК ПРИ САЛЬМОНЕЛЬОЗНІЙ ЕНДОТОКСИНЕМІЇКафедра патологічної фізіології (зав. – проф. В.Ф. Мислицький)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. В експериментах на 78 самцях білих щурів досліджена роль змін регуляції агрегатного стану крові в механізмах порушення екскреторної функції нирок і каналцевого транспорту натрію при сальмонельозній ендотоксинемії. Показано, що порушення функціонального стану нирок виявляються вже в перші години ендотоксикозу, а структурний рівень їх ушкодження локалізований як у клубочках, так і в проксимальних каналцях. Ендотоксин збільшує прокоагуляційний потенціал і фібринолітичну активність крові, але пригнічує ферментативний фібриноліз у нирках. Результати дослідження свідчать про переважність ендотеліальних ушкоджень та внутрішньоклубочкового фібриногенезу, проте чинники, які безпосередньо викликають пригнічення ферментативного фібринолізу і денудацию гломерулярних капілярів при сальмонельозній ендотоксинемії, підлягають подальшому вивченню.

Ключові слова: ендотоксин, нирки, гемостаз, ендотелій, фібрин.

Вступ. Гостра ниркова недостатність (ГНН) залишається однією з найактуальніших проблем медицини. Зокрема, висока смертність при інфекційно-токсичному шоку в 30–50% випадків зумовлена ГНН [8].

Відомо, що істотна роль у розвитку ГНН належить порушенню регуляції агрегатного стану крові, оскільки відкладання фібрину в клубочках викликає оклюзію гломерулярних капілярів, спричиняє пряму цитотоксичну дію на клітини мезангію і порушує механізми ультрафільтрації [10]. З іншого боку, сальмонельозний ендотоксикоз супроводжується активацією гемостатичних систем, що нерідко набуває форми дисемінованого або локального внутрішньосудинного згортання крові [3]. Зв'язок між змінами коагуляційного потенціалу крові і порушенням функціонального стану нирок за цієї патології вивчено недостатньо.

Мета дослідження. Визначити роль змін регуляції агрегатного стану крові в механізмах порушення екскреторної функції нирок і каналцевого транспорту натрію при сальмонельозній ендотоксинемії.

Матеріал і методи. Експерименти проведені на 78 самцях білих щурів масою тіла 0,16–0,18 кг. Сальмонельозну ендотоксинемію моделювали внутрішньоочеревинним введенням ендотоксину *Salmonella typhi murium* у дозі 100 мкг/кг маси тіла за 2 год до водного навантаження, яке проводили водогінною водою в об'ємі 5% від маси тіла з подальшим збором сечі впродовж 2 год. Евтаназію тварин виконували методом декапітації під ефірною анестезією. Кров збирали в охоложені пробірки, використовуючи гепарин або цитрат натрію як стабілізатор. Нирки одразу заморожували в рідкому азоті.

Концентрацію креатиніну в сечі визначали за методом Фоліна, у плазмі крові – за методом Поппера в модифікації А.К. Мерзона [6]. Концентрації натрію в сечі і плазмі крові визначали методом фотометрії полум'я. Показники діяльності судинно-клубочкового і каналцевого відділів нефрону розраховували за даними кліренс-аналізу функції нирок [7]. Стан первинного гемостазу визначали за відсотком адгезивних тромбоцитів [5] та індексом їх спонтанної агрегації [12]. Загальний коагуляційний потенціал крові, фібринолітичну активність плазми, потенційну активність плазміногена, Хагеман-залежний фібриноліз, антиплазміни (швидко- і повільнодіючі), рівень фібриногену в крові та активність анти-тромбіну III досліджували традиційними методами [4], застосовуючи реактиви фірми "Simko Ltd" (Україна). Для визначення локалізації ендотеліальних ушкоджень у нирках використовували мічений 4-й тромбоцитарний фактор (^{125}I -PF₄, 500 mCi, Abbott, США) з одночасним внутрішньоочеревинним введенням 0,5 мл 1mM розчину моноодтирозиу для попередження дейодування ^{125}I -ТФ₄ у щитоподібній залозі. Враховуючи, що денудация судинної стінки після активації первинного гемостазу, через реакцію доступності, супроводжується активацією VII і XII факторів коагуляційного гемостазу [3] з наступним фібриногенезом у зоні ушкодження, щурам у комбінації з моноодтирозином вводили ^{125}I -фібриноген (475mCi, FIBI-125-B, CIS International, Франція) та визначали відсоткове співвідношення радіоактивності в кортикальній та медулярній тканині. Отримані дані оброблені методом радіаційної статистики на PC Pentium II з визначенням критерію Стьюдента за допомогою програми "BioStat".

Результати дослідження та їх обговорення. Введення ендотоксину за 2 год до проведення шурам водного навантаження (загальний час дії – 4 год) призводило до зниження діурезу з $39,74 \pm 2,78$ мл/кг за 2 год (контроль, $n=17$) до $22,63 \pm 2,26$ мл/кг за 2 год (дослід, $n=19$; $p < 0,001$), що було зумовлено майже чотириразовим зниженням швидкості клубочкової фільтрації ($518,14 \pm 36,70$ та $152,84 \pm 12,86$ мкл/хв, відповідно; $n=36$; $p < 0,001$). Зменшення сечовиділення не досягало ступеня анурії внаслідок суттєвого пригнічення реабсорбції води ($93,61 \pm 0,42$ та $87,66 \pm 0,36\%$ відповідно; $n=36$; $p < 0,001$). Вміст креатиніну в плазмі крові зростає майже в 2 рази ($48,92 \pm 2,15$ та $93,60 \pm 4,77$ мкмоль/л відповідно; $n=36$; $p < 0,001$), що свідчить про порушення діяльності судинно-клубочкового апарату нефрону. Крім того, спостерігали значне збільшення екскреції білка ($0,058 \pm 0,011$ та $0,265 \pm 0,042$ мг/100 мкл клубочкового фільтрату відповідно; $n=36$; $p < 0,001$) та натрію ($0,47 \pm 0,03$ та $2,31 \pm 0,49$ мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату відповідно; $n=36$; $p < 0,01$), що вказує на ушкодження каналцевого відділу нефрону. Аналіз впливу ендотоксину на нирковий транспорт натрію показав зниження його проксимальної реабсорбції ($13,26 \pm 0,37$ та $12,05 \pm 0,26$ мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату відповідно; $n=36$; $p < 0,02$), тоді як дистальний транспорт натрію зростає у 2,1 рази ($0,79 \pm 0,06$ та $1,68 \pm 0,11$ мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату відповідно; $n=36$; $p < 0,001$)

Отже, порушення функціонального стану нирок виявляються вже в перші години ендотоксикозу, а структурний рівень ушкоджень, зважаючи на показники діяльності нирок, локалізований як у клубочках, так і в каналцях, а саме – у проксимальному відділі нефрону.

Введення ендотоксину призвело до активації згортання крові (табл. 1): скорочувався час утворення фібрину при рекальцифікації плазми, зменшувалися показники активованого парціального тромбoplastинового, протромбінового і

Таблиця 1
Вплив ендотоксину на параметри системи регуляції агрегатного стану крові у білих щурів за умов водного навантаження ($\bar{x} \pm S_x$)

Показники, що вивчалися	Контроль $n=17$	Ендотоксин $n=19$
Час рекальцифікації, с	$92,59 \pm 5,60$	$64,71 \pm 3,19$ $p < 0,001$
Активований парціальний тромбoplastиновий час, с	$38,04 \pm 2,02$	$24,80 \pm 1,09$ $p < 0,001$
Протромбіновий час, с	$18,26 \pm 1,21$	$13,88 \pm 0,64$ $p < 0,01$
Тромбіновий час, с	$14,59 \pm 0,72$	$8,87 \pm 0,56$ $p < 0,001$
Фібриноген, г/л	$3,17 \pm 0,53$	$4,36 \pm 0,18$ $p < 0,05$
Активність антитромбіну III, %	$87,55 \pm 5,43$	$79,12 \pm 2,97$
Час лізису еуглобінів, хв	$225,10 \pm 11,54$	$180,84 \pm 11,07$ $p < 0,01$
Потенційна активність плазміногена, хв	$16,76 \pm 1,21$	$16,30 \pm 0,81$
Хагеман-залежний фібриноліз, хв	$20,85 \pm 1,38$	$16,27 \pm 0,75$ $p < 0,01$
Швидкодійучі антиплазміни, %	$97,95 \pm 4,21$	$114,20 \pm 3,65$ $p < 0,01$
Повільнодійучі антиплазміни, %	$95,20 \pm 3,61$	$100,70 \pm 6,18$
Тромбоцити, Г/л	$634,14 \pm 34,33$	$568,72 \pm 32,27$
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	$28,76 \pm 1,44$	$52,81 \pm 2,85$ $p < 0,001$
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	$3,59 \pm 0,19$	$25,72 \pm 1,67$ $p < 0,001$

тромбінового часу, зростала плазмова концентрація фібриногену. Інтенсифікація процесів тромбіно- і фібриногенезу відбувалася за тенденції до зниження проти-згортального потенціалу крові - активність антитромбіну III зменшувалась на 8,4%. Ендотоксин не викликав вірогідних змін кількості тромбоцитів у крові, але відсоток адгезивних тромбоцитів та індекс їх спонтанної агрегації значно зростали.

Фібринолітична активність плазми крові підвищувалась, що було зумовлено активацією Хагеман-залежного фібринолізу за відсутності змін потенційної активності плазміногена. Адекватно збільшувався рівень швидкодіючих антиплазмінів. Сумарна фібринолітична активність у кірковій і мозковій речовині нирок (табл. 2) після введення ендотоксину не змінювалась, однак неферментативний фібриноліз зростав, тоді як інтенсивність ензиматичного лізису фібрину суттєво зменшувалась. Отже, під впливом ендотоксину збільшується фібринолітична активність крові, але пригнічується ферментативний фібриноліз у нирках.

Таблиця 2

Характеристика тканинного фібринолізу і накопичення радіоактивності в нирках шурів із сальмонельозною ендотоксинемією після введення ^{125}J -фібриногену і ^{125}J -PF₄ ($x \pm Sx$)

Групи	Контроль, n=10		Ендотоксинемія, n=11	
	Кіркова речовина	Мозкова речовина	Кіркова речовина	Мозкова речовина
Тканина Нирок				
Сумарний фібриноліз, E ₄₄₀ /г за год	43,47±2,99	62,50±4,22	35,13±3,08	74,24±5,82
Неферментативний фібриноліз, E ₄₄₀ /г за год	3,69±0,41	1,79±0,13	20,35±1,57 p<0,001	46,34±4,25 p<0,001
Ферментативний фібриноліз, E ₄₄₀ /г за год	39,78±3,13	60,70±4,19	14,79±2,81 p<0,001	27,90±3,33 p<0,001
^{125}J -фібриноген, % від радіоактивності крові	4,95±0,33	1,29±0,13	20,31±0,87 p<0,001	5,22±0,35 p<0,001
^{125}J -PF ₄ , % від радіоактивності крові	5,40±0,51	1,33±0,10	33,14±2,79 p<0,001	4,80±0,38 p<0,001

Примітки. p – ступінь вірогідності різниць показників; n – число спостережень.

Накопичення радіоактивного ізотопу ^{125}J -фібриногену було більшим у кортикальній тканині нирок. Ймовірно, що ця особливість у контрольних шурів зумовлена неоднорідністю ниркового кровотоку [1, 2, 9]. При ендотоксикозі, коли перерозподіл кровотоку змінюється на користь медулярної зони [8], високу радіоактивність кіркової речовини нирок можна пов'язати з ушкодженням ендотелію кортикальних судин. Однак імовірне захоплення радіоактивної мітки клітинами гістіомакрофагальної системи ускладнює кінцеву інтерпретацію отриманих результатів. Тому особливої уваги заслуговують дані про підвищення накопичення радіоактивності в нирках тварин з ендотоксикозом (переважно у кортикальній тканині) після введення шурам ^{125}J -PF₄. Відомо, що денудація судин супроводжується оголенням субендотелію, компоненти якого активно включаються в процеси первинного гемостазу. Зокрема, гепаринсульфат зв'язує PF₄ безпосередньо в зоні його вивільнення пропорційно ступеня ушкодження ендотелію [3].

Таким чином, комплексний аналіз стану судинного компонента первинного гемостазу дозволяє дійти висновку про ушкодження ендотелію кортикальних судин нирок під впливом ендотоксину.

Ураження нирок ендотоксином грамнегативної мікрофлори неодноразово описані в літературі. Сольський Я.П. та співат. [8] наводять дані про те, що в акушерській патології зв'язок між інфекцією та ГНН виявляється практично у всіх випадках грамнегативної септицемії. За сальмонельозної інфекції вже впродовж першої доби в осіб спостерігається зниження швидкості клубочкової фільтрації, а в деяких випадках розвивається олігоануричний синдром із підвищенням рівня залишкового азоту крові.

За результатами наших досліджень, олігурія зі зниженням швидкості клубочкової фільтрації, реабсорбції води та натрію спостерігаються в перші години

сальмонельозної ендотоксинемії, а структурний рівень ушкоджень нирок локалізований у проксимальних канальцях.

При грамнегативній ендотоксинемії активація тромбоцитів, підвищення активності інгібітору активатора плазміногена та зниження концентрації в крові антитромбіну III призводять до розвитку ДВЗ-синдрому з мікротромбозом капілярів ниркових клубочків [11]. Ми також встановили, що збільшення гемостатичного потенціалу крові супроводжується активацією тромбоцитарно-судинного гемостазу та зниженням тканинної фібринолітичної активності внаслідок пригнічення ферментативного фібринолізу в кортикальній тканині нирок. За таких змін, зменшення активності антитромбіну III та підвищення рівня швидкодійчих антиплазмінів сприяє інтрагломерулярному фібриногенезу.

Гіперкоагуляція при захворюваннях нирок є добре відомим фактом [3, 6, 8, 9]. У хворих на ГНН у судинах клубочків і в просвіті аферентних артеріол виявляються тромби, до складу яких поряд з фібрином входять аморфні ШК-позитивні маси, клітини злушеного ендотелію та лейкоцити. У капсулі клубочків локалізуються ШК-позитивні речовини і фібрин [8]. А.Капфлер вважає [10], що активація згортання крові при ГНН розпочинається інтрагломерулярно з локальної продукції тканинного тромбoplastину.

Згідно з отриманими даними, при введенні шурам із сальмонельозною ендотоксинемією мічених ^{125}J -фібриногену і ^{125}J -PF₄ накопичення радіоактивності переважає у кортикальній тканині нирок.

Висновок. Результати нашого дослідження свідчать про первинність ендотеліальних ушкоджень та внутрішньоклубочкового фібриногенезу.

Перспективою подальших розвідок за даним напрямком є дослідження чинників, які безпосередньо викликають пригнічення ферментативного фібринолізу і денудацію гломерулярних капілярів за умов сальмонельозної ендотоксинемії.

Література. 1. *Вандер А.* Физиология почек / Пер. с англ. – 5-е изд. – СПб.: Питер, 2000. – 256 с. 2. *Горн М.М., Хейтц У.И., Свиренген П.Л., Вебер К.С.* Водно-электролитный и кислотно-основной баланс / Пер. с англ. – СПб., М.: Невский Диалект, БИНОМ, 2000. – 320 с. 3. *Грицюк А.И., Амосова Е.И., Грицюк И.А.* Практическая гемостазиология. – К.: Здоров'я, 1994. – 256 с. 4. *Магалья В.М., Михеев А.О., Роговий Ю.С. та ін.* Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії. – Чернівці: Буковинська державна медична академія, 2001. – 42 с. 5. *Миценко В.И., Крохмаль Н.В., Паоутый К.А.* Простой метод определения адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов // Физиол. ж. – 1980. – Т.26, №2. – С.282–283. 6. *Рябов С.И.* Нефрология. – СПб.: СпецЛит, 2000. – 672 с. 7. *Рябов С.И., Паточин Ю.В.* Функциональная нефрология. – СПб.: Лань, 1997. – 304 с. 8. *Сольский Я.И., Ивченко В.Н., Богданова Г.Ю.* Инфекционно-токсический шок в акушерско-гинекологической практике. – К.: Здоров'я, 1990. – 267 с. 9. *Шейман Д.А.* Патогизиология почки / Пер. с англ. – 2-е изд., испр.–М., Спб.: БИНОМ, Невский диалект, 1999. – 206 с. 10. *Kanfer A.* Coagulation factors in nephrotic syndrome // Amer. J. Nephrol. – 1990. – V.1, №1. – P.63–68. 11. *Miyoshima T., Hayashi K., Amodi M.* Initiation and recovery processes of endotoxin induced disseminated intravascular coagulation: scanning and transmission electron microscopic observations of rat renal tissue // Acta Med. Okajama. – 1989. – V.43, №2. – P.115–126. 12. *Taccola A., Gotti G.B., Baruffini A., Cipolli P.L.* Su un metodo di determinazione quantitativa della aggregabilita plastrinica spontanea // Rass. Med. Sper. – 1980. – V.27, №12. – P.795–804.

MECHANISMS OF THE STATE OF RENAL DYSFUNCTION IN SALMONELLOSIS ENDOTOXINEMIA

L.O. Filipova, N.D. Filipets, O.V. Boiko

Abstract. The role of changes in the regulation of the blood aggregate state in the mechanisms of the renal excretory dysfunction and disturbed sodium tubular transport in salmonellosis endotoxemia has been studied in experiments on 78 male albino rats. It has been demonstrated that disorders of the renal functional state manifest themselves already during the first hours of endotoxemia and the structural level of their damage is localized both in the glomeruli and proximal tubules. Endotoxin augments the procoagulation potential and blood fibrinolytic activity, but suppresses renal enzymatic fibrinolysis. The research findings are indicative of the primary nature of endothelial lesions and intraglomerular fibrinogenesis, however, the factors that directly cause the suppression of enzymatic fibrinolysis and denudation of the glomerular capillaries in salmonellosis endotoxemia are subject to further research.

Key words: endotoxin, kidneys, hemostasis, endothelium, fibrin.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)
Buk. Med. Herald. – 2003. – Vol.7, №2. – P.172–175.

Надійшла до редакції 16.01.2003 року