

УДК: 612.466.464 - 06:566.4/5+621.039.553.5]-085.272.4

Довганюк Л.І., Роговий Ю.С., Бойчук Т.М.

Корекція порушень функції нирок після поєднаного впливу зовнішнього γ -опромінення та введення солей важких металів

Кафедра медичної біології, паразитології та генетики (зав. кафедри - проф. Пішак В.П.),

кафедра патологічної фізіології та біофізики (зав. кафедри - проф. Мислицький В.Ф.)

Буковинської державної медичної академії

Резюме. У досліджах на 40 білих нелінійних щурах-самцях встановлені функціонально-біохімічні зміни у нирках при поєднаному впливі зовнішнього γ -опромінення та солей важких металів $CdCl_2$, $TlCl$, $PbCl_2$, які супроводжувалися порушенням головного енергозалежного процесу ниркових каналців - реабсорбції іонів натрію і активацією реакцій пероксидного окиснення ліпідів із зростанням вмісту дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду у кірковій ділянці цього органу. Препарат антиоксидант X_2 за цих умов проявляв захисну дію.

Ключові слова: нирки, реабсорбція іонів натрію, пероксидне окиснення ліпідів, зовнішнє γ -опромінення, важкі метали, антиоксидант X_2 .

Добре відомий факт нефротоксичного впливу на нирки важких металів, що реалізується через пошкодження проксимального відділу нефрону за рахунок блокади SH-груп, порушення реабсорбції іонів натрію, розвитку вторинних ішемічних реакцій у кірковій ділянці нирок з активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів [3, 4]. Крім того, відомо, що патогенна дія зовнішнього γ -опромінення на нирки проявляється через активацію процесів пероксидного окиснення ліпідів у кірковій ділянці цього органу, які характеризуються високим рівнем кровопостачання та парціального тиску кисню [1, 5, 8]. Разом з тим, для промислових екологічно несприятливих регіонів характерна наявність поєднаного впливу зовнішнього γ -опромінення та солей важких металів $CdCl_2$, $TlCl$, $PbCl_2$ [9], патогенетичне значення яких у порушенні функціонально-біохімічного стану нирок практично не досліджено. Крім того, не з'ясована можлива роль антиоксидантів для корекції цих змін, серед яких в останні роки все більше привертає увагу дослідників препарат X_2 ($C_{16}H_{16}N_2O_4$), синтезований колективом кафедри біохімії та експериментальної екології (зав. кафедри - проф. Костигин С.С.) Чернівецького національного університету ім. Ю.Федьковича.

Мета роботи. З'ясувати характер функціонально-біохімічних порушень у нирках за умов поєднаного впливу зовнішнього γ -опромінення і солей важких металів $CdCl_2$, $TlCl$, $PbCl_2$ та з'ясувати роль антиоксиданту X_2 в корекції цих змін.

Матеріал і методи дослідження

Досліди проведені на 40 білих нелінійних щурах-самцях вагою 160-180 г в умовах гіпонатрієвого раціону харчування. Функцію нирок вивчали на 28 добу після однократного зовнішнього γ -опромінення в дозі 2 Гр на установці для дистанційної γ -терапії "Луч-1" та щоденного введення цим тваринам у шлунок за допомогою металевого зонда хлористих сполук важких металів у дозах: $CdCl_2$ - 0,05 мг/кг, $PbCl_2$ і $TlCl$ - по 0,5 мг/кг маси тіла. Для корекції порушень функціонально-біохімічного стану нирок використовували антиоксидант X_2 ($C_{16}H_{16}N_2O_4$), який вводили з 14 доби щоденно в дозі 100 мг/кг внутрішньом'язево у вигляді водного розчину. Після чого водопровід-

ну воду в кількості 5% від маси тіла за допомогою металевого зонда вводили щурам у шлунок з послідовним збором сечі впродовж 2-х 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 концентрації креатиніну за реакцією з пікриновою кислотою. Концентрацію іонів натрію в плазмі крові (PNa^+) та концентрації іонів калію та натрію в сечі (UK^+ , UNa^+) досліджували методом фотометрії полум'я на ФПЛ-1. 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:

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

Відносну реабсорбцію води ($RH_2O\%$) розраховували за формулою:

$$RH_2O\% = \frac{C_{cr} - V}{C_{cr}} \cdot 100\%$$

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

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

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

$$EFK^+ = V \cdot UK^+$$

де U_{pr} - концентрація білка в сечі.

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

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

Відносну реабсорбцію іонів натрію ($RFNa^+\%$) оцінювали за формулою:

$$RFNa^+\% = (1 - V \cdot UNa^+ / C_{cr} \cdot PNa^+) \cdot 100\%$$

Проксимальну та дистальну реабсорбцію іонів натрію (T^+Na^+ , T^-Na^+) визначали за формулами:

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

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

а також оцінювали концентраційний індекс креатиніну [6].

Нирки швидко вилучали і заморожували в рідкому азоті. У кірковій ділянці нирок визначали вміст дієнових кон'югатів [2], малонового діальдегіду [7]. Білок у нирках оцінювали за Лоурі [11].

Статистичний аналіз отриманих даних проводили на комп'ютері IBM PC AT 386 DX за допомогою програми "Statgrafics".

Результати дослідження

Через чотири тижні після зовнішнього γ -опромінення у дозі 2Гр та комбінованого введення хлористих солей свинцю, кадмію та талію відмічалось (табл. 1) зростання концентрації іонів калію в сечі, його екскреції, концентрації креатиніну в плазмі

Таблиця 1. Функціональний стан нирок у щурів-самців за умов водного навантаження на 28 добу після введення $CdCl_2$, $TiCl$, $PbCl_2$, γ -опромінення в дозі 2 Гр та корекції з 14 доби препаратом X_2 ($\bar{x} \pm Sx$)

Показники, що вивчалися	Контроль, n=8	2Гр+ $CdCl_2$ + $TiCl$ + $PbCl_2$, n=7	2Гр+ $CdCl_2$ + $TiCl$ + $PbCl_2$ + X_2 , n=5
Диурез, мл/2 год/100 г	3,89±0,13	3,77±0,46	3,34±0,40
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	8,47±1,65	35,07±2,76 $p < 0,001$	13,10±1,44 $p_1 < 0,001$
Екскреція іонів калію, ммоль/2 год/100 г	31,72±5,38	127,44 ± 14,53 $p < 0,001$	42,38±3,83 $p_1 < 0,001$
Концентрація креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л	53,00±1,20	99,71±3,38 $p < 0,001$	37,20±1,83 $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$
Концентраційний індекс креатиніну, од.	13,77±1,22	7,52± 0,42 $p < 0,001$	22,53±2,19 $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв/100 г	441,97±32,28	230,97±25,65 $p < 0,001$	602,98±34,31 $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$
Реабсорбція води, %	92,42±0,53	86,43±0,81 $p < 0,001$	95,37±0,50 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
Екскреція білка мг/100 мкл клубочкового фільтрату	0,020±0,002	0,220±0,010 $p < 0,001$	0,020±0,001 $p < 0,001$

Примітка: p - ступінь вірогідності відмінностей порівняно з контролем, p_1 - ступінь вірогідності відмінностей при порівнянні між дослідними групами, n - кількість сиостережень.

крові, спостерігалася протеїнурія. Знижувалися концентраційний індекс креатиніну, швидкість клубочкової фільтрації, реабсорбція води. Застосування антиоксиданту X_2 за цих умов призводило до зниження концентрації іонів калію в сечі, його екскреції, ступеня протеїнурії, концентрації креатиніну в плазмі крові, зростали клубочкова фільтрація, реабсорбція води, концентраційний індекс креатиніну в порівнянні з групою тварин після зовнішнього γ -опромінення у дозі 2Гр та комбінованого введення хлористих солей свинцю, кадмію та талію.

Стосовно транспорту іонів натрію через чотири тижні після зовнішнього γ -опромінення у дозі 2Гр

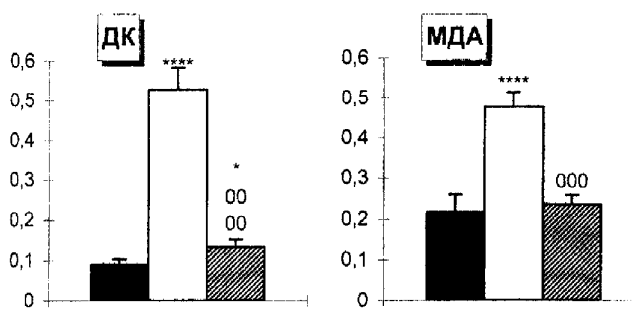


Рис. 1. Стан пероксидного окиснення ліпідів у кірковій речовині нирок на 28-у добу після комбінованого введення хлористих солей свинцю, кадмію, талію, зовнішнього γ -опромінення у дозі 2 Гр та корекції з 14-ої доби препаратом X_2 ($\bar{x} \pm Sx$). ДК-дієнові кон'югати (нмоль/мг білка), МДА - малоновый діальдегід (нмоль/мг білка). Чорні стовпчики - контроль, світлі - 2Гр+ $PbCl_2$ + $CdCl_2$ + $TiCl$ (n=7), заштриховані - 2Гр+ $PbCl_2$ + $CdCl_2$ + $TiCl$ + X_2 (n=5). Зміни достовірні: * - $p < 0,05$, **** - $p < 0,001$ порівняно з контролем, 000 - $p < 0,001$ порівняно з експериментальною групою тварин 2Гр+ $PbCl_2$ + $CdCl_2$ + $TiCl$.

та комбінованого введення хлористих солей свинцю, кадмію та талію відмічалася (табл. 2) зростання екскреції іонів натрію, стандартизованого за швидкістю клубочкової фільтрації та дистального транспорту цього електроліту. Знижувалися фільтраційний заряд іонів натрію, його абсолютна, відносна і проксимальна реабсорбція. Застосування антиоксиданту X_2 за цих умов призводило до зниження екскреції іонів натрію, стандартизованого за швидкістю клубочкової фільтрації та дистального транспорту цього електроліту, зростали фільтраційний заряд іонів натрію, його абсолютна, відносна і проксимальна реабсорбція в порівнянні з групою тварин після зовнішнього γ -опромінення у дозі 2Гр та комбінованого введення хлористих солей свинцю, кадмію та талію. Через чотири тижні після зовнішнього γ -опромінення у дозі 2Гр та комбінованого введення хлористих солей свинцю, кадмію та талію відмічалася (рис. 1) зростання в кірковій ділянці нирок вмісту дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду. Застосування антиоксиданту X_2 призводило до зниження вказаних продуктів пероксидного окиснення ліпідів за цих умов.

Обговорення

Тлумачення отриманих результатів полягає в наступному. Важкі метали реалізують свій патогенний вплив на проксимальний відділ нефрону за рахунок прямої блокади SH-груп ферментів Na^+-K^+ -АТФ-ази та сукцинатдегідрогенази, а зовнішнє γ -опромінення пошкоджує цей відділ нефрону за рахунок безпосередньої активації реакцій пероксидного окиснення ліпідів, який є більш чутливим до останніх у порівнянні з дистальним каналцем [10]. Це викликає зниження проксимальної, абсолютної, відносної реабсорбції іонів натрію і реабсорбції води, зростання екскреції іонів натрію та активацію дистального транспорту цього електроліту за механізмом каналцево-каналцевого балансу. Зростання екскреції білка зумовлено також пошкодженням проксимального відділу нефрону внаслідок порушення його реабсорбції шляхом піноцитозу. Крім того, зниження концентраційного індексу креатиніну підтверджує також факт порушення проксимальної реабсорбції. Зростання доставки іонів натрію до macula densa дистального відділу нефрону викликає активацію внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи із спазмом приносячої артеріоли під впливом ангіотензину II, що призводить до зниження клубочкової фільтрації, фільтраційної фракції іонів натрію, розвитку ретенційної азотемії із зростанням концентрації креатиніну в плазмі крові. Ангіотензин II стимулює синтез альдостерону в кірковій речовині наднирників, за рахунок останнього зростає концентрація іонів калію в сечі та його екскреція. За рахунок прямого впливу зовнішнього γ -опромінення та вторинної ішемії кіркової речовини нирок відбувається активація реакцій пероксидного окиснення ліпідів із зростанням вмісту дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду в цій речовині нирок. Антиоксидант X_2 проявляє свій захисний вплив на рівні проксимального відділу нефрону, на що

Таблиця 2. Канальцевий транспорт іонів натрію у шурівсамців за умов водного навантаження на 28 добу після введення CdCl₂, TlCl, PbCl₂, γ-опромінення в дозі 2 Гр та корекції з 14 доби препаратом X₂ (x±Sx)

Показники, що вивчалися	Контроль, n=8	2 Гр+CdCl ₂ +TlCl+PbCl ₂ , n=7	2Гр+CdCl ₂ -TlCl+PbCl ₂ +X ₂ , n=5
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	0,19±0,02	1,22±0,16 p<0,001	0,49±0,04 p<0,001 p ₁ <0,001
Фільтраційний заряд іонів натрію, мкмоль/хв/100 г	60,37±4,71	30,64±3,68 p<0,001	81,91±4,21 p<0,01 p ₁ <0,001
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/хв/100 г	60,36±4,71	30,62±3,68 p<0,001	81,88±4,21 p<0,01 p ₁ <0,001
Відносна реабсорбція іонів натрію, %	99,99±0,01	99,92±0,01 p<0,001	99,97±0,01 p<0,001 p ₁ <0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/ 100 мкл клубочкового фільтрату	12,60±0,15	11,38±0,15 p<0,001	12,97±0,12 p ₁ <0,001
Дистальний транспорт іонів натрію, мкмоль/ 100 мкл клубочкового фільтрату	1,03±0,07	1,79±0,13 p<0,001	0,62±0,07 p<0,001 p ₁ <0,001

Примітка: p - ступінь вірогідності відмінностей порівняно з контролем, p₁ - ступінь вірогідності відмінностей при порівнянні між дослідними групами, n - кількість спостережень.

вказує покращання проксимальної, абсолютної, відносної реабсорбції іонів натрію і реабсорбції води, зростання концентраційного індексу креатиніну та зниження величини протеїнурії. Зниження дистальної доставки іонів натрію призводить до зменшення реабсорбції цього електроліту у цьому відділі нефрону за механізмом каналцево-каналцевого балансу та гальмування внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи із зменшенням вазоконстрикторного впливу ангіотензину II на приносну артеріолу. Це викликає зростання клубочкової фільтрації, фільтраційної фракції іонів натрію, за рахунок зниження продукції альдостерону зменшується концентрація іонів калію в сечі та його екскреція. На антиоксидантні властивості цього препарату вказує зниження вмісту дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду в кірковій ділянці нирок.

Висновки

1. Функціонально-біохімічні зміни у нирках при поєднаному впливі зовнішнього γ-опромінення та солей важких металів CdCl₂, TlCl, PbCl₂, супроводжуються порушенням головного енергозалежного процесу ниркових каналців - реабсорбції іонів натрію і активацією реакцій пероксидного окиснення ліпідів у кірковій ділянці цього органу із зрос-

танням вмісту дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду.

2. Застосування препарату антиоксиданту X₂ за цих умов проявляє захисний вплив.

Література

1. Барабой В. А., Бездробная Л. К., Орел В. Э. Интенсивность перекисного окисления липидов крови крыс при многократном рентгеновском облучении их малыми дозами // Сборник клинической рентгенологии и радиологии. - К.: Здоров'я, 1991. - Т. 22. - С. 87-90.
2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело.-1983.- N3.-С. 33-36.
3. Гоженко А.И. Энергетическое обеспечение основных почечных функций и процессов в норме и при повреждении почек: Автореф. дис. ... д-ра мед наук: 14.00.16/ Черновицкий мединститут.-Киев, 1987.- 38 с.
4. Кухарчук О.Л., Кокощук Г.І., Магальяс В.М. та ін. Біохімічні механізми нефротоксичної дії важких металів/ / Науковий вісник Чернівецького Університету.-1998.- Вип. 20.- С. 23-28.
5. Наточин Ю.В. Основы физиологии почки.- Л.: Медицина, 1982.- 207 с.
6. Рябов С.И., Наточин Ю.В. Функциональная нефрология.- СПб.: Лань, 1997.- 304 с.
7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты// Современные методы в биохимии.- М.: Медицина.- 1977.- С. 66 - 68.
8. Тимочко М.Ф., Кобилінська Л.І. Вільнорадикальні реакції та їх метаболічна роль// Медична хімія.-1999.- Т. 1, № 1.- С. 19-25.
9. Шестопалов В.М., Набока М.В., Мельник И.В., Бобылева О.А. Гигиеническая оценка влияния тяжелых металлов на экологическую ситуацию территорий, пострадавших в результате Чернобыльской аварии// Доповіді НАН України.-1996.-№ 8.- С. 156-162.
10. Endou H., Yamada H., Takahashi T. et al. Intranephron distribution and properties of xanthine oxidase, superoxide dismutase and guanase activities in control and nephrotic rats// Mol. Nephrol.:Biochem.Aspects Kidney Funct.: Proc. 8 th Int. Symp.Dubrovnic, Oct. 5-8,1986.-Berlin; New York,1987.-P.347-352.
11. Lowry O.H., Rosebrough N.I., Parr A.L., Randall R.I. Protein measurment with Folin phenol reagent// J.Biol.Chem.- 1951.-V. 193, N1.- P. 265-275.

Dovganuk L.I., Rogovoy Yu.E., Boychuk T.M.

The Correction of Disorders in Kidney Functions Caused by Combined Influence of γ-radiation and Injection of Chlorides of Heavy Metals

Summary. The experiments were carried out on 40 males of white non-line rats. Functional- biochemical disorders in kidneys were established in case of external g-radiation influence and injection of chlorides of heavy metals (CdCl₂, TlCl, PbCl₂). It was disfunction of main energy-dependent process in renal tubules-reabsorption of sodium and activation of lipid peroxidation with increase of dien conjugates and malone dialdehyde in renal cortex. The use of antioxidant X₂ in this case shows protective effects.

Key words: kidneys, reabsorption of sodium, lipid peroxidation, external γ-radiation, chlorides of heavy metals, antioxidant X₂.

Надійшла 26.03.2001 року.