

Із формули (4) дістаємо середню квадратичну помилку, або стандартне відхилення

$$S = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (5)$$

Відносні втрати германію становлять від 1 до 5,5 %, а відносна помилка методу — від 3,7 до 8,7 %, що в середньому дорівнює 6,3 % (див. табл. 1). Це свідчить про достатню надійність запропонованого методу прободготовки та аналізу германію і можливість його використання.

Аналіз показників, наведених у табл. 2 і 3 довів, що відносна похибка при визначенні МІГУ-1 у пробах печінки через 15 хв становила 0,82 %, а при визначенні МІГУ-6 через 30 хв — 4,82 %. Ці значення перебувають у межах 10 %, що припустимо для даного методу.

## Висновки

1. Виявлено, що запропонований метод прободготовки в комбінації зі спектрофотометричним методом аналізу германію дозволяє з високим ступенем ймовірності визначити вміст германію в біологічних пробах у вигляді фенілфлуоронатного комплексу.

2. Доведено можливість його застосування для вивчення фармакокінетики нових германієвмісних комплексних лікарських препаратів в експерименті.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Кресюн В. И., Годован В. В., Кресюн Н. В. Гепатопротекторные свойства нового класса координационных соединений германия // *Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. Медицина*, 1999. — Вип. 10. — С. 99-100.
2. Кресюн В. И., Шандра О. А., Антоненко П. Б. Вплив нових похідних германію на формування умовної реакції активного уникнення // *Одес. мед. журн.* — 1998. — № 3. — С. 40-41.
3. *Биологическая активность германия* / Э. Л. Лукевич, Т. К. Гар, М. М. Иг-

натович, В. Ф. Миронов. — Рига: Зинатне, 1990. — 191 с.

4. Shinohara A., Chiba M., Inaba Y. Determination of germanium in human specimens: comparative study of atomic absorption spectrometry and microwave — induced plasma mass spectrometry // *J. Anal. Toxicol.* — 1999. — Vol. 23, N 7. — P. 625-631.

5. Назаренко В. А. Аналитическая химия германия. — М.: Наука, 1973.

6. Masahiro Nakaho, Chukichi Sericuchi, Hiroyuki Wakagajashi, Kenji Shimada. Improved method for spectrophotometric determination of germanium in medicinal plants using phenylfluorone // *Bunasci Kadaku.* — 1984. — Vol. 33, N 4. — P. 188-191.

7. Determination of germanium and some other elements in hair, nail and toenale from persons exposed and inposed to germanium / Morita H., Shimomura S., Oakagawa K. et al. // *Sci. Total Environ.* — 1986. — Vol. 58, N 3. — P. 237-242.

8. Lang O. C. Zeng G. X. Zhao X. L. Pharmacokinetics of germanium after Beta-Carboxyethylgermanium sesquioxide in 24 Chinese Volunteers // *Acta Pharmacologica Sin.* — 1996. — Vol. 17. — P. 415-418.

9. Шараф М. А., Иллман Д. Л., Ковальский Б. Р. Хемометрика. — Л.: Химия, 1989. — 270 с.

10. Чарыков А. К. Математическая обработка результатов химического анализа. — Л.: Химия, 1984. — 168 с.

УДК 616.61:577.12]:599.323.4

А. О. Міхєєв, Л. І. Власик, В. М. Магалєс

## ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ПРОТЕОЛІЗУ, ФІБРИНОЛІЗУ І ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ У КІРКОВІЙ РЕЧОВИНІ НИРОК ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

НДІ медико-екологічних проблем, Чернівці

Обмін речовин та енергії досить повно вивчено у дорослої людини, організм якої перебуває у стані відносної рівноваги із зовнішнім світом. У дитячому та старечому віці відбуваються зрушення біохімічних процесів, за яких енергопластичне забезпечення організму зазнає кількісних та якісних змін [5]. Тому за сучасних екологічних умов особливого значення набуває визначення вікових особливостей реакції організму, його клітин, тканин, органів і систем на поліплютантне навантаження. Це стосується, зокрема, функції нирок і водно-сольового обміну,

оскільки нирки є одним з основних органів виведення ксенобіотиків з організму [6].

Відомо, що ферментативна активність ниркової тканини у лабораторних щурів суттєво відрізняється залежно від віку. У старих щурів у мембранах щіткової облямівки проксимального каналця істотно знижується активність ендолептидази [КФ 3.4.21.16] [12]. У 18-місячних щурів у клубочках нирок збільшується вміст супероксиданіону, пероксиду водню та каталази [КФ 1.11.1.6] разом зі збільшенням вмісту продуктів, що реагують із тіобарбітуровою кислотою

[15]. З віком у тканинах органів щурів (печінка, серце) спостерігається зростання активності глутатіонредуктази [КФ 1.6.4.1] та глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9], каталази [КФ 1.11.1.6] і зниження рівня активності супероксиддисмутази [КФ 1.15.1.1] [14].

Виявлено циркадіанну організацію фібринолітичної та протеолітичної активності тканин органів, зокрема, і нирок [1]. Проте в літературі немає відомостей про перебіг процесів ліпопероксидації, протеолітичної та фібринолітичної активності тканини нирок у щурів різного віку, хоча відомо,

що перебіг цих біохімічних процесів суттєво впливає на функціонування нирок і підтримання гомеостазу [7].

Тому метою цієї роботи було дослідження та порівняння перебігу процесів протеолізу, фібринолізу й перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) у кірковій речовині нирок інтактних щурів різного віку.

#### Матеріали та методи дослідження

Експерименти проведено на 45 білих лабораторних щурах-самцях: молодих (маса тіла 0,06–0,08 кг, вік 2–3 міс), статево-зрілих (маса тіла 0,12–0,18 кг, вік 5–7 міс) і старих (маса тіла 0,35–0,45 кг, вік 18–20 міс).

Евтаназію тварин проводили під легкою ефірною анестезією. Нирки вилучали та заморожували у рідкому азоті. З кіркової речовини готували гомогенати — 120 мг кіркової речовини у 1,2 мл 0,05 М трис-НСІ буфера (рН 7,4).

Оцінку ПОЛ у нирках проводили за вмістом малонового альдегіду [8] і дієнових

кон'югат [2]. Крім того, визначали активність ферментів антиоксидантного захисту — каталази [КФ 1.11.1.6] [3], супероксиддисмутази [КФ 1.15.1.1] [9] та глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9] [4]. Вміст білка у кірковій тканині нирок визначали за методом Лоурі [11].

Стан ферментативного та неферментативного фібринолізу оцінювали за лізисом азофібрину ("Simko Ltd.", Львів). Внаслідок лізису азофібрину за наявності  $\epsilon$ -амінокапронової кислоти як інгібітора ферментативного фібринолізу визначається неферментативний фібриноліз, а за її відсутності — сумарний фібриноліз. Різниця між цими показниками відбиває стан ферментативного фібринолізу. За аналогічною методикою вивчали стан протеолітичної активності на основі реакції з азоальбуміном, азоказеїном й азоколом.

#### Результати дослідження та їх обговорення

Досліджуючи перебіг процесів ліпопероксидації у тва-

рин усіх вікових груп, не виявили змін вмісту дієнових кон'югат у кірковій речовині (табл. 1). Тим же часом вміст малонового альдегіду зростав на 158 % ( $P < 0,01$ ) у дорослих тварин порівняно з молодими, а у старих — знижувався на 20 % ( $P < 0,001$ ) відносно рівня молодих щурів та 50 % ( $P < 0,01$ ) порівняно з дорослими.

Вміст білка у кірковій речовині нирок із віком практично не змінювався, а активність СОД знижувалася на 21 % у дорослих і на 19 % — у старих тварин порівняно з молодими. Активність каталази була найвищою у молодих щурів, а активність ГПО кіркової речовини нирок зростала у дорослих особин на 169 % і знижувалася у старих на 30 % ( $P < 0,05$ ).

У дорослих щурів у кірковій речовині нирок порівняно з молодими особинами зростав лізис низькомолекулярних білків, величина якого у старих щурів дещо знижувалася (табл. 2). Колагеназна активність зростала у дорослих тварин втричі (на 309 %, Таблиця 1

Перекисне окислення ліпідів у кірковій речовині нирок щурів різного віку,  $x \pm Sx$ ,  $n = 15$

Показники, що вивчалися	Молоді	Дорослі	Старі
Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка	0,45 $\pm$ 0,03	0,48 $\pm$ 0,05	0,47 $\pm$ 0,05
Малоновий альдегід, нмоль/мг білка	0,65 $\pm$ 0,04	1,03 $\pm$ 0,12*	0,52 $\pm$ 0,05*, #
Білок за Лоурі, мг/г тканини	176,33 $\pm$ 6,11	200,68 $\pm$ 18,29	170,91 $\pm$ 11,89
Супероксиддисмутаза, ОД/(хв·мг)	0,23 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,03	0,19 $\pm$ 0,02
Глутатіонпероксидаза, мкмоль/(хв·мг)	0,26 $\pm$ 0,02	0,39 $\pm$ 0,07	0,23 $\pm$ 0,03*
Каталаза, мкмоль/(хв·мг)	25,19 $\pm$ 0,83	16,58 $\pm$ 1,35*	17,63 $\pm$ 1,04*

\* — Вірогідність різниці показників порівняно з молодими тваринами; # — порівняно з дорослими щурами.

Таблиця 2

Стан необмеженого протеолізу та фібринолізу кіркової речовини нирок у щурів різного віку,  $x \pm Sx$ ,  $n = 15$

Показники, що вивчалися	Молоді	Дорослі	Старі
Протеоліз за азоальбуміном, Е440/(год·г) тканини	51,75 $\pm$ 3,39	59,57 $\pm$ 1,14*	56,33 $\pm$ 5,38
Протеоліз за азоколом, Е440/(год·г) тканини	3,32 $\pm$ 0,23	10,29 $\pm$ 0,77*	9,08 $\pm$ 0,86*
Протеоліз за азоказеїном, Е440/(год·г) тканини	69,40 $\pm$ 3,44	54,33 $\pm$ 3,11*	46,12 $\pm$ 2,41*, #
Сумарний фібриноліз, Е440/(год·г) тканини	86,66 $\pm$ 4,99	120,28 $\pm$ 12,25*	64,72 $\pm$ 4,90*, #
Неферментативний фібриноліз, Е440/(год·г) тканини	23,61 $\pm$ 1,85	46,76 $\pm$ 5,19*	33,25 $\pm$ 3,98*, #
Ферментативний фібриноліз, Е440/(год·г) тканини	63,05 $\pm$ 4,69	73,53 $\pm$ 14,52	31,48 $\pm$ 6,94*, #

\* — Вірогідність різниці показників порівняно з молодими тваринами; # — порівняно з дорослими особинами.

$P < 0,001$ ) і залишалася високою у старих щурів (273 % від рівня молодих тварин,  $P < 0,001$ ). Лізис високомолекулярних білків, навпаки, з віком починав знижуватися — у дорослих на 21 % ( $P < 0,01$ ) порівняно з молодими, у старих — на 33 % ( $P < 0,001$ ) порівняно з молодими тваринами та на 15 % ( $P < 0,01$ ) порівняно з дорослими щурами.

Активність тканинної фібринолітичної системи була найвищою у дорослих щурів. Зростав сумарний фібриноліз на 138 % ( $P < 0,05$ ), що відбувалося, в основному, за рахунок збільшення неензиматичного розщеплення фібрину (на 198 %,  $P < 0,001$ ). У старих тварин показники фібринолізу кіркової речовини нирок були різко знижені як порівняно з дорослими щурами, так і з молодими.

Таким чином, підсумовуючи отримані дані, можна зробити такі висновки. Підвищення активності антиоксидантних ферментів у кірковій речовині нирок притаманне щурам дорослого віку, що забезпечує стійкий захист від пероксидної модифікації ліпідів мембран клітин та їх ефективне функціонування. Зниження цієї активності з віком є наслідком старечих змін, що в кінцевому результаті призводить до дистрофії епітелію каналців, гіпертрофії і розростання сполучної тканини та до зміни функціонування ниркових клітин.

Зростання перебігу процесів необмеженого протеолізу в кірковій речовині нирок щурів сягає максимуму в дорослому віці, особливо це стосується лізису білків різної молекулярної ваги зі стійким підвищенням колагеназної активності протягом усього періоду спостереження. Це свідчить про зростання з віком процесів катаболізму білка у нирковій тканині. Крім того, максимуму у дорослому віці сягає також і тканинна фібринолітична активність, що забезпечує ефективне розщеплення новоутвореного фібрину у ниркових каналцях. Її зниження у старих тварин може призводити до відкладання фібрину у ниркових структурах з фібриноїдним переродженням тканини [10].

#### Висновки

Виявлені зміни перебігу біохімічних процесів у нирковій тканині інтактних щурів різного віку можуть суттєво впливати на діяльність нирок. Це, у свою чергу, впливатиме на взаємодію нирок з різноманітними ксенобіотиками, що потрібно враховувати при проведенні токсикологічних досліджень.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бойчук Т. М. Біоритми тканинного фібринолізу // *Експер. та клін. фізіол. та біохімія*. — 1998. — № 1. — С. 16-21.
2. Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей

липидов в плазме крови // *Лаб. дело*. — 1983. — № 3. — С. 33-35.

3. *Метод определения активности каталазы* / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова и др. // *Лаб. дело*. — 1988. — № 1. — С. 16-18.

4. Мещишев И. Ф. Механизм действия четвертичных аммониевых соединений (этония, тиония, додекония и их производных) на обмен веществ в норме и патологии: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — К., 1991. — 37 с.

5. *Обмен веществ у детей* / Ю. Е. Вельтишев, М. В. Ермолаев, А. А. Анащенко, Ю. А. Князев — М.: Медицина, 1983. — 464 с.

6. Наточин Ю. В. Основы физиологии почки. — Л.: Медицина, 1982. — 208 с.

7. Рябов С. И., Наточин Ю. В. Функциональная нефрология. — СПб.: Лань, 1997. — 304 с.

8. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // *Современные методы в биохимии*. — М.: Медицина, 1977. — С. 66-68.

9. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // *Лаб. дело*. — 1985. — № 11. — С. 678-681.

10. Kaffer A. Role of coagulation in glomerular injury // *Toxicol Lett*. — 1989. — Vol. 46, N1-3. — P. 81-93.

11. *Protein measurement with Folin phenol reagent* / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Parr, R. I. Randall // *J. Biol. Chem.* — 1951. — Vol. 193, N1. — P. 265-275.

12. Reckelhoff J. F., Baylis C. Proximal tubular metalloprotease activity is decreased in the senescent rat kidney // *Life Sci*. — 1992. — Vol. 50, N 13. — P. 959-963.

13. *Oxidant/antioxidant balance in isolated glomeruli and cultured mesangium cells* / P. Ruiz-Torres, J. Lucio, M. Gonzalez-Rubio et al. // *Free Rad. Biol. and Med.* — 1997. — Vol. 22, N 1-2. — P. 49-56.

14. Tian L. Q., Cai Q. Y., Wei H. C. Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging // *Free Rad. Biol. and Med.* — 1998. — Vol. 24, N 9. — P. 1477-1484.