

УДК 616.61:616.15

В. П. Присяжнюк
П. В. Присяжнюк
О. П. Пірожок

Буковинська державна медична академія, м. Чернівці

РОЛЬ ОКИСНЮВАЛЬНОГО СТРЕСУ В ПОШКОДЖЕННІ НИРОК

Ключові слова: окиснювальний стрес, нирки, антиоксидантні системи

Резюме. Дія стресорів різноманітної природи призводить до активації синтезу активних форм кисню (АФК), з наступним пошкодженням клітин. Для захисту від окиснювального пошкодження клітин існують антиоксидантні системи. Порушення взаємодії про- та антиоксидантних систем з інтенсифікацією процесів вільно-радикального окиснення призводить до виникнення патології.

Вчення про стрес започаткував Ганс Сельє – в 1936 році сформулювавши його перше визначення: “стрес – це загальна реакція організму на будь – яку висунуту до нього вимогу”. Фактори, що викликають стан стресу, Г.Сельє назвав стресорами, а сукупність змін, які проходять в організмі під їх дією, – загальним адаптаційним синдромом. Варто зазначити, що стрес не завжди є шкідливим для організму, адже без певного його рівня будь-яка активність неможлива. Повна відсутність стресу, на переконання Г.Сельє, рівнозначна смерті. Стресорна реакція мобілізує стійкість організму за різних несприятливих обставин (інфекційні захворювання, крововтрати). Такий стан називається еустресом. Шкідливий стрес (дис-трес) знижує опірність організму, викликає появу нових чи погіршення вже існуючих захворювань. Неоднорідними є впливи на організм стресорів різної природи, тому виділяють підвиди: іммобілізаційний, больовий, термічний (стрес внаслідок дії високих або низьких температур), токсичний. У людей із розвитком другої сигнальної системи виник психологічний стрес, який може мати навіть гірші наслідки, ніж зумовлений фізичними факторами.

У розвитку стресової реакції виділяють чотири основні стадії: 1) невідкладна – реалізується на основі вже існуючих захисних систем; 2) перехід термінової адаптації в довгострокову – на цій стадії відбувається зміна синтезу нуклеїнових кислот і білків, з метою пристосування організму до нових умов. 3) довгострокова адаптація; 4) виснаження

В організмі для захисту від дії стресорів надмірної інтенсивності в процесі еволюції виникла антистресорна система. Так, ще у плоских червів виявлені спеціальні нейрони, які синтезують біогенні аміни та нейропептиди, які є

медіаторами стресу й у хребетних. У деяких представників членистоногих з'являються гормони аденогіпофіза (прилеглі тіла) і нейрогіпофіза (кардфальні тіла). У молюсків реакція на дію стресорів запускається хемоцитами – спеціалізованими клітинами гемолімфи, які здатні синтезувати моноаміни, АКТГ, кортиколіберин, цитокіни. У хребетних існує дві системи, які відповідають за реакцію на стрес. Перша – каудальна нейроендокринна система, яка існує лише в риб. Основним її гормоном є уротензин-1, що має різноманітні властивості, зокрема, регулює секрецію АКТГ клітинами гіпофіза, здатний впливати на водно-сольовий баланс, обмін ліпідів, осмотичний і артеріальний тиски. Другою антистресовою системою у хребетних є гіпоталамо-гіпофізарно-адренортикальна, головним гормоном якої є кортиколіберин.

Наслідком впливу багатьох стресорів різноманітної природи є активація синтезу активних форм кисню, виникнення так званого окиснювального стресу – порушення балансу між продукцією активних форм кисню (синглетний кисень, супероксид-радикал, гідроксильний радикал, пероксид-іон та деякі інші сполуки) й активністю антиоксидантних систем. Активні форми кисню (АФК) здатні пошкоджувати клітини і тканини організму. За даними різних авторів [5,35] окиснювальний стрес відіграє важливу роль у розвитку гострих та хронічних захворювань нирок: гостра та хронічна ниркова недостатність, гломерулонефрит, ниркова діабетопатія, полікістоз нирки.

Викликати окиснювальний стрес можуть різноманітні чинники, зокрема, дія ксенобіотиків, гіпоксія, іонізуюче випромінювання, ішемія з подальшою реперфузією [22], вплив низьких та високих температур [14]. Він також

© В.П. Присяжнюк, П.В. Присяжнюк, О.П. Пірожок, 2004

може виникати внаслідок дії різних хімічних речовин, наприклад, важких металів [27], неорганічного миш'яку [7], діоксиду сірки [25], гліцеролу, гентаміцину, цисплатину [9]. Стимулювати генерацію АФК може високий рівень глюкози шляхом її метаболізму та автооксигенації [18]. Як медіатори окиснювального стресу, АФК зумовлюють розвиток морфологічних пошкоджень, зміни клубочкової гемодинаміки (зменшення кровотоку в клубочках і клубочкового фільтраційного тиску), зміну проникності мембрани клубочків до білків. Тому такі АФК, як пероксид водню та супероксид-аніон, слугують первинними медіаторами при гломерулонефриті. Зазнає пошкодження пероксидне окиснення ліпідів, про що свідчить компенсаторна активація антиоксидантних систем: зростання каталазної активності, активності глутатіон S-трансферази та підвищення концентрації аскорбінової кислоти в нирковій тканині [19]. Окиснювальний стрес впливає на артеріальний тиск в нирках, а також на показники ниркової гемодинаміки, і як наслідок, він сприяє виникненню гіпертензії та загальному пошкодженню нирок [24]. Окиснювальний стрес супроводжує гіпертензії різного походження: спонтанну, ангіотензин-II-залежну, нирково-судинну, а також гіпертензію внаслідок ожиріння. В умовах окиснювального стресу може зростати артеріальний тиск за участю таких механізмів: 1) порушення рівноваги між продукцією і руйнуванням оксиду азоту (II) внаслідок блокади синтази оксиду азоту (II); 2) активація ангіотензину II через рецептори I типу; 3) активація тромбоксан-рецепторів 4) зміни в метаболізмі арахідонової кислоти, які сприяють збільшенню концентрації вазоконстрикторів і зменшенню -- вазодилітаторів; 5) збільшення продукування ендотеліну-1 [28,17,34].

Окиснювальний стрес, який виник внаслідок ішемії/реперфузії нирки, супроводжується збільшенням в її тканині концентрації малонового альдегіду – одного з кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Ішемія нирки спричиняє збільшення кількості активних форм кисню, на що клітини реагують компенсаторним збільшенням активності супероксиддисмутази [11]. Показано, що активація супероксиддисмутази її специфічними міметиками (4-гідроксил-2,2,6,6-тетраметилпіперидин-1-оксид – TEMPO) покращує загальну резистентність нирки до дії окиснювальних стресорів, знижує продукцію активних форм кисню в кірковій і мозковій речовині нирок,

зменшуючи кількість склерозованих клубочків, призводить до зниження екскреції білка. Доля пошкоджених ішемією клітин каналців нефрона залежить від тривалості та глибини ішемії. Частина клітин, в яких ще не встигли розвинути незворотні зміни, відновлює свої функції, інша частина, де ішемія була більш вираженою, – гине. Клітинна смерть може наступити відразу шляхом некрозу або через години та дні після ураження внаслідок апоптозу, шляхом активації передаптозного фактора каспази-3 [21]. Продукування активних форм кисню активує каспази та ендонуклеази, які спричиняють загибель епітеліальних клітин каналця нефрона. Окиснювальний стрес викликає активацію фактора некрозу пухлин-альфа і, як наслідок, ослаблення функціонування нирки, набрякову дегенерацію і вакуоляризацію проксимальних звивистих каналців [8]. Деякі автори вважають, що більшого ушкодження в такому випадку зазнають саме проксимальні звивисті каналці [8,10] де розвиваються патологічні зміни структури клітинної мембрани та цитоскелета. Відбувається злиття мікрворсинок, що призводить до зменшення площі мембрани, її поверхня втрачає полярність для ліпідів та білків, порушуються щільні контакти між клітинами та транспорт іонів у клітину та з неї. У цитоскелеті клітин також виникають зміни: порушується актиновий цитоскелет внаслідок полімеризації актину в клітинному цитозолі; руйнуються і делокалізуються F-актинові структури; пошкоджується спектринний цитоскелет; руйнуються мікротрубочки. Дистальні звивисті каналці й збірні трубочки є менш чутливими до впливу активних форм кисню, оскільки їхні клітини здатні синтезувати гем-оксигеназу-1 [32]. Доведено, що зменшення продукування активних форм кисню в поєднанні з фармакологічним контролем за активністю каспаз та ендонуклеаз може запобігти розвитку гострої ниркової недостатності [9]. АФК активують сигнальні молекули – протеїнкіназу С і мітоген-активовані протеїнкінази; а також фактори транскрипції – ядерний фактор карра В, активуючий протеїн I, білок специфічності-1, які призводять до збільшення транскрипції з генів, що кодують цитокіни, фактори росту, білки екстрацелюлярного матриксу [18]. В окремих досліджах [13] клітини були піддані гіпокеї; частина з них загинула, в той час, як інша адаптувалася до дії стресу і стала більш стійкою до ушкоджень, зокрема, до апоптозу, завдяки наступному: в мітохондріях – гальмуванню накопичення пе-

редаптопичної молекули Вах; на рівні цитозолу – індукуванню білка-інгібітора апоптозу-2 (IAP-2), що робить її стійкою до дії каспаз. У нирках щурів, які підлягали окиснювальному стресу, збільшувався рівень пероксиду водню та активних форм азоту, а рівень антиоксидантів зменшувався.

Організм може витримати окиснювальний стрес легкої та середньої інтенсивності, проте виражений викликає порушення структури ДНК, синтезу різноманітних білків, пошкодження клітинної мембрани [30].

Для захисту від окиснювального стресу в організмі є спеціальні антиоксидантні системи. Їх можна класифікувати на ферментні і неферментні.

До ферментних систем захисту належать Mn-супероксиддисмутаза, Cu/Zn-супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, глутатіон-S-трансфераза, ксантинооксидаза, гемоксигеназа-1 тощо. Важлива роль належить гемоксигеназі-1. Цей фермент захищає тканини від окисного пошкодження шляхом зменшення концентрації вільного гему – молекули з прооксидантними властивостями і лімітування активності геммісних прооксидантних ферментів [32]. Гем вивільняється з гемопroteinів під дією різноманітних зовнішніх та внутрішніх чинників (запалення, іонізуюче випромінювання, гіпоксія), які несуть небезпеку окисного пошкодження. Надлишок гему каталізує реакції, в яких утворюються активні форми кисню. Автори [6] показали, що гем-оксигеназа-1 руйнує гем і цим захищає клітини. Особливо велику роль вона відіграє при гострій нирковій недостатності.

Неферментні системи антиоксидантного захисту представлені мелатоніном, альфа-токоферолом, аскорбіновою, сечовою кислотою і глутатіоном [30, 19]. Вказують також [7] на антиоксидантні властивості тиреоїдних гормонів, та дегідроепіандростерону [8]. Деякі вчені [36] вважають відновлений глутатіон найважливішою неферментною редокс-системою. Важливою є не сама його концентрація, а здатність клітини до швидкого збільшення синтезу відновленого глутатіону після впливу стресорного чинника. Це захищає її краще, ніж постійно високий рівень глутатіону [36]. Також широким спектром захисної дії володіє мелатонін. У досліджах на щурах *Kunduzova O.R. et al.* показали, що введення мелатоніну попереджувало надмірне пероксидне окиснення ліпідів, апоптоз і некроз клітин після ішемії/реперфузії. Мелатонін за фізіологічних умов та фа-

рмакологічного впливу стимулює активність глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази і супероксиддисмутази. При різноманітних нефропатіях спостерігається зниження концентрації мелатоніну в тканині нирок, що корелює зі зниженням концентрації антиоксидантних ферментних систем і відновленого глутатіону. За окремими даними [31] введення мелатоніну зменшує рівень пероксидного окиснення ліпідів і сприяє поновленню концентрації відновленого глутатіону і підсиленню скавенжерної ферментної активності.

До антистресових систем організму можна віднести також специфічні протеїни, які називають молекулярними шаперонами, а особливо їх специфічний клас – білки теплового шоку (heat shock proteins – HSPs). Шаперони – це внутрішньоклітинні білки, які володіють здатністю запобігати аномальним інтра- й інтермолекулярним зв'язуванням пептидів. Їх синтез викликається різними фізичними та психологічними стресорами. Зокрема, ішемія індукує мРНК, які кодують: імуноглобулінбудуючий протеїн, глюкозорегулюючий протеїн, протеїн ендоплазматичного ретикулуму. Вони сприяють правильному сполученню білків з подальшим утворенням білкових ансамблів, захисту і побудові цитоскелету, а також руйнуванню тих, які вже не піддаються “ремонту”. В певному значенні дія шаперонів спрямована проти пошкоджувальної дії на клітинні структури АФК. Окремі автори [20, 15] вказують на важливу захисну роль шаперонів і, зокрема, HSPs при гострій нирковій недостатності. Після введення, HSPs сприяють відновленню нормального функціонування нирки завдяки: 1) рефальцюванню денатурованих білків; 2) знешкодженню (деградації) непоправно пошкоджених білків та токсичних метаболітів; 3) лімітуванню агрегації пошкоджених пептидів.

Зниження активності антиоксидантних ферментів часто спостерігається при різноманітних нефропатіях. Зокрема, за умов хронічної ниркової недостатності знижується активність ниркової ксантинооксидази, але підвищується активність НАДФ-оксидази, що сприяє окиснювальному стресу за рахунок збільшення супероксиду [33]. При гломерулонефриті спостерігається збільшення активності прооксидантних ферментів (НАДФ-оксидази та НАДФН-оксидази) і зниження антиоксидантних: каталази, супероксиддисмутази та глутіонпероксидази [16]. Зниження антиоксидантного ферментного захисту й збільшення окиснювального пошкодження представляють загальні механі-

зми в патогенезі полікістозу нирок [24]. Під час цього захворювання зменшується експресія мРНК антиоксидантних ферментів: екстрацелюлярної глутатіонпероксидази, каталази та глутатіон-S-трансферази в плазмі та нирковій тканині шурів хворих полікістозом.

Література. 1. *Й. Дудель, Й Рюгг, Р Шмидт и др.* Физиология человека: в 3-х томах. Пер. с англ./ Под ред. Р. Шмидта и Г Тевса.— М.: Мир, 1996. 2. *Зайчик А.Ш., Чурилов Л.И.* Основы общей патологии. Часть 1. Основы общей патофизиологии. (Учебное пособие для студентов медВУЗов) — СПб.: ЭЛБИ, 1999. — 624 с. 3. *Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В.* Биохимия человека: в 2-х томах. Пер. с англ.: — М.: Мир, 1993. 4. *Agarwal R.* Proinflammatory effects of oxidative stress in chronic kidney disease: role of additional angiotensin II blockade // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* -2003.-Vol.284, №4.-P.863-869. 5. *Akagi R, Takahashi T, Sassa S.* Fundamental role of heme oxygenase in the protection against ischemic acute renal failure // *Jpn. J. Pharmacol.* -2002.-Vol.88, №2.-P.127-132. 6. *Allen T, Rana SV.* Oxidative stress by inorganic arsenic: modulation by thyroid hormones in rat // *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* -2003.-Vol.135, №2.-P.157-162. 7. *Aragno M, Cutrin JC, Mastrocola R, Perrelli MG, Restivo F, Poli G, Danni O, Boccuzzi G.* Oxidative stress and kidney dysfunction due to ischemia/reperfusion in rat: attenuation by dehydroepiandrosterone // *Kidney Int.* -2003.-Vol.64, №3.-P.836-843. 8. *Busnakian AG, Kaushal GP, Shah SV.* Apoptotic pathways of oxidative damage to renal tubular epithelial cells // *Antioxid. Redox. Signal.* -2002.-Vol.4, №6.-P.915-924. 9. *Bhaskaran M, Reddy K, Radhakrishnan N, Franki N, Ding G, Singhal PC.* Angiotensin II induces apoptosis in renal proximal tubular cells // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* -2003.-Vol.284, №5.-P.955-965. 10. *Chen CF, Usat SY, Ma MC, Wu MS.* Hypoxic preconditioning enhances renal superoxide dismutase in rats // *J. Physiol.* -2003.-Vol.1. 11. *Cho CG, Kim HJ, Chung SW, Jung KJ, Shim KH, Yu BP, Yodoi J, Chung HY.* Modulation of glutathione and thioredoxin systems by calorie restriction during the aging process. *Exp Gerontol.* -2003.-Vol.38, P.539-548. 12. *Dong Z, Wang JZ, Yu F, Venkatachalam MA.* Apoptosis-resistance of hypoxic cells: multiple factors involved and a role for IAP-2 // *Am. J. Pathol.* -2003.-Vol.163, №2.-P.663-671. 13. *Fabre E, Conti M, Paradis V, Drouot S, Bedossa P, Legendre A, Benoit G, Eschwege P.* Impact of different combined preservation modalities on warm ischemic kidneys: effect on oxidative stress, hydrostatic perfusion characteristics and tissue damage // *Urol. Res.* -2002.-Vol.30, №2.-P.89-96. 14. *Franz-X. Beck, Wolfgang Neuhofer, Eva Myller.* Molecular chaperones in the kidney: distribution, putative roles, and regulation // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* -2000.-Vol.279, Issue 2.-P.203-215. 15. *Gaertner SA, Janssen U, Ostendorf T, Koch KM, Floege J, Gwinner W.* Glomerular oxidative and antioxidative systems in experimental mesangioproliferative glomerulonephritis // *J. Am. Soc. Nephrol.* -2002.-Vol.13, №12.-P.2930-2937. 16. *Gonzales S, Noriega GO, Tomaro ML, Pena C.* Angiotensin-(1-7) stimulates oxidative stress in rat kidney // *Regul. Pept.* -2002 Vol.15.-P.67-70. 17. *Ha H, Lee HB.* Oxidative stress in diabetic nephropathy: basic and clinical information // *Curr. Diab. Rep.* -2001.-Vol.1, №3.-P.282-287. 18. *Kaushik S, Kaur J.* Chronic cold exposure affects the antioxidant defense system in various rat tissues // *Clin. Chim. Acta.* -2003.-Vol.1, №1.-P.69-77. 19. *Kelly KJ.* Stress response proteins and renal ischemia // *Minerva Urol. Nefrol.* -2002.-Vol.54, №2.-P.81-91. 20. *Kunduzova OR, Escourrou G, Seguelas MH, Delagrang P, De La Farge F, Cambon C, Parini A.* Prevention of apoptotic and necrotic cell death, caspase-3 activation, and renal dysfunction by melatonin after ischemia/reperfusion // *FASEB J.* -2003.-Vol.17, №8.-P.872-874. 21. *Lerman L, Textor SC.* Pathophysiology of ischemic nephropathy // *Urol. Clin. North. Am.* -2001.-Vol.28, №4.-P.793-803. 22. *Martin C, Dutertre-Catella II, Radionoff M, Debray M, Benstaali C, Rat P, Thevenin M, Touitou Y, Warner JM.* Effect of age and photoperiodic conditions on metabolism and oxidative stress related markers at different circadian stages in rat liver and kidney // *Life Sci.* -2003.-Vol.6, P.327-335. 23. *Maser RL, Vassmer D, Magenheimer BS, Calvet JP.* Oxidant stress and reduced antioxidant enzyme protection in polycystic kidney disease // *J. Am. Soc. Nephrol.* -2002.-Vol.13, №4.-P.991-999. 24. *Meng S, Cason GW, Gannon AW, Racusen IC, Manning RD Jr.* Oxidative stress in Dahl salt-sensitive hypertension // *Hypertension.* -2003.-Vol.41, №6.-P.1346-1352. 25. *Quiroz Y, Bravo J, Herrera-Acosta J, Johnson RJ, Rodriguez-Iturbe B.* Apoptosis and NF κ B activation are simultaneously induced in renal tubulointerstitium in experimental hypertension // *Kidney Int. Suppl.* -2003.-Vol.86.-P.27-32. 26. *Rana SV, Rastogi N.* Antioxidative enzymes in the liver and kidney of alloxan induced diabetic rats and their implications in cadmium toxicity // *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR.* -2000.-Vol.32, №1.-P.67-74. 27. *Reckelhoff JF, Romero JC.* Role of oxidative stress in angiotensin-induced hypertension // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* -2003.-Vol.284, №4.-P.893-912. 28. *Rustom R, Wang B, McArdle F, Shalamanova L, Alexander J, McArdle A, Thomas CE, Bone JM, Shenkin A, Jackson MJ.* Oxidative stress in a novel model of chronic acidosis in LLC-PK1 cells // *Nephron. Exp. Nephrol.* -2003.-Vol.95, №1.-P.13-23. 29. *Sakac V, Sakac M.* Free oxygen radicals and kidney diseases – part I // *Med. Pregl.* -2000.-Vol.53, №9-10.-P.463-474. 30. *Sener G, Sehrtli AO, Satiroglu H, Keyer-Uysal M, Yegen BC.* Melatonin prevents oxidative kidney damage in a rat model of thermal injury // *Life Sci.* -2002.-Vol.10, №25.-P.2977-2985. 31. *Shepard M, Dhulipala P, Kabaria S, Abraham NG, Lianos EA.* Heme oxygenase-1 localization in the rat nephron // *Nephron.* -2002.-Vol.92, №3.-P.660-664. 32. *Vaziri ND, Dicus M, Ho ND, Boroujerdi-Rad L, Sindhu RK.* Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency. // *Kidney Int.* -2003.-Vol.63, №1.-P.179-185. 33. *Wilcox CS.* Reactive oxygen species: roles in blood pressure and kidney function // *Curr. Hypertens. Rep.* -2002.-Vol.4, №2.-P.160-166. 34. *Wojcicka G, Beltowski J.* Oxidative stress in glomerulonephritis // *Postepy Hig. Med. Dosw.* -2001.-Vol.55, №6.-P.855-869. 35. *Woods JS, Kavanagh TJ, Corral J, Reese AW, Diaz D, Ellis ME.* The role of glutathione in chronic adaptation to oxidative stress: studies in a normal rat kidney epithelial (NRK52E) cell model of sustained upregulation of glutathione biosynthesis // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* -1999.-Vol.1, №3.-P.207-216.

РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПОВРЕЖДЕНИИ ПОЧЕК

В.П. Присяжнюк, П.В. Присяжнюк, О.П. Пирожок

Резюме. Воздействие стрессоров различной природы приводит к активации синтеза активных форм кислорода (АФК), с последующим повреждением клеток. Для защиты от окислительных повреждений клеток существуют антиоксидантные системы. Нарушение взаимодействия про- и антиоксидантных систем с интенсификацией процессов свободно-радикального окисления приводит к возникновению патологии.

Ключевые слова: окислительный стресс, почки, антиоксидантные системы

ROLE OF THE OXIDATIVE STRESS IN KIDNEY DAMAGE

V.P. Prisyazhniuk, P.V. Prisyazhniuk, O.P. Pirozhok

Abstract. The influence of different stressors causes an activation of reactive oxygen species (ROS) synthesis followed by cell damage. Protection from oxidative damage is realized by antioxidant systems. Disorders of the correlation of pro- and antioxidant systems with an intensification of free radical oxidation results in pathology development.

Key words: oxidative stress, kidneys, antioxidative systems.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. – 2004. – Vol.3, №4. – P.105–108.

Надійшла до редакції 22.11.2004