

БІОХІМІЧНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК У ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ЗОВНІШНЬОГО γ -ОПРОМІНЕННЯ

Л.І. Довганюк, Ю.Є. Роговий, Т.М. Бойчук
БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

У досліджах на 50 білих нелінійних щурах-самцях за умов впливу на організм зовнішнього γ -опромінення в дозі 2 Гр на 28-му добу розвитку патологічного процесу встановлено порушення головного енергозалежного процесу в нирках – реабсорбції іонів натрію та тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку, що супроводжувалося зростанням вмісту в кірковій речовині цього органа дієнових кон'югат, малонового діальдегіду при зниженні активності каталази. Підвищення активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази є недостатнім для компенсації порушень функцій нирок.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нирки, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидна активність, зовнішнє γ -опромінення, реабсорбція іонів натрію.

ВСТУП. Відомо, що патогенний вплив зовнішнього γ -опромінення реалізується через активацію процесів перекисного окиснення ліпідів у органах і тканинах, які характеризуються високим рівнем кровопостачання та парціального тиску кисню [1, 11]. З іншого боку, нирки, які мають масу меншу, ніж 1 % від ваги тіла, використовують близько 20 % хвилинного об'єму крові та поглинають 10 % усього кисню, що надходить в організм, при цьому 90 % кровообігу та поглинання кисню припадає на кіркову ділянку нирок [8]. Той кисень, що надходить до нирок, потрібен для забезпечення головного енергозалежного процесу в цьому органі – реабсорбції іонів натрію [3]. Це закономірно ставить питання про те, що патогенний вплив зовнішнього γ -опромінення повинен призводити до активації реакцій перекисного окиснення ліпідів у кірковій ділянці нирок із порушенням реабсорбції іонів натрію в каналцях нефрону. Разом із тим, у такому аспекті дана проблема практично не досліджувалася.

Мета даної роботи – з'ясувати характер впливу зовнішнього γ -опромінення на стан перекисного окиснення ліпідів та системи антиоксидного захисту в кірковій ділянці у взаємозв'язку із змінами функціонального стану нирок, включаючи головний енергозалежний процес ниркових каналців – реабсорбцію іонів натрію.

© Л.І. Довганюк, Ю.Є. Роговий – к.м.н., Т.М. Бойчук – д.м.н., 2001.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 50 білих нелінійних щурах-самцях масою тіла 160-180 г в умовах гіпонатрієвого раціону харчування. Функцію нирок вивчали на 28-му добу після однократного зовнішнього γ -опромінення в дозі 2 Гр на установці для дистанційної γ -терапії "Луч-1". Водопровідну воду в кількості 5 % від маси тіла за допомогою металевого зонда вводили щурам у шлунок з подальшим 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 й сечі визначали концентрацію креатиніну за реакцією з пікриновою кислотою. Концентрацію іонів натрію в плазмі крові (PNa^+) та сечі (UNa^+) досліджували методом фотометрії полум'я на ФПЛ-1. Клубочкову фільтрацію (C_{cr}) оцінювали за кліренсом ендogenous креатиніну. Екскреторні фракції іонів натрію (EFNa^+), білка (EF_{pr}) та відносну реабсорбцію іонів натрію ($\text{RFNa}^+\%$) оцінювали за формулами:

$$\text{EFNa}^+ = V \square \text{UNa}^+$$

$$\text{EF}_{pr} = V \square U_{pr}$$

$$\text{RFNa}^+\% = (1 - V \square \text{UNa}^+ / \text{C}_{cr} \square \text{PNa}^+) \square 100\% [9].$$

Нирки швидко вилучали і заморожували в рідкому азоті. У кірковій ділянці нирок визначали вміст дієнових кон'югат [2], малонового діальдегіду [10], активність супероксиддисмутази [12], каталази [5], глутатіонпероксидази [7]. Білок у нирках оцінювали за Лоурі [14]. Ферментативну фібринолітичну активність

(ФФА) у кірковій речовині нирок вивчали за лізісом азобібрину, який визначали як різницю між сумарною (СФА) та неферментативною фібринолітичною активністю (НФА) (інкубація гомогенату в присутності блокатора ферментного фібринолізу ϵ -амінокапронової кислоти) за формулою:

$$\text{ФФА} = \text{СФА} - \text{НФА} [6].$$

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

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать результати наших досліджень, при зовнішньому γ -опроміненні через 28 діб рівень діурезу перевищував контрольні дані на 17,48 % ((3,89 \pm 0,14) мл/(2 год \cdot 100 г) в контролі та (4,57 \pm 0,13) мл/(2 год \cdot 100 г) у досліді; $p < 0,01$; $n = 18$). Концентрація креатиніну в плазмі крові не змінювалася ((53,00 \pm 1,20) мкмоль/л у контролі та (56,60 \pm 4,47) мкмоль/л у досліді), швидкість клубочкової фільтрації мала тенденцію до зростання ((441,97 \pm 32,28) мкл/(хв \cdot 100 г) у контролі та (511,49 \pm 27,15) мкл/(хв \cdot 100 г) при дії на організм зовнішнього γ -опромінення). Спостерігалось значне збільшення ступеня протеїнурії: стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату екскреція білка зростала у 2,5 раза (відповідно (0,020 \pm 0,002) мг/100 мкл C_{cr} та (0,050 \pm 0,005) мг/100 мкл C_{cr} ; $p < 0,01$; $n = 18$). При радіаційному навантаженні концентрація іонів натрію в сечі щурів підвищувалася майже у 8 разів, а його екскреція зростала у 8,86 раза, що зберігалось після стандартизації цього показника за швидкістю клубочкової фільтрації (табл. 1). Високі втрати іонів натрію із сечею призводили до порушення натрієвого гомеостазу: концентрація іонів натрію в плазмі крові знижувалася

на 2,57 %. Відносна реабсорбція цього електроліту також значно знижувалася. Внаслідок зменшення інтенсивності ниркового транспорту іонів натрію істотно зростав показник концентраційного індексу цього електроліту.

У кірковій речовині нирок після зовнішнього γ -опромінення в дозі 2 Гр вміст дієнових кон'югат (рис. 1) підвищувався в 3,62 раза, малонового діальдегіду – на 66,67 %, активність супероксиддисмутази – на 63,35 %. Інтенсивність каталазної реакції знижувалася в 9,86 раза. Активність глутатіонпероксидази підвищувалася на 30,38 %. У цій ділянці нирок знижувалася ферментативна фібринолітична активність (рис. 2).

Тлумачення отриманих результатів могло би бути таким. Зовнішнє γ -опромінення викликає активацію перекисного окиснення ліпідів у кірковій ділянці нирок, чому сприяють високі рівні кровопостачання цієї речовини даного органа та зумовлений цим високий парціальний тиск кисню. Разом із тим, реакції пошкодження будуть реалізовані переважно на рівні проксимального відділу нефрону, який більш чутливий до активації реакцій перекисного окиснення ліпідів, порівняно з дистальним канальцем [13]. Це призводить до зниження відносної реабсорбції іонів натрію, зростання його екскреції із сечею, зниження концентрації цього електроліту в плазмі крові та зростання його концентраційного індексу. Протеїнурія також зумовлена пошкодженням проксимального відділу нефрону, оскільки профільтровані низькомолекулярні білки в клубочках не реабсорбуються в ушкоджених проксимальних канальцях. Зростання доставки іонів натрію до macula densa дистального канальця повинно було б призвести до включення механізму тубуло-гломерулярного

Таблиця 1 – Вплив зовнішнього γ -опромінення на канальцевий транспорт іонів натрію у щурів за умов водного навантаження ($x \pm Sx$)

Показник	Контроль (n=8)	Зовнішнє γ -опромінення в дозі 2 Гр (n=10)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	0,21 \pm 0,02	1,58 \pm 0,08 $p < 0,001$
Екскреція іонів натрію, мкмоль/(2 год \cdot 100 г)	0,81 \pm 0,05	7,18 \pm 0,38 $p < 0,001$
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл C_{cr}	0,19 \pm 0,02	1,43 \pm 0,08 $p < 0,001$
Концентрація іонів натрію в плазмі крові, ммоль/л	136,25 \pm 1,06	132,75 \pm 0,79 $p < 0,05$
Відносна реабсорбція іонів натрію, %	99,99 \pm 0,01	99,91 \pm 0,01 $p < 0,001$
Концентраційний індекс іонів натрію, од.	0,0020 \pm 0,0001	0,0100 \pm 0,001 $p < 0,001$

Примітка. p – ступінь достовірності відмінностей при порівнянні з контролем.

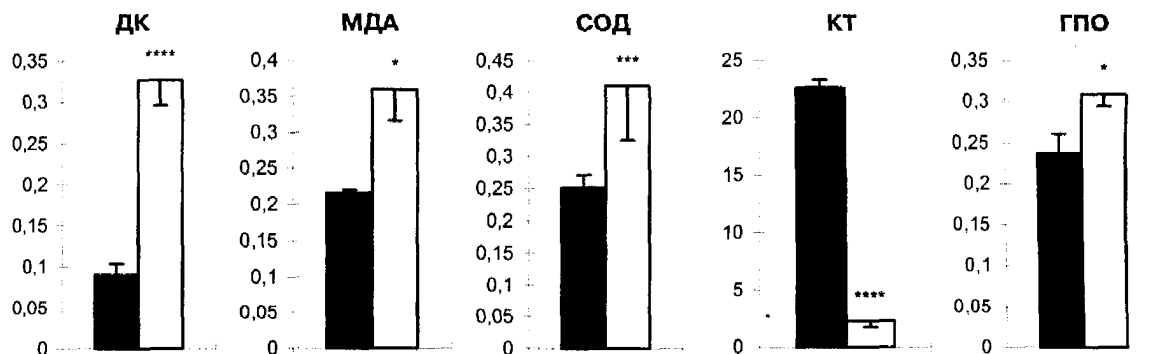


Рис. 1. Перекисне окиснення ліпідів і антиоксидантна активність у кірковій речовині нирок при дії на організм щурів зовнішнього γ -опромінення ($\bar{x} \pm Sx$).

■ – контроль, □ – зовнішнє γ -опромінення в дозі 2 Гр;

ДК – вміст дієнових кон'югатів у кірковій речовині нирок (нмоль/мг білка), МДА – вміст малонового діальдегіду в кірковій речовині (нмоль/мг білка), СОД – активність супероксиддисмутази в кірковій речовині нирок (ОД/хв/мг білка), КТ – активність каталази в кірковій речовині нирок (мкмоль/(хв · мг білка)), ГПО – активність глутатіонпероксидази в кірковій речовині нирок (мкмоль/(хв · мг білка)).

* – $p < 0,05$; *** – $p < 0,01$; **** – $p < 0,001$ – зміни достовірні, порівняно з контролем.

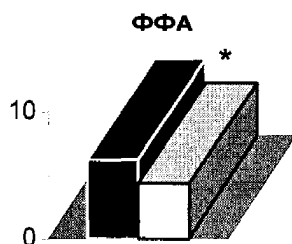


Рис. 2. Ферментативна фібринолітична активність ($E_{440}/(\text{год} \cdot \text{г})$) у кірковій речовині нирок при дії на організм щурів зовнішнього γ -опромінення:

■ – контроль, □ – зовнішнє γ -опромінення в дозі 2 Гр.

* – $p < 0,05$ – зміни достовірні, порівняно з контролем.

зворотного зв'язку з активацією внутрішньо-ниркової ренін-ангіотензинової системи і спазмом приносячої артеріоли під впливом ангіотензину II. Разом із тим, у наших дослідженнях має місце зростання діурезу та спостерігається тенденція до підвищення клубочкової фільтрації, що можна пояснити пошкоджувальним впливом активації реакцій перекисного окиснення ліпідів на юстагломерулярний апарат із порушенням механізму тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку. На пошкодження юстагломерулярного апарату

нирок вказує факт зниження ферментативної фібринолітичної активності в кірковій ділянці нирок, основою якої є урокіназа, а остання, як відомо з даних літератури, продукується цією структурою нирки [4]. Зниження активності каталази сприяє активації реакцій перекисного окиснення ліпідів, а підвищення активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази проявляє захисну дію, але є недостатнім для компенсації порушень функції нирок.

ВИСНОВКИ. Вплив на організм зовнішнього γ -опромінення в дозі 2 Гр на 28-му добу розвитку патологічного процесу характеризується порушенням головного енергозалежного процесу в нирках – реабсорбції іонів натрію та тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку, що супроводжується зростанням вмісту в кірковій речовині цього органа дієнових кон'югат, малонового діальдегіду та зниженням активності каталази. Підвищення активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази є недостатнім для компенсації порушень функції нирок.

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. – 22. – С. 87-90.
2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания

гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – 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. – Киев, 1987. – 38 с.

4. Жила В.В., Кушнирук Ю.И. Местный фибринолиз почек. – К.: Наукова думка, 1986. – 168 с.

5. Корольюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.
6. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Одеса, 1996. – 36 с.
7. Мешищен 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. – Киев, 1991. – 37 с.
8. Наточин Ю.В. Основы физиологии почки. – Л.: Медицина, 1982. – 207 с.
9. Рябов С.И., Наточин Ю.В. Функциональная нефрология. – С.-Пб.: Лань, 1997. – 304 с.
10. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тио-барбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66 – 68.
11. Тимочко М.Ф., Кобилінська Л.І. Вільнорадикальні реакції та їх метаболічна роль // Медична хімія. – 1999. – 1, № 1. – С. 19-25.
12. 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.
13. 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. – Berlin-New York, 1987. – P. 347-352.
14. Lowry O.H., Rosebrough N.I., Parr A.L., Randall R.I. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – 193, № 1. – P. 265-275.

БИОХИМИЧЕСКИ-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК У КРЫС В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ВНЕШНЕГО γ -ОБЛУЧЕНИЯ

Л.И. Довганюк, Ю.Е. Роговый, Т.Н. Бойчук
БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

В опытах на 50 белых нелинейных крысах-самцах в условиях воздействия на организм внешнего γ -облучения в дозе 2 Гр через 28 суток развития патологического процесса установлено нарушение основного энергозависимого процесса в почках – реабсорбции ионов натрия и тубуло-гломерулярной обратной связи, что сопровождалось увеличением содержания в корковом веществе этого органа диеновых конъюгат, малонового диальдегида при снижении активности каталазы. Повышение активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы является недостаточным для компенсации нарушений функции почек.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: почки, перекисное окисление липидов, антиоксидантная активность, внешнее γ -облучение, реабсорбция ионов натрия.

BIOCHEMICAL-FUNCTIONAL KIDNEY STATUS IN RATS UNDER THE INFLUENCE OF EXTERNAL γ -RADIATION

L.I. Dovganuk, Yu.E. Rogovyy, T.M. Boychuk
BUKOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The experiments were carried out on 50 white rats-males under the influence of external γ -radiation in dose of 2 Gr on the 28-th day of pathological process. It was established the disfunction of main energy-dependent process in kidneys – reabsorbition of sodium ions and tubulo-glomerular reverse connection. This was followed by increase of concentration of diene conjugates, malone dialdehyde and decrease of katalase activity in renal cortex. The increase of activity of superoxidedismutase and glutationperoxidase wasn't enough to compensate the disorders of kidney function.

KEY WORDS: kidneys, lipid peroxidation, antioxidant activity, external γ -radiation, reabsorbition of sodium ions.

Отримано 21.12.2000 р

Адреса для листування: Л.І. Довганюк, вул. Стасюка, 23/43, 58018, Чернівці, Україна.

Медична хімія – т. 3, № 2, 2001