

5. Вальдман А. В. Модулирующее действие коротких пептидов на моноаминергические процессы мозга как основа их психотропного эффекта // *Вопр. мед. химии*.— 1984.— № 3.— С. 56—63.
6. Виноградов В. А., Полонский Б. М. Влияние нейропептидов на экспериментальную дуоденальную язву у крыс // *Патол. физиология и эксперим. терапия*.— 1983.— № 1.— С. 3—6.
7. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.— М.: Наука, 1972.— 249 с.
8. Воскресенский О. Н., Девяткина Т. А., Борисенко А. Н. и др. Эмоциональный стресс и физиологическая антиоксидантная система // *Адаптация человека к экстремальным условиям окружающей среды. Тез. докл. 2-й респ. конф.*— Одесса, 1980.— С. 70—71.
9. Воскресенский О. Н., Туманов В. А. Ангиопротекторы.— Киев: Здоров'я, 1982.— 199 с.
10. Девяткина Т. А. Активность физиологической антиоксидантной системы как критерий резистентности организма к стрессу // Тез. докл. II Всесоюз. конф. «Биоантиоксидант», Т. II.— Черноголовка, 1986.— С. 118—119.
11. Клуша В. Е., Муцениеце Р. К., Свирскис Ш. В. и др. Нейроиммунорегулирующие свойства коротких фрагментов белков в условиях иммобилизационного стресса у крыс // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*.— 1987.— № 8.— С. 186—187.
12. Клуша В. Е., Муцениеце Р. К., Свирскис Ш. В. и др. Фрагменты иммунобелков — новые регулирующие пептиды // *Фармакология и научно-технический прогресс. Тез. докл. VI Всесоюз. съезда фармакологов*.— Ташкент.— 1988.— С. 171—172.
13. Макаренко Е. В. Активность супероксиддисмутазы и аденозинтрифосфатазы эритроцитов при хронических заболеваниях печени // Тез. докл. XIX Всесоюз. съезда терапевтов.— М., 1987.— С. 323—324.
14. Меерсон Ф. З. Адаптация к стрессорным ситуациям и стресс-лимитирующие системы организма // *Физиология адаптационных процессов*.— М.: Наука, 1986.— С. 521—622.
15. Меерсон Ф. З., Пшенникова М. Г. Адаптация к стрессовым ситуациям и физическим нагрузкам.— М.: Медицина, 1988.— 253 с.
16. Соколовский В. В., Лебедева Л. В., Лиэлун Т. Б. О методах отдельного определения аскорбиновой, дегидроаскорбиновой и дикетогулоновой кислот // *Лаб. дело*.— 1974.— № 3.— С. 160—162.
17. Судаков К. В. Системный анализ индивидуальных сосудистых реакций животных в условиях экспериментального эмоционального стресса // *Вестн. Акад. мед. наук СССР*.— 1982.— № 7.— С. 11—14.
18. Халмурадов А. Г., Тоцкий В. Н. Механизмы транспорта аскорбиновой кислоты через биологические мембраны // *Укр. биохим. журн.*— 1982.— 54, № 1.— С. 96—107.
19. Crapo James D. The role of superoxide dismutases in pulmonary oxygen toxicity // *Int. conf. single oxygen and relat. species chem. and biol.*, 1977, Abstrs. s. 1, s. a. c/8.
20. Jager F. C. Determination of vitamin E requirement in rats by means of spontaneous haemolysis in vitro // *Nutr. et Diets*.— 1968.— 10, N 3.— P. 215—223.
21. Kluša V. Behavioural and neurochemical effects of thymopentin: an immunoprotein fragment // 8th World meeting of Int. Soc. for Research on appression. July 2—6, 1988, Swansea.— Swansea, UK.— 1988.— P. 63.

Полтав. мед. ин-т
М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил в редакцию 03.11.88

УДК 616.61—002.1—06:616.612—002]:577.115

Ю. Е. Роговой, А. И. Гоженко

Патогенетическое значение перекисного окисления липидов в повреждении проксимального отдела нефрона при остром нефрите Линдемана — Мазуги

Известно, что при гломерулонефрите наряду с повреждением клубочков наблюдаются нарушения канальцевого отдела нефрона, получившие определение ренальные дисфункции [11]. При наиболее адекватной модели гломерулонефрита человека — экспериментальном нефрите Линдемана — Мазуги — в острый период заболевания выявлено снижение проксимальной реабсорбции воды, натрия, осмотически ак-

тивных веществ [3, 9], которое подтверждено и микропункционными исследованиями [16], отмечено также уменьшение реабсорбции глюкозы в проксимальных канальцах при нефрите [4]. Функциональные нарушения сочетаются с морфологическими явлениями зернистой, гидрорической, гиалиново-капельной, жировой дистрофии эпителия проксимальных канальцев [6]. Повреждение проксимального отдела нефрона может быть следствием действия иммунологических и неиммунных механизмов [13]. В последние годы обосновано важное значение лизосом в формировании повреждений проксимальных канальцев при хроническом гломерулонефрите [10], менее понятными являются патогенетические механизмы при остром нефрите, тем более, что, по данным цитируемой работы, функция лизосом в этот период заболевания может даже активироваться. В литературе затронут вопрос о возможной патогенетической роли активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) при гломерулонефрите [5]. Однако в этих работах, выполненных в клинике, суждение о состоянии ПОЛ основано на результатах определения продуктов ПОЛ в крови и моче, что не является прямым доказательством их образования и действия в почках.

Цель нашей работы заключалась в изучении возможной патогенетической роли ПОЛ в повреждении проксимального отдела нефрона при остром экспериментальном нефрите Линдемана — Мазуги.

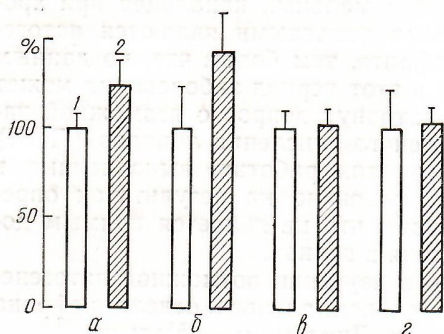
Методика

Опыты проведены на 92 белых нелинейных крысах-самцах массой 130—180 г. Экспериментальный нефрит типа Линдемана — Мазуги воспроизводили по методике, описанной Гоженко [3], для чего использовали нефротоксическую сыворотку (НТС) с титром противпочечных антител в реакции связывания комплемента (РСК) не ниже 1:1 024, обладающую кроме того высокой биологической активностью [8]. Функцию почек изучали в условиях спонтанного суточного и водного индуцированного диуреза. В первом случае крыс содержали в метаболических клетках на низконатриевой диете, регистрировали суточное потребление воды и диурез. Во втором — водопроводную воду (5 % массы тела), подогретую до 37°C, вводили крысам в желудок с помощью зонда и собирали мочу в течение 2 ч после нагрузки. В плазме крови и моче определяли концентрацию креатинина, натрия, осмотически активных веществ [17]. Концентрацию белка в моче определяли с помощью сульфосалицилового метода. Рассчитывали значения показателей реабсорбции и экскреции натрия и осмотически активных веществ, экскрецию белка, клубочковую фильтрацию. Кроме того, в условиях водного диуреза определяли раздельно состояние проксимальной и дистальной реабсорбции [17]. В корковом веществе почек определяли концентрацию диеновых конъюгатов [2] и малонового диальдегида [12], а также оценивали активность ферментов антиоксидантной защиты супероксиддисмутазы [14] и глутатионпероксидазы [7]. Антиоксидант ионол вводили внутривенно в дозах 10 мг/кг в течение 15 сут ежедневно и 30 мг/кг — за 30 мин до водной нагрузки. В корковом веществе почек определяли активность лизосомальных ферментов кислой фосфатазы и катепсина Д [1]. Бета-2-микроглобулин определяли с помощью набора фирмы «Pharmacia Diagnostics AB» (Швеция), иммуноглобулин Е — с помощью набора «IgE-PRIST» фирмы «Pharmacia Diagnostics» (Швеция) на установке «Гамма-1». Эвтаназию животных осуществляли декапитацией под эфирным наркозом. Статистическую обработку результатов проводили по программам на микрокалькуляторе «Электроника МК-61».

Результаты и их обсуждение

Известно, что к 15-м суткам после введения НТС развивается гетерологическая фаза экспериментального гломерулонефрита [3, 9]. Подтверждением этого служат данные об увеличении количества IgE в плазме крови от $(0,14 \pm 0,01)$ до $(0,67 \pm 0,02)$ Ку/л ($P < 0,001$). В этот период четко выявляются основные нарушения функции почек, присущие гломерулонефриту: увеличиваются протеинурия от $(0,134 \pm 0,018)$ до $(1,671 \pm 0,561)$ мг/100 мл $C_{сч}$ ($P < 0,05$), экскреция натрия — от $(2,84 \pm 0,33)$ до $(4,25 \pm 0,40)$ мкмоль $\cdot 2 \text{ ч}^{-1} \cdot 100 \text{ г}^{-1}$ ($P < 0,02$), разви-

вается ретенционная азотемия, судя по увеличению концентрации креатина в плазме крови от $(44,03 \pm 1,43)$ до $(75,17 \pm 4,79)$ мкмоль/л ($P < 0,001$). Выявленные нарушения — следствие изменения процессов, происходящих в почках: уменьшения клубочковой фильтрации — от $(37,80 \pm 4,38)$ до $(19,73 \pm 1,81)$ мл $\cdot 2 \text{ ч}^{-1} \cdot 100 \text{ г}^{-1}$ и реабсорбции натрия — от $(99,95 \pm 0,01)$ до $(99,83 \pm 0,03)$ % ($P < 0,01$). В результате морфологических исследований обнаружены изменения, характерные для мембранозного нефрита: неравномерное утолщение, двухконтур-



ность базальных мембран капилляров клубочков.

Исследования, проведенные при гипергидратации, позволили ус-

Перекисное окисление липидов и антиокислительная активность коркового вещества почек крыс при остром нефрите Линдемана — Мазуги (1 — контроль, 2 — 15-е сутки острого нефрита):

а — диеновые конъюгаты, б — малоновый диальдегид, в — супероксиддисмутаза, г — глутатионпероксидаза.

тановить, что угнетение реабсорбции при остром нефрите Линдемана — Мазуги происходит преимущественно в проксимальных канальцах, на что указывает снижение проксимальной реабсорбции воды на 9,35 % ($P < 0,001$), натрия — на 13,60 % ($P < 0,001$) и осмотически активных веществ — на 6,88 % ($P < 0,02$). Эти результаты согласуются с данными ранее проведенных исследований [3, 9]. О нарушении функции проксимального отдела нефрона свидетельствовало также снижение реабсорбции бета-2-микроглобулина (белка, полностью фильтрующегося в клубочках и реабсорбирующегося исключительно в проксимальном отделе нефрона) на 62,26 % ($P < 0,05$). Морфологически выявлена зернистая и гидропическая дистрофия эпителия проксимальных канальцев.

При исследовании лизосомальных ферментов катепсина Д и кислой фосфатазы в корковом веществе почек не выявлено достоверных различий по сравнению с контролем (табл. 1). Это позволяет заключить, что лизосомы, вероятно, не играют ведущей роли в повреждении проксимальных канальцев в острый период гломерулонефрита.

При оценке ПОЛ коркового вещества почек (рисунок) выявлено увеличение концентрации диеновых конъюгатов в среднем на 20 % ($P < 0,02$) и малонового диальдегида — на 48 % ($P < 0,01$). В отношении ферментов антиокислительной защиты супероксиддисмутаза и глю-

Таблица 1. Активность кислой фосфатазы и катепсина Д коркового вещества почек при остром нефрите Линдемана — Мазуги у крыс на 15-е сутки после введения нефротоксической сыворотки ($\bar{x} \pm \bar{Sx}$)

Показатель	Контроль (интактные крысы)	Опыт (крысы с острым нефритом)
Активность кислой фосфатазы, мкмоль $P_1 \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$:		
общая	(n=7) $2,773 \pm 0,098$	(n=8) $2,964 \pm 0,150$
свободная	$2,578 \pm 0,127$	$2,753 \pm 0,148$
Латентность, %	$7,10 \pm 2,82$	$7,18 \pm 1,35$
Активность катепсина Д, мг белка $\cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$:	(n=10)	(n=12)
общая	$0,1133 \pm 0,0116$	$0,1123 \pm 0,0095$
свободная	$0,0503 \pm 0,0062$	$0,0479 \pm 0,0081$
Латентность, %	$54,84 \pm 4,76$	$56,16 \pm 6,52$

Примечание. Здесь и в табл. 2 n — число наблюдений.

татионпероксидазы не отмечалось достоверных различий по сравнению с контролем.

Сочетание функциональных и морфологических нарушений проксимального отдела нефрона с активацией ПОЛ коркового вещества почек при остром нефрите позволило (с учетом данных литературы о том, что корковое вещество почки крысы преимущественно представлено проксимальными канальцами [17]) предположить, что ПОЛ может быть патогенетическим звеном повреждения проксимального отдела нефрона при гломерулонефрите. С целью подтверждения этого предположения были проведены опыты по изучению влияния антиоксиданта ионола на функцию почек, в том числе и на проксимальную реабсорбцию при остром нефрите Линдемана — Мазуги.

Установлено, что на фоне введения ионола (табл. 2) у крыс с нефритом снижаются экскреция натрия, осмотически активных веществ, белка, увеличивается клубочковая фильтрация, снижается ретенционная азотемия по сравнению с таковыми интактных животных. Уменьшение выделения натрия и осмотически активных веществ явилось следствием повышения их реабсорбции в канальцах, причем особенно усиливалась проксимальная реабсорбция. Следует отметить, что защитное действие ионола сопровождается уменьшением концентрации малонового диальдегида на 30,24 % ($P < 0,01$) в корковом веществе почек.

Т а б л и ц а 2. Влияние ионола на показатели деятельности почек при остром нефрите Линдемана — Мазуги ($\bar{x} \pm Sx$)

Показатель	Нефрит Линдемана— Мазуги (n=8)	Нефрит Линдема- на—Мазуги на фоне введения ионола (n=9)
Диурез, мл·2 ч ⁻¹ ·100 г ⁻¹	3,33 ± 0,21	3,35 ± 0,19
Экскреция белка, мг/100 мл С _{сч}	2,29 ± 0,98	0,41 ± 0,06
Экскреция натрия, мкмоль/100 мл С _{сч}	11,90 ± 2,18	4,12 ± 0,34 P < 0,01
Реабсорбция натрия, мкмоль·2 ч ⁻¹ ·100 г ⁻¹	2856 ± 116	4024 ± 269 P < 0,01
Экскреция осмотически активных веществ, мкосм/100 мл С _{сч}	1744 ± 139	1361 ± 96 P < 0,05
Реабсорбция осмотически активных веществ, мкосм·2 ч ⁻¹ ·100 г ⁻¹	5666 ± 228	8014 ± 541 P < 0,01
Клубочковая фильтрация, мл·2 ч ⁻¹ ·100 г ⁻¹	21,61 ± 0,98	30,14 ± 2,08 P < 0,01
Концентрация креатинина плазмы крови, мкмоль/л	100,64 ± 3,52	79,64 ± 2,27 P < 0,001
Проксимальная реабсорбция воды, мл/100 мл С _{сч}	84,35 ± 1,25	88,49 ± 1,00 P < 0,05
Проксимальная реабсорбция натрия, ммоль/100 мл С _{сч}	11,17 ± 0,16	11,84 ± 0,18 P < 0,02
Проксимальная реабсорбция осмотически активных веществ, мосм/100 мл С _{сч}	23,62 ± 0,33	24,81 ± 0,28 P < 0,02

П р и м е ч а н и е. P — достоверность различий значений показателей по сравнению с таковыми при нефрите Линдемана — Мазуги.

Таким образом, в острый период экспериментального гломерулонефрита четко выявляются функциональные нарушения проксимальных канальцев, не сопровождающиеся существенными изменениями активности лизосомальных ферментов. Это позволяет считать, что активация лизосом с лабилизацией их мембран и последующим повреждающим действием лизосомальных ферментов не играет важной патогенетической роли в развитии канальцевых дисфункций в этот период заболевания. Возможно, лизосомальные ферменты имеют большое значение при нефротических вариантах гломерулонефрита с развитием тяжелой протеинурии, а также в хроническую фазу болезни. В то же время результаты, свидетельствующие об активации в корковом ве-

ществе почек ПОЛ, а также блокада этого процесса ионолом у крыс, сопровождающаяся снижением тяжести нефрита и нормализацией проксимальной реабсорбции, позволяют прийти к заключению о патогенетической роли активации ПОЛ в развитии канальцевой дисфункции при экспериментальном гломерулонефрите. Можно предположить, что активация ПОЛ либо является следствием нарушений почечного кровотока с развитием ишемии коркового вещества, либо обусловлена генерацией активных форм кислорода лейкоцитами, инфильтрирующими клубочки и паренхиму почек при гломерулонефрите. Полученные результаты позволяют предположить, что блокада ПОЛ может осуществляться патогенетической коррекцией острого гломерулонефрита.

THE PATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF LIPID PEROXIDATION IN INJURY OF A PROXIMAL NEPHRON DURING THE LINDEMAN-MASUGI ACUTE NEPHRITIS

Yu. E. Rogovoy, A. I. Gozhenko

During the acute experimental nephritis a decrease of reabsorption by proximal tubules is combined with the activation of the lipid peroxidation into the renal cortex without changes in the activation of lysosomal enzyme of acid phosphatase and cathepsin D. Ionol, an inhibitor of oxygen products, exerts a protective action on the renal function and reabsorption by proximal tubules, decreasing concentration of the malondialdehyde into the renal cortex.

Medical Institute,
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Chernovtsy

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баррет А. Дж., Хит М. Ф. Лизосомные ферменты // Лизосомы. Методы исследования.— М.: Мир, 1980.— С. 25—141.
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. Есаян А. М. Функциональное состояние проксимальных отделов нефронов при гломерулонефрите // VII Всесоюз. конф. по физиологии почек и водно-солевого обмена.— Киев: Изд-во Киев. ун-та, 1985.— С. 60.
5. Жмуров В. А., Крылов В. И., Петрушина А. Д. и др. Особенности мембранодестабилизующих процессов у детей с различными морфологическими проявлениями гломерулонефрита у детей // Вопр. охраны материнства и детства.— 1987.— 32, № 5.— С. 35—37.
6. Ковтун Т. И. Изменение почечных канальцев при различных формах гломерулонефрита // Арх. патологии.— 1982.— 44, вып. 6.— С. 49—56.
7. Меишиен И. Ф. Метод определения активности глутатион-S-трансферазы в крови // Применение ферментов в медицине.— Симферополь.— 1987.— С. 135.
8. Никифорова Н. В., Перепечкина Н. П., Варшавский В. А. Нефрит Мазуги: получение активной нефротоксической сыворотки // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1985.— № 9.— С. 377—380.
9. Пахмурный Б. А. Стадии нефрита Мазуги // Материалы Всесоюз. конф. по физиологии почек и водно-солевого обмена.— Л., 1978.— С. 179.
10. Плоткин В. Я. Один из возможных механизмов развития и прогрессирования хронического гломерулонефрита // Терапевт. арх.— 1988.— 60, № 6.— С. 19—24.
11. Ратнер М. Я., Серов В. В., Томилина Н. А. Ренальные дисфункции.— М.: Медицина, 1977.— 296 с.
12. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии.— М.: Медицина, 1977.— С. 66—68.
13. Тареева И. Е. Механизмы прогрессирования гломерулонефрита // Терапевт. арх.— 1988.— 60, № 6.— С. 3—7.
14. Чевари С., Чабан И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело.— 1985.— № 11.— С. 678—681.
15. Шук О. Функциональное исследование почек.— Прага: Авиценум, 1981.— 344 с.