

Стан осмоконцентраційної функції нирок за умов впливу неспецифічних факторів трансплантації на фоні гіперкальціємії

В експерименте на крысах функциональная нагрузка (36 ч водной депривации) позволила установить, что почка, подвергнутая воздействию неспецифических факторов трансплантации (ишемии, денервации и делимфатизации) восстанавливает способность поддерживать осмотический гомеостаз к 17-м суткам. Действие тех же альтеративных факторов на фоне гиперкальциемии не сопровождается восстановлением осмоконцентрационной функции к 30-м суткам эксперимента. Одной из причин этого явления может быть повышение скорости клубочковой фильтрации, наряду с нарушением тубуло-гломерулярной обратной связи. Показано, что при оценке функции осмоконцентрации почек целесообразно пересчитывать анализируемые показатели на стандартную величину скорости клубочковой фильтрации, что позволяет установить ее роль в нарушении транспорта воды и ионов.

Вступ

Після трансплантації нирок протягом тривалого часу відзначається порушення функціонального стану органу, яке найбільшою мірою проявляється в перший місяць функціонування трансплантату, навіть якщо відсутні ознаки імунологічних ускладнень. Нині немає достатньо повних даних про роль «неімуних» факторів трансплантації в порушенні однієї з головних функцій пересаженої нирки — осморегулюючої. Це порушення можуть спричиняти теплова ішемія органу, розладнання лімфовідтоку та прогресуючий з часом нейродистрофічний процес. Більше того, гіперпаратиреоїдизм, який виникає ще в організмі хворих на хронічну ниркову недостатність, призводить у 31,1 % випадків до виникнення гіперкальціємії [1], котра зменшує проникність збіральних трубок для води інгібуванням активності аденілатциклази та синтезу циклічної аденозинмонофосфornoї кислоти (цАМФ) у відповідь на вплив вазопресину. У товстій висхідній гілці петлі Генрі можливі ще й інші механізми цього процесу — зменшення транспорту в збіральних трубках, підвищення продукції простагландинів нирковою тканиною, внутрішньоклітинна ацидифікація [7, 9]. Виходячи з літературних даних тривалість водної депривації, яку використовують для оцінки осмоконцентраційної функції нирок, повинна становити 18 год [4]. За цей час осмолярність сечі досягає 90 % тих значень, які спостерігаються при 36-годинному позбавленні води [5], проте максимального осмоконцентрування не настає. Якщо прагнення клініцистів обмежити дослідження до 18 год зрозуміле й продиктовано відмовою хворих продовжувати функціональну пробу, то використання експериментаторами на різних моделях довільно обраного інтервалу часу в діапазоні 18—36 год дає погано зіставлені дані та вимагають спеціального вивчення. Окрім того, оцінюючи осморегулюючу функцію нирок за традиційними показниками легко поми-

литись, якщо не враховувати швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ), на що вказував у своїх дослідженнях Ратнер [4]. Особливість інтерпретації одержаних даних полягає в тому, що ШКФ може впливати на значення розглянутих показників внаслідок зміни загрузки нефронів ультрафільтратом.

Мета нашої роботи — визначити оптимальну тривалість періоду водної депривації для об'єктивної оцінки осмоконцентраційної функції нирки, роль гіперкальціємії та клубочкової фільтрації в її змінюванні при впливі неспецифічних факторів трансплантації.

Методика

Дослідження виконано на щурах-самцях масою 180—200 г. Контрольну групу склали 20 псевдооперованих тварин. Щурам I групи (65 тварин) під тиопенталовим наркозом (5 мг/100 г) проводили двосторонню денервацію, делімфатизацію та 20-хвилинну ішемію нирок. Тваринам II групи (72 щура), окрім перерахованих вище впливів, з першої доби протягом усього дослідження внутрішньом'язово вводили 0,3 од паратиреоїдного гормону (ПТГ) і «рег ос» 300 Мод ергокальциферолу на 100 г маси. Замість води тварини одержували 0,5 %-й розчин глюконату кальцію. Це дозволяло досягати у тварин стійкої гіперкальціємії. Підготовка тварин до експериментів, операцій, анестезіологічне забезпечення та виведення із досліду здійснювали відповідно з наказом МОЗ СРСР № 755 від 12.08.77 р. «Про міри з подальшого вдосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин». Концентрація загального кальцію сировотки крові, яку визначали атомно-адсорбційним методом на спектрометрі «Сатурн-3», становила $3,2 \text{ ммоль/л} \pm 0,15 \text{ ммоль/л}$, що на 45,5 % більше від контрольних значень. Активність кальцію виміряли за допомогою іонселективного електроду (Грузія) за методом Мура у модифікації Моніна [5]. Концентрація іонізованого кальцію була $1,66 \text{ ммоль/л} \pm 0,12 \text{ ммоль/л}$ (при нормі $1,03 \text{ ммоль/л} \pm 0,10 \text{ ммоль/л}$), що також свідчило про розвиток гіперкальціємії. Перерахування вмісту кальцію на 1 л сироваткової води не проводили через те, що рівень загального білка та альбуміну плазми крові був незмінний. Протягом місячного терміну у кожній тварини збирали сечу у функціональній клітці на фоні вільного водного режиму, 18 і 36 год сухоїдіння. Значення показників осмоконцентраційної функції нирок дозволило поділити місячний термін спостереження на 3 періоди: з 1-ї до 5-ї, з 6-ї до 16-ї та з 17-ї до 30-ї доби. В одержаних пробах крові та сечі визначали концентрацію креатиніну методом Яффе, натрію та калію — полум'яної фотометрії, концентрацію осмотично активних речовин — криоскопічним методом на осмометрі «ОМКА ІЦ-01» з наступним перерахунком значень таких показників, як: хвилинний діурез, клубочкова фільтрація, концентраційний індекс та реабсорбція осмотично вільної води [3]. Показники осмоконцентраційної функції та ШКФ дослідних тварин порівнювали з такими здорової тварини. Цей підхід уперше запропонував Ратнер [4] і стосовно до дослідної тварини — щура можуть бути представлені максимальною осмотичною концентрацією сечі (МОКС), максимальним осмотичним концентраційним індексом (МОКІ) і здатністю нирок до максимального осмотичного концентрування (ЗМОК). МОКС — це розрахункова величина максимальної осмотичної концентрації сечі, утворена масою діючих нефронів, які формують 0,5 мл клубочкового фільтрату за 1 хв.

МОКС розраховували за формулою (мосм/л):

$$\text{МОКС} = (0,5 (U_{\text{осм}} - 300) + \text{ШКФ}) / \text{ШКФ},$$

де $U_{\text{осм}}$ і ШКФ — осмолярність сечі та швидкість клубочкової фільтрації відповідно дослідних тварин; 300 мосм — осмолярність плазми; $0,5 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} / 100 \text{ г}$ — ШКФ здорової тварини; МОКІ являє собою розрахункову величину максимального осмотичного концентраційного індексу, створеного масою діючих нефронів, які формують $0,5 \text{ мл}$ клубочкового фільтрату за 1 хв і розраховується за формулою:

$$\text{МОКІ} = (0,5 (U_{\text{осм}} / P_{\text{осм}} - 1) + \text{ШКФ}) / \text{ШКФ},$$

де $U_{\text{осм}}$, $P_{\text{осм}}$, ШКФ — осмолярність сечі, плазми та швидкість клубочкової фільтрації відповідно дослідних тварин; 1 — осмотичний концентраційний індекс при відсутності в нирці осмотичного концентрування; $0,5 \text{ мл} \cdot \text{хв}^{-1} / 100 \text{ г}$ — ШКФ контрольних тварин.

ЗМОК є розрахунковою величиною, яка показує яким було б максимальне осмотичне концентрування у здорової тварини, якщо б ШКФ була такою ж, як у дослідної тварини і розраховується за формулою:

$$\text{ЗМОК} = C_{\text{ф}} / C_{\text{н}} \cdot 100,$$

де $C_{\text{ф}} = U_{\text{осм}}^{\text{д}} - P_{\text{осм}}^{\text{д}}$, $C_{\text{н}} = (U^3 - P^3 \cdot \text{ШКФ}^{\text{д}}) / \text{ШКФ}^3$.

$C_{\text{ф}}$, $C_{\text{н}}$ — фактичне і належне відповідно максимальне осмотичне концентрування, ШКФ^3 , U^3 , P^3 , $\text{ШКФ}^{\text{д}}$, $U^{\text{д}}$, $P^{\text{д}}$, ШКФ, осмолярність сечі та плазми здорових і дослідних відповідно тварин.

Результати та їх обговорювання

Статистично значуща динаміка осмолярності сечі, концентраційного індексу та реабсорбції осмотично вільної води в контрольній групі встановлена тільки при 36-годинному періоді дослідження.

У I групі тварин, які знаходилися на вільному водному режимі, осмолярність сечі та концентраційний індекс порівняно з контролем зменшувалися лише в ранньому періоді спостереження (1—5 діб), реабсорбція осмотично вільної води знаходилася в межах контрольних значень (табл. 1, 2). Упродовж наступного проміжку часу будь-яких порушень осмоконцентраційної функції не відмічали. За результатами 18-годинної функціональної проби протягом перших діб підтверджено зниження осмолярності сечі та концентраційного індексу порівняно з контрольною групою тварин. Новим фактом стало пониження значень цих показників через 6—16 діб з паралельним підвищенням реабсорбції осмотично вільної води. 36-годинна водна депривація у тварин I групи, крім виявлених змін, дозволила засвідчити підвищення реабсорбції осмотично вільної води за 1—5 доби експерименту. Таким чином, характер реакції нирки при 18- і 36-годинній водній депривації дещо відрізнявся в ранні строки і тільки з 17-ї доби відновлювалась однотипна реакція нирок на функціональне навантаження.

Різниці осмоконцентраційної функції нирок тварин у II групі порівняно з I групою при вільному водному режимі не виявлено (табл. 3). При 18-годинній водній депривації спостерігали статистично вірогідне зниження осмолярності сечі та концентраційного індексу протягом усього періоду дослідження і підвищення реабсорбції осмотично вільної води (за винятком періоду з 6-ї по 16-ту добу). Осмолярність сечі та концентраційний індекс досягали нижчого рівня за перші 16 діб дослідження, коли вони становили 265—271 %, а з 17-ї по 30-ту добу 192—203 % від рівня контрольних зна-

Таблиця 1. Показники осмоконцентраційної функції нирок у щурів контрольної групи при вільному водному режимі та різних термінах водної депривації (M±m, n=20)

Умова досліджу	Осмолярність сечі, мосм/л	Відношення осмолярності сечі до осмолярності плазми	Транспорт осмотично вільної води, мл/хв
Вільний режим	2039,20±154,42	6,95±0,62	$6,34 \times 10^{-3} \pm 2,54 \times 10^{-4}$
Водна депривація протягом 18 год	2382,85±155,43	8,13±0,62	$7,68 \times 10^{-3} \pm 4,92 \times 10^{-4}$
протягом 36 год	2411,34±54,66*	8,55±0,25*	$8,58 \times 10^{-3} \pm 1,48 \times 10^{-4}$

* P<0,05.

Таблиця 2. Зміна показників осмоконцентраційної функції нирок у щурів I дослідної групи за умов вільного водного режиму на фоні водної депривації (M±m)

Умова досліджу	Осмолярність сечі, мосм/л	Відношення осмолярності сечі до осмолярності плазми	Транспорт осмотично вільної води, мл/хв
1—5 доби			
Вільний режим (n=21)	1411,00±98,81**	4,91±0,34**	$6,25 \times 10^{-3} \pm 4,92 \times 10^{-4}$
Водна депривація протягом 18 год (n=21)	1798,44±185,42*	6,61±0,29*	$7,36 \times 10^{-3} \pm 6,79 \times 10^{-4}$
протягом 36 год (n=21)	2164,04±82,59*	7,44±0,43*	$21,4 \times 10^{-3} \pm 2,57 \times 10^{-3}***$
6—16 доби			
Вільний режим (n=20)	1702,84±124,52	6,25±0,65	$6,58 \times 10^{-3} \pm 5,34 \times 10^{-4}$
Водна депривація протягом 18 год (n=20)	1900,45±162,89*	6,31±0,35*	$16,5 \times 10^{-3} \pm 2,86 \times 10^{-3}**$
протягом 36 год (n=20)	2150,66±69,73**	7,38±0,36*	$19,3 \times 10^{-3} \pm 1,97 \times 10^{-3}***$
17—30 доби			
Вільний режим (n=24)	1854,90±161,71	6,37±0,68	$6,27 \times 10^{-3} \pm 2,54 \times 10^{-4}$
Водна депривація протягом 18 год (n=24)	2375,17±152,28	9,36±0,84	$9,6 \times 10^{-3} \pm 3,60 \times 10^{-3}$
протягом 36 год (n=24)	2339,64±119,73	7,97±0,19	$11,8 \times 10^{-3} \pm 4,68 \times 10^{-3}$

Примітка. Тут і в табл. 3 * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001 порівняно зі значеннями показників вільного режиму у тварин контрольної групи.

чень. Підвищення тривалості періоду водної депривації до 36 год не виявило якісних змін реакції осмоконцентраційної функції нирок порівняно з 18-годинним навантаженням, хоча реєструвалося збільшення значень показників, які вивчали. Таким чином, подовження водної депривації до 36 год тільки в I групі дозволяло уточнити часову область порушень осмоконцентраційної функції нирок. Проте, цей факт підтверджує доцільність підвищення тривалості такого функціонального навантаження з метою виявлення максимальної концентраційної здатності нирок при прихованій функціональній неповноцінності органу.

Порівняння функціонального стану нирок у дослідних групах показало, що в «спокої» (вільний водний режим) показники осмоконцентрації знаходились у межах контрольних значень, а зробити об'єктивний висновок про

Таблиця 3. Зміна показників осмоконцентраційної функції нирок у щурів II дослідної групи при вільному водному режимі на фоні водної депривації ($M \pm m$)

Умова досліджу	Осмолярність сечі, мосм/л	Відношення осмолярності сечі до осмолярності плазми	Транспорт осмотично вільної води, мл/хв
1—5 доби			
Вільний режим (n=24)	1421,60±58,51**	4,87±0,54*	6,41×10 ⁻³ ±3,33×10 ⁻⁴
Водна депривація протягом 18 год (n=24)	1476,84±145,03***	5,82±0,65*	19,70×10 ⁻³ ±1,67×10 ⁻³
протягом 36 год (n=24)	1920,30±47,74***	6,61±0,53**	20,10×10 ⁻³ ±1,24×10 ⁻³ ***
6—16 доби			
Вільний режим (n=21)	1944,64±52,11	6,67±0,62	6,27×10 ⁻³ ±2,47×10 ⁻⁴
Водна депривація протягом 18 год (n=21)	1170,33±148,63***	4,23±0,53***	8,13×10 ⁻³ ±1,51×10 ⁻³
протягом 36 год (n=21)	2101,50±58,55***	7,21±0,52*	8,24×10 ⁻³ ±1,64×10 ⁻³
17—30 доби			
Вільний режим (n=21)	1988,23±43,41	6,60±0,57	6,37×10 ⁻³ ±4,58×10 ⁻³
Водна депривація протягом 18 год (n=21)	1711,00±134,99**	6,04±0,29*	6,00×10 ⁻³ ±1,86×10 ⁻⁴ **
протягом 36 год (n=21)	2071,13±77,48**	7,28±0,26**	6,14×10 ⁻³ ±1,57×10 ⁻⁴ ***

збереження парціальних функцій нирок надто важко. І тільки функціональне навантаження (доля I групи 36-годинна водна депривація) дозволили встановити, що потужність адаптаційних процесів та підтримка осмотичного гомеостазу відновлювалися до 17-ї доби, чого не можна сказати про 2-у групу до кінця спостереження (30-та доба).

Підвищення реабсорбції осмотично вільної води й падіння значень осмолярності сечі та концентраційного індексу свідчать про збереження транспорту осмотично вільної води в кінцевих відділах дистальних каналців і кортикальних сегментах збіральних трубок, а також порушенні транспорту рідини в її медулярній частині.

Падіння осмоконцентраційної функції в I дослідній групі з 6-ї по 16-ту добу і в II — з 1-ї по 16-ту добу можливо було б пов'язати зі збільшенням ШКФ (рис. 1), а також із підвищенням навантаження нефрону фільтруючою рідиною та порушенням тубулогломерулярного зворотного зв'язку, оскільки в I групі ШКФ на фоні 36 год сухоїдіння протягом 1—5 діб знаходилася поблизу контрольних значень, а потім перевищила їх на 56,3 % ± 4,7 %, за 6—16 доби і через 17—30 діб на 43,7 % ± 14,4 %. У II групі

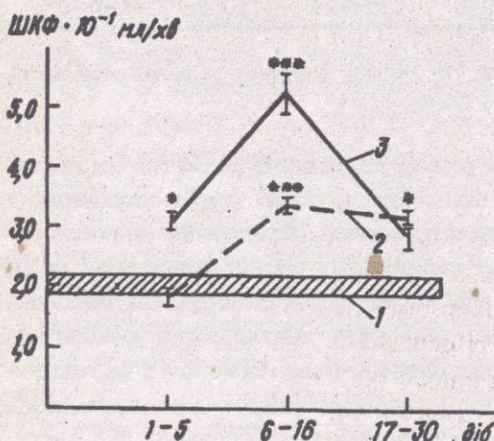


Рис. 1. Динаміка показників швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) у щурів у різні терміни спостереження: 1 — контроль, 2 — I група, 3 — II група. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$.

підвищення ШКФ відмічалось з 1-ї доби і зберігалось до 16-ї доби. При цьому з 1-ї по 5-ту добу ШКФ підвищувалась на $146,5 \% \pm 16,8 \%$, а з 6-ї по 16-ту добу на $242,8 \% \pm 42,1 \%$, в подальшому ШКФ поверталась до контрольного рівня.

Відносно I групи це твердження є необґрунтованим, оскільки, якщо перерахувати значення ШКФ на потужність концентраційного механізму нирки здорової тварини (МОКС, МОКІ, ЗМОК), то стає певним, що таке значення клубочкової фільтрації повинно б забезпечити більш високі значення показників осмоконцентрування (рис. 2). Отже, ШКФ не може нести відповідальність за феномен, який реєструється. У II групі, як уже відмічали, спостерігали порушення осмоконцентраційної функції нирок, причому максимально виражене за 6—16 доби, тобто в ті ж терміни, коли реєстрували значне (майже в 2,5 разів) збільшення ШКФ. Перераховані величини (МОК—31,2 %, МОКІ—30,8 % від контрольного рівня) підтвердили можливість участі високої швидкості клубочкової фільтрації, поруч з альтерацією тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку у виявлених порушеннях осмоконцентраційної функції. Це твердження потребує визначеного пояснення. Відомо, що підвищення ШКФ з фізіологічних умов супроводжується збільшенням реабсорбції в проксимальному каналці іонів і води із каналцевої рідини, тобто відносна швидкість реабсорбції рідини залишається постійною.

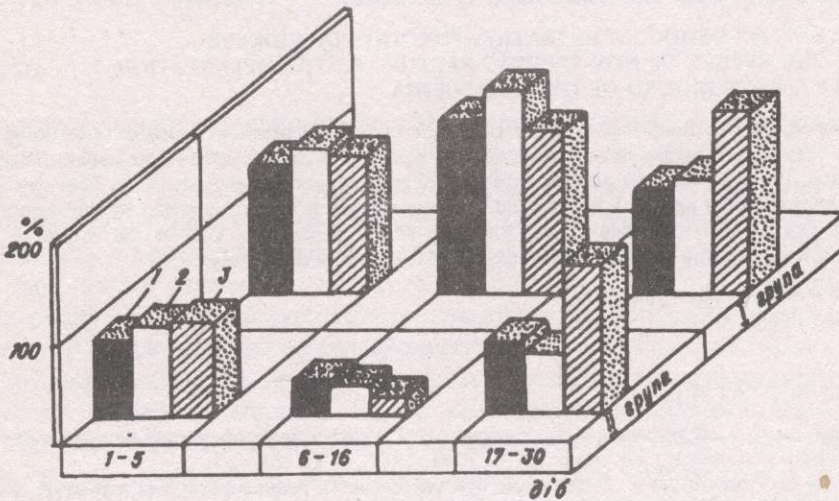


Рис. 2. Показники осмоконцентраційної функції нирок: 1 — максимальна осмотична концентрація сечі, 2 — максимальний осмотичний концентраційний індекс, 3 — здатність до максимального осмотичного концентрування. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

Відповідальними за такий взаємозв'язок є наступні механізми: по-перше, збільшення внутрішнього діаметру каналців, отже, і площі всмоктуваної поверхні, й, по-друге, підвищення осмотичного тиску в перитубулярних капілярах, як наслідок зростання фільтраційної фракції [8]. При збільшенні ШКФ абсолютна кількість речовин, які доставляються в дистальні каналці підвищується і стимулює реабсорбцію, по суті, стає функціональним навантаженням, яке виявляє навіть приховані порушення функції цих відділів нефрону. Взаємозв'язок функції клубочків і каналців забезпечується потоком іонів хлору, які досягають щільної плями Юкстагломерулярного апарату (ЮГА) та активують ренін-ангіотензинову систему (РАС), котра і повинна привести ШКФ до відповідності з потужністю ме-

ханізмів переносу іонів і води в дистальних каналцях. При патологічних становищах це не відбувається і реєструється порушення концентраційної функції. Найбільш імовірною причиною збільшення ШКФ є вазоконстрикція виносної артерії клубочку, котра може наступити, наприклад, внаслідок денерваційної гіперчутливості адренорецепторів судин до циркулюючих катехоламінів [2].

Таким чином, результати досліджень встановили, що вплив на нирку неспецифічних факторів трансплантації призводить до зниження осмолярності сечі та концентраційного індексу за 1—16 добу, причому зміна клубочкової фільтрації не впливає на цей механізм. Дія вказаних вище факторів на фоні гіперкальціємії зменшує осмотичне концентрування протягом місячного періоду спостереження. Однією з причин порушення цієї функції з 6 по 16 добу може бути підвищення швидкості клубочкової фільтрації. Реабсорбція осмотично вільної води в двох групах не зменшується впродовж місячного періоду спостереження.

Проведені дослідження показали, що при оцінці функції осмоконцентрації нирок у дослідних тварин доцільно збільшити період водної депривації до 36 год та перерахувати аналізуючі показники на стандартну величину швидкості клубочкової фільтрації, що дозволяє встановити роль ШКФ у порушенні транспорту води та іонів.

E.F. Barinov, L.A. Buryak, N.N. Bondarenko, A.S. Alemasova

CONDITIONS OF OSMOCONCENTRATION FUNCTION OF KIDNEYS UNDER THE EFFECT OF NON-SPECIFIC FACTORS OF TRANSPLANTATION AGAINST A BACKGROUND OF HYPERCALCEMIA

In experiment on rats functional overload (36 hours of water depression) helps in establishing the fact that the kidney subjected to the actions of non-specific factors of transplantation (ischemia, denervation, delymphatization) restores its ability to keep osmotic haemostasis to the 17th day. The same alternative factors against a background of hypercalcemia is not accompanied by the restoration of mosmoconcentration functions to the 30th day of the experiment. One of the causes of this phenomenon may be the increase in the velocity of filtration in the kidney.

M. Golky Donetsk Medical Institute
Ministry of Public Health of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ермакова И.П., Пронченко И.А., Ушакова М.Д. Регуляция фосфорно-кальциевого обмена в норме и патологии : Сб. науч. тр. — Рига, 1987. — С. 161—171.
2. Кеннон В., Розенблюм А. Повышение чувствительности денервированных структур. Закон денервации: Пер. с англ. — М.: Мир, 1951. — 140 с.
3. Наточин Ю.В. Физиология почки: Формулы, расчеты. — Л.: Наука, 1972. — 64 с.
4. Ратнер М.Я. Методы количественного определения экскреторных функций почек : Основы нефрологии / Под ред. Е.М.Тареева. — М., 1972. — С. 111—134.
5. Рябов С.И., Наточин Ю.В., Бондаренко Б.Б. Диагностика болезней почек. — Л.: Медицина. — 1979. — 255 с.
6. Шюк О. Функциональное исследование почек: Пер. с чеш. — Прага: Авиценнум, 1981. — 344 с.
7. Dousa T.P., Northrup T.E. Cellular interactions between vasopressin and prostaglandins in the mammalian kidney // *Contribs Nephrol.* — 1978. — 12. — P. 106—115.
8. Falchuk K.H., Brenner B.M., Tadokoro M. et al. Oncotic and hydrostatic in peritubular capillaries and fluid reabsorption by proximal tubule // *Amer. J. Physiol.* — 1971. — 220. — P. 1427.
9. Galla J.H., Booker B.B., Luke R.G. Role of the loop segment in the urinary concentrating defect of hypercalcemia // *Kidney Int.* — 1986. — 29. — P. 977—982.

Донец. мед. ін-т ім. М.Горького
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов
до редакції 28.02.94