

Токсичний компонент**у розвитку легеневих пошкоджень
при уремії**

В опытах на 10 собаках и 40 белых крысах установлено, что уремия после трехчасовой двусторонней ишемии почек сопровождалась развитием легочных повреждений. Ультрафильтрат, содержащий молекулы средней массы, был получен у собак на фоне развившихся легочных осложнений. Введение его внутривентриально крысам приводило к сходным морфологическим изменениям в легких в виде внутрисосудистого свертывания, лейкоцитарной инфильтрации, нарушения целостности эндотелия и эпителиальных структур с явлениями отека легких. Сопоставление опытов на собаках и крысах дает возможность заключить, что в развитии легочных осложнений при уремии важное место занимают среднемолекулярные фракции плазмы крови.

Вступ

Гостра та хронічна ниркова недостатність нерідко супроводжується розвитком нефрогенного набряку легень. Механізм пошкодження органів дихання в основному пов'язують з гіпергідратацією і зниженням колоїдно-осмотичного тиску в плазмі крові [5]. Розвиток нефрогенного набряку легень частіше спостерігається у хворих на хронічну ниркову недостатність після вживання надлишкової кількості води, а у хворих на гостру ниркову недостатність - за умов стаціонару при незбалансованій інфузійній терапії. В останні роки з'явилися дані про те, що нефрогенний набряк легень цілеспрямовано відносити до змішаних видів набряку, де на фоні зниження колоїдно-осмотичного та підвищення капілярного гідростатичного тиску відбувається токсичне пошкодження легеневих судин [1]. Разом з тим на даний час не визначені конкретні речовини, які здатні призводити до порушення судинної проникливості в легенях.

Мета нашої роботи - вивчення ролі середньомолекулярних токсичних фракцій у розвитку легеневих пошкоджень при ішемії нирок.

Методика

Робота виконана на 10 собаках і 40 білих щурах. Контрольну групу склали 3 собаки і 10 щурів. У собак під гексеналовим наркозом відтворювали модель гострої ниркової недостатності двобічним перетисканням ниркової ніжки на 3 год. У контролі при інших рівних умовах нирки залишались інтактними. Через 6 год після відновлення кровообігу в нирках трьом собакам дослідної групи робили кровопускання зі стегнових судин до зупинки серцевої діяльності. Одержаний об'єм

крові центрифугували протягом 30 хв при 3000 об/хв. Виділення молекул середньої маси (МСМ) з плазми крові проводили методом ультрафільтрації з використанням мембран УАМ-100 «Владіпор» (діаметр пор $1,25 \times 10^{-12}$ м). Розділення проводили з використанням над мембраною надлишкового тиску 300 кПа. В одержаному ультрафільтраті визначали білок за методом Лоурі.

Ультрафільтрат плазми крові, який містить МСМ, у дозі LD₅₀ вводили внутрішньоочеревинно в об'ємі 10-15 мл. Контрольній групі вводили ідентичний об'єм ізотонічного розчину хлористого натрію. В собак до і після ішемії визначали біохімічні показники крові, які характеризували тяжкість уремії: вміст у крові олігопептидів, що дають лоурі-позитивну реакцію і МСМ за методикою з осадженням білків трихлороцтовою кислотою (ТХО) і з наступним спектрофотометруванням в діапазоні від 238 до 290 нм [4]. Крім екстинції при різних довжинах хвиль у вказаному діапазоні підраховували сумарну площу під кривою на спектрограмі, виражаючи її в умовних одиницях.

Забір матеріалу для електронно-мікроскопічних досліджень проводили під гексеналовим наркозом за загальноприйнятою методикою. У собак забір кусочків тканин проводили через 1-3 і 6 год після відновлення кровообігу в нирках, в білих щурів через 1, 3 і 16 год після внутрішньоочеревинного введення МСМ. Матеріал фіксували впродовж двох годин в 1 %-му розчині OsO₄ на фосфатному буфері (pH 7,4) з наступною дегідратацією і заливанням у епон-аралдіт. Зрізи, товщиною 20-50 нм, отримані на ультрамікромомі Tesla-490A, досліджували в електронному мікроскопі EM-100 AK.

Результати та їх обговорення

Після перенесеної ішемії нирок у собак спостерігалася помірна артеріальна гіпоксемія (70-75 мм рт. ст.), гіпокапнія (28-30 мм рт. ст.) з явищами гіпергідратації легень. Кількість рідини в легенях, яка оцінена за відношенням вологої маси легень до сухої, на 3-6 год збільшувалася з $3,81 \pm 0,04$ до $4,97 \pm 0,05$.

Біохімічні дослідження свідчили про порушення функції нирок з характерним збільшенням у крові середньомолекулярних уремічних токсинів (таблиця).

Електронно-мікроскопічний аналіз показав, що в собак після перенесеної тригодинної ішемії нирок протягом першої години відмічалася розширення просвіту капілярів легень (рис. 1, а) з формуванням еритроцитарних складків, агрегацією тромбоцитів. Простежувались початкові етапи ультраструктурних змін компонентів аерогематичного бар'єра. Морфологічно вони проявлялися відшаровуванням в окремих ділянках ендотеліальної вистилки та адгезією тромбоцитів до базальної мембрани (див. рис. 1, б), набуханням і просвітленням матриксу ендотеліоцитів, дезорганізацією внутрішньоклітинних структур (ендоплазматичної сітки, комплексу Гольджі, мітохондрій).

Через 3-6 год в ендотелії відмічалася велика кількість мікропіноцитозних везикул із руйнуванням люмінальної мембрани клітин.

Вміст олігопептидів і молекул середньої маси (за екстинцією) в крові собак на 6-ту годину після ішемії нирок

Показник	До уремії	Після уремії
Олігопептиди, г/л	0,87 ± 0,15	1,10 ± 0,15
%	100	126,4
Молекули середньої маси		
E ₂₅₄ , од	51,7 ± 9,2	122,5 ± 2,5*
%	100	236,9
E ₂₈₂ , од	86,3 ± 12,7	155,0 ± 9,6*
%	100	179,6

* $P < 0,05$.

Просвіт багатьох капілярів аерогематичного бар'єра, що оточує альвеоли, закритий у результаті агрегації формених елементів крові або різкого набряку ендотеліальних клітин. В інтерстиції та просвіті судин виявлялася велика кількість лейкоцитів. У окремих ділянках відбувається порушення цілісності аерогематичного бар'єра гемокапілярів і вихід формених елементів крові в інтерстицій і просвіт альвеол (рис. 2).

Слід відзначити, що зміни в легневих тканинах щурів після введення МСМ, були ідентичними до виявлених у легенях собак. Так, уже через 1 год після введення МСМ у щурів відбувається розширення гемокапілярів легень з утворенням еритроцитарних складів і лейкотромбоцитарних агрегацій (рис. 3) У цитоплазмі ендотеліоцитів спостерігалася значна кількість мікропіноцитозних везикул. Базальна мембрана гемокапілярів у окремих ділянках була розмита. Зі збільшенням строку експерименту (3, 16 год) ультраструктурні зміни в компонентах аерогематичного бар'єра мали в більшості випадків деструктивний характер.

У роботі були використані дві моделі. У першому випадку перетиснення ниркових судин призводило до незворотних змін у нирках [7]. Після відновлення кровообігу в органі, крім невиведених продуктів метаболізму, з'являлися продукти ішемічних пошкоджень. Раніше було показано, що в їх число входять МСМ пептидної природи [1, 2], що знайшло підтвердження і в даному дослідженні. Під дією уремічних компонентів у легенях розвивалися виражені пошкодження, які реалізувалися через внутрішньосудинну агрегацію, активацію клітин білої крові, пошкодження ендотелію з наступним розвитком набряку легень. Природно, що в дослідях на собаках, крім дії уремічних токсинів на легені впливали інші пошкоджуючі фактори - наркоз, операційна травма, тривале перебування тварин на операційному столі, хоча в контрольних дослідях дія цих причин була мінімальною. В дослідях на щурах ці фактори були повністю виключені, оскільки крім внутрішньоочеревинного введення МСМ ніякого втручання не проводи-

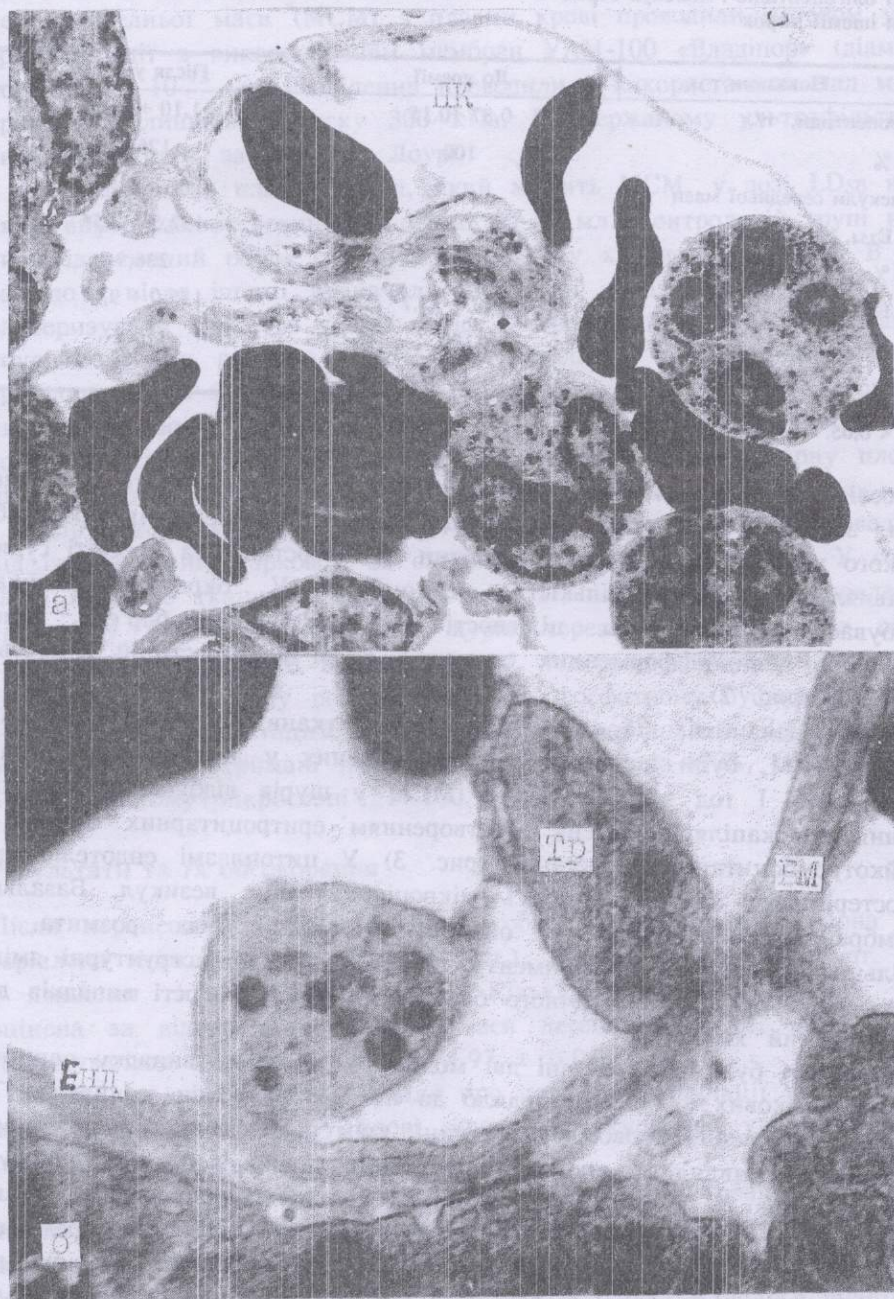


Рис. 1. Ультраструктурні зміни гемокapілярів легень після 3-годинної ішемії нирок собак з наступним відновленням кровотоку на 1 год: а - розширення просвіту capілярів (ПК), утворення еритроцитарних складків; б - порушення ендотеліальної висвітки (Енд), адгезія тромбоцитів (Тр) до базальної мембрани (БМ). 36.: а - 2000, б - 4100.

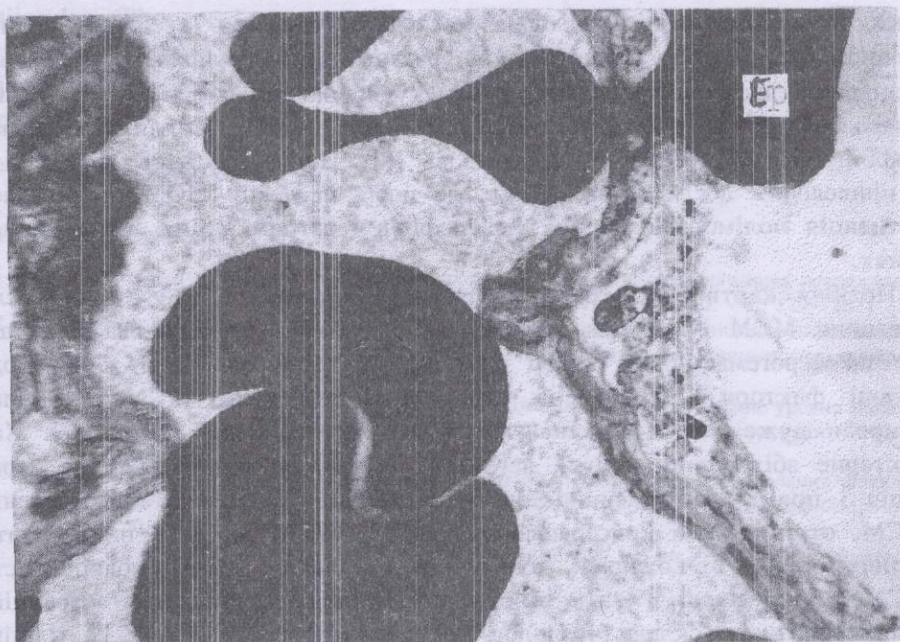


Рис. 2. Ультраструктурна організація аерогематичного бар'єра легень собак після 3-годинної ішемії нирок (пройшло 6 год). Деструкція стінки гемокапілярів і вихід еритроцитів (Er) за їх межі. $\times 10000$.

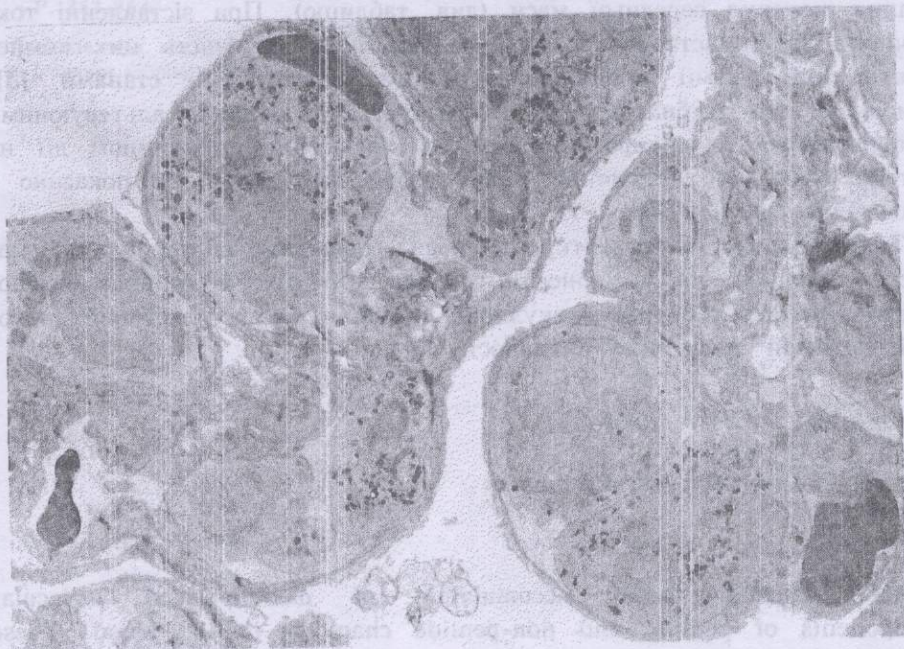


Рис. 3. Зміни гемокапілярів легень щурів через 1 год після введення молекул середньої маси. Капіляри розтягнуті та переповнені форменними елементами крові. $\times 2300$.

лося. В контрольних дослідах показано, що при введенні рідини об'ємом до 15 мл у легенях не розвивалися порушення. Необхідно зазначити, що самі речовини з молекулярною масою до 10000 Да не мають антигенних властивостей, хоч вони і здатні викликати неспецифічну дію на клітини білої крові [6]. Цю властивість виявлено і в приведених дослідах на щурах, де після введення МСМ розвивалась активація поліморфноядерних нейтрофілів і затримка цих клітин в легенях.

Подібна картина ультраструктурних змін, виявлених у щурів після введення МСМ і у собак після ішемії нирок, дає змогу вважати, що дія на аерогематичний бар'єр реалізується через одні і ті ж пошкоджуючі фактори і зумовлена ендогенною токсемією. МСМ уремічної природи дуже подібно впливають на легені і в інших ситуаціях. Характерне збільшення тону легеневих судин, внутрішньосудинна агрегація і пряма цитотоксична дія була виявлена у тварин при введенні МСМ, отриманих з консервованої крові, а також на фоні панкреатиту і перитоніту. В кожному конкретному випадку існує неоднорідність МСМ, відмінності за вмістом у них пептидних фракцій, амінокислотного складу і біологічної активності [1, 3, 8]. У клініці при отриманні ультрафільтрата у хворих з нирковою недостатністю відзначено порівняно низький вміст олігопептидів у середньомолекулярних фракціях плазми [1]. У проведених дослідах після ішемії нирок ріст олігопептидів був також помірним і значно відставав від наростання молекул середньої маси (див. таблицю). При зіставленні токсичності МСМ встановлена менша біологічна активність цих компонентів при уремії порівняно з іншими критичними станами [3]. Ймовірно, що згубна дія МСМ поєднується з іншими альтеруючими (гіперволемією і гіпопротеїнемією) за синергічним принципом дії на легені. Крім того токсичний ефект добре виражений, що показано в проведених дослідженнях.

Таким чином, у розвитку легеневих пошкоджень при уремії має місце токсична дія компонентів плазми. До цих агресивних компонентів входять середньомолекулярні речовини, яким властивий широкий діапазон біологічної активності.

М.А.Бекяков, Л.М.Зайц, В.У.Шутка

TOXICAL COMPONENT
IN DEVELOPMENT OF LUNG INJURIES
ON UREMIA

Renal ischemia causes accumulation of middle-sized molecular components of peptide and non-peptide character in the blood. These substances, obtained from the blood by method of ultrafiltration are able to cause the marked lung injuries with formation of leukocyte and erythrocyte aggregations, endothelial lung cell injured and with the phenomenon of hyperhydration. The indicated changes are proportional by their expressiveness to the dose of administered middle-sized

molecules. The conclusion can be made that toxic component, associated with accumulation of biologically active middle-sized molecules in the blood plays a significant role in the development of nephrogenic pulmonary edema.

Ivano-Frankivsk Medical Academy

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Беляков Н.А., Леванович В.В., Соломенников А.В. и др. Природа органических повреждений при уремической интоксикации // Вестн. хирургии. - 1986. - № 10. - С. 122-126.
2. Владимиров Ю.А., Березин Г.С., Фиш Н.Г. Сравнительная характеристика биологической активности ишемического токсина и его влияния на хемилюминесценцию плазмы крови // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1981. - № 7. - С. 20-22.
3. Владыка А.С., Беляков Н.А., Шугаев А.И. и др. Диагностическое значение уровня молекул средней массы в крови при оценке тяжести эндотоксемии // Вестн. хирургии. - 1986. - № 8. - С. 126-129.
4. Малахова М.Я., Соломенников А.В., Беляков Н.А., Владыка А.С. Определение фракции молекул средней массы в сыворотке крови осаждением белков ТХУ и ультрафильтрацией // Лаб. дело. - 1987. - № 3. - С. 224-227.
5. Сейболд Л., Гесслер У. Почки при шоке и шоковая почка. - В кн.: Шок. - М.: Медицина, 1987. - С. 245-290.
6. Туликова З.А. Среднемолекулярные уремические токсины // Вопр. мед. химии. - 1983. - № 1. - С. 2-20.
7. Шахламов В.А., Шутка Б.В. Ультраструктурные изменения микроциркуляторного русла и фильтрационно-реабсорбционного барьера почки при ее временной ишемии после односторонней нефрэктомии // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1986. - 91, вып. 10. - С. 76-81.
8. Abiko T., Kumicawa M., Ishikaki M. et al. Identification and synthesis of tripeptide in ECUM fluid of an uremic patient // Biochem. and Biophys. Res. Commun. - 1978. - 83, № 2. - P. 357-364.

Ів.-Франків. мед. академія
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов
до редакції 23.11.97