

Особливості водно-солевого обміну у щурів з дефіцитом протеїну за умов токсичного ураження ацетамінофеном

О.М. Волощук, Г.П. Копильчук

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича; e-mail: o.voloschuk@chnu.edu.ua

Досліджували показники водно-солевого обміну у щурів за умов ацетамінофеніндукованого токсичного ураження й аліментарної нестачі протеїну. Вміст Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Cl^- у сироватці крові визначали спектрофотометрично з використанням стандартних наборів реактивів фірми "Human" (Німеччина), вміст альдостерону – імуноферментним методом з використанням тест-системи Aldosterone ELISA. Встановлено, що виражені порушення водно-електролітного обміну спостерігаються лише в групі тварин з токсичним ураженням ацетамінофеном на тлі аліментарної депривації протеїну. Для них характерними були гіпернатріємія (вміст Na^+ підвищувався на 25 %) та гіперхлоремія (вміст Cl^- підвищувався на 30 %) на тлі гіпокаліємії (вміст K^+ знижувався на 20 %) та гіпомагніємії (вміст Mg^{2+} знижувався у 1,8 раза), що вказує на формування іонного дисбалансу. Водночас встановлено нами підвищення вмісту альдостерону у 2,2 раза та гіперосмолярність плазми крові свідчить про формування стану гіпергідратації. Отримані результати можуть бути використані для розробки стратегії корекції порушень водно-солевого обміну за умов ацетамінофеніндукованого токсичного ураження на тлі аліментарної нестачі протеїну.

Ключові слова: аліментарна депривація протеїну; ацетамінофен; токсичне ушкодження; електроліти; осмолярність; альдостерон.

ВСТУП

Нині аліментарна протеїнова недостатність, яка формується в організмі за умов повного або часткового голодування, вживання одноманітної протеїнової їжі, переважання в раціоні протеїнів рослинного походження [1, 2], розглядається як тригер поглиблення метаболічних порушень при медикаментозноіндукованих токсичних ураженнях, зокрема за дії ацетамінофену [3]. Водночас відомості про механізми розвитку дисбалансу метаболічних процесів і порушення гомеостазу в організмі тварин за умов його введення на тлі аліментарної депривації протеїну в науковій літературі практично відсутні. Важлива роль у підтриманні гомеостазу належить водно-солевому обміну [4]. Виділення рідини та електролітів розглядається як фундаментальна фізіологічна функція, що забезпечує

© О.М. Волощук, Г.П. Копильчук

регуляцію складу та об'єму рідин тіла. Компонентний склад рідин визначається векторним іонним транспортом з формуванням осмотичних градієнтів, що призводять до протікання води через мембранні канали за осмотичним градієнтом. Порушення обміну електролітів та води вважається фактором високого ризику летальності [5].

Інтенсивність водно-солевого обміну насамперед залежить від функціональної активності нирок [6]. Окрім того, є відомості про формування водно-електролітних порушень у пацієнтів із захворюваннями печінки [7]. Раннє виявлення порушень водно-солевого обміну при захворюваннях печінки розглядається як перший крок для визначення лікувальної тактики [8].

У наших попередніх дослідженнях встановлено, що за умов токсичного ураження ацетамінофеном на тлі нестачі протеїну

спостерігаються суттєві зміни ультраструктури нирок [9] та структурно-функціональні порушення гепатоцитів [3, 10]. Разом з тим особливості водно-електролітного обміну за такої експериментальної моделі не досліджувалися.

Мета нашої роботи – дослідження особливостей водно-сольового обміну у щурів за умов ацетамінофеніндукованого токсичного ураження на тлі аліментарної нестачі протеїну.

МЕТОДИКА

Експерименти виконували на білих щурах масою тіла 120-150 г, віком 2,5-3 міс. Маніпуляції з тваринами відповідали положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Щурів утримували в пластикових клітках з піщаною підстилкою, доступом до води *ad libitum*.

Тварин поділили на групи: до I увійшли щури, яких утримували на повноцінній напівсинтетичній дієті; II – щури, які перебували на низькопротеїновій дієті; III – щури з гострим ацетамінофеніндукованим токсичним ураженням, що перебували на повноцінному раціоні; тваринам IV групи моделювали гостре ацетамінофеніндуковане токсичне ураження на тлі аліментарної депривації протеїну. Тварини I і III груп отримували стандартний раціон, що містив 14% протеїну (казеїн), 10% жиру та 76% вуглеводів, збалансований за усіма необхідними нутрієнтами, тварини II і IV групи – ізоенергетичний раціон, що складався з 4,7% протеїну, 10% жиру та 85,3% вуглеводів, розрахований за рекомендаціями Американського інституту харчування [11]. Токсичне ураження моделювали введенням *per os* тваринам ацетамінофену з розрахунку 1250 мг/кг у вигляді суспензії в 2%-му розчині крохмального гелю раз на день протягом

2 діб [3]. Цервікальну дислокацію тварин проводили під легким ефірним наркозом на 31-шу добу експерименту.

Вміст Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Cl^- у сироватці крові визначали спектрофотометрично з застосуванням стандартних наборів реактивів фірми “Human” (Німеччина), вміст альдостерону – імуноферментним методом з використанням тест-системи Aldosterone ELISA. Осмолярність плазми крові розраховували за формулою [12]: $\text{ОСМ} = 2 \text{Na}^+ + \text{глюкоза} + \text{сечовина}$ (ммоль/л). Вміст глюкози та сечовини визначали стандартними методами з використанням готових наборів реактивів фірми “Філісіт-Діагностика” (Україна).

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили з використанням програми «Microsoft Excel». Представляли їх як середнє значення 9 незалежних визначень \pm похибка середнього. Статистичну значимість різниці середніх показників оцінювали, використовуючи стандартний критерій t Стюдента. Різницю вважали вірогідною при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз отриманих результатів засвідчив наявність статистично вірогідних відмінностей вмісту Na^+ у сироватці крові порівняно з групою контролю лише у тварин, яким вводили ацетамінофен на тлі аліментарної депривації протеїну (рис. 1, а). Відомо, що підвищення цього показника призводить до збільшення осмолярності плазми з наступною дегідратацією клітин. Порушення гомеостазу натрію становить серйозну небезпеку для організму, оскільки значні відхилення в бік гіпернатріємії спричинює появу та підвищення неврологічної симптоматики і навіть можуть викликати пригнічення свідомості [13, 14]. Отже, наслідком встановленої нами гіпернатріємії у тварин з дефіцитом протеїну та ацетамінофеніндукованим токсичним ураженням може бути підвищення осмотичного тиску крові та позаклітинної рідини, виникнення дегідратації клітин, затримка води в

організмі та поява набряків.

У II і III дослідних групах достовірних відмінностей вмісту Na^+ в сироватці крові порівняно з контролем не зареєстровано (див. рис. 1, б). Зауважимо, що у тварин з дефіцитом протеїну і токсичним ураженням ацетамінофеном (група IV) зміни вмісту калію і натрію відзначалися різноспрямованістю. Так, для тварин цієї групи характерна гіпокаліємія (див. рис. 1, б).

Враховуючи біологічну роль калію у регуляції осмотичного тиску і об'єму внутрішньоклітинних рідин, підтриманні та генерації мембранного потенціалу в клітинах збудливих тканин, забезпеченні біоелектричної активності клітин і підтриманні нерво-м'язової збудливості та провідності, а також як кофактора для окремих ензимів [15, 16], навіть гіпокаліємія помірного ступеня

може проявлятися небезпечними змінами серцевого ритму, слабкістю скелетних м'язів, затримкою сечі та неврологічними порушеннями [17].

Важливим фактором для оптимального засвоєння калію та забезпечення підтримання його внутрішньоклітинного вмісту вважається магній. Слід відмітити, що у тварин, які утримувалися на низькопротеїновій дієті (група II), та з ацетамінофеніндукованим токсичним ураженням (група III) спостерігалось незначне зниження цього показника (див. рис. 1, в). Водночас у щурів з дефіцитом протеїну і токсичним ураженням (група IV) він порівняно з контрольними значеннями знижувався у 1,8 раза. Магній відіграє роль у активації процесів окисного фосфорилування в мітохондріях та синтезу білка, регуляції поляризації клітинних мембран, електричної

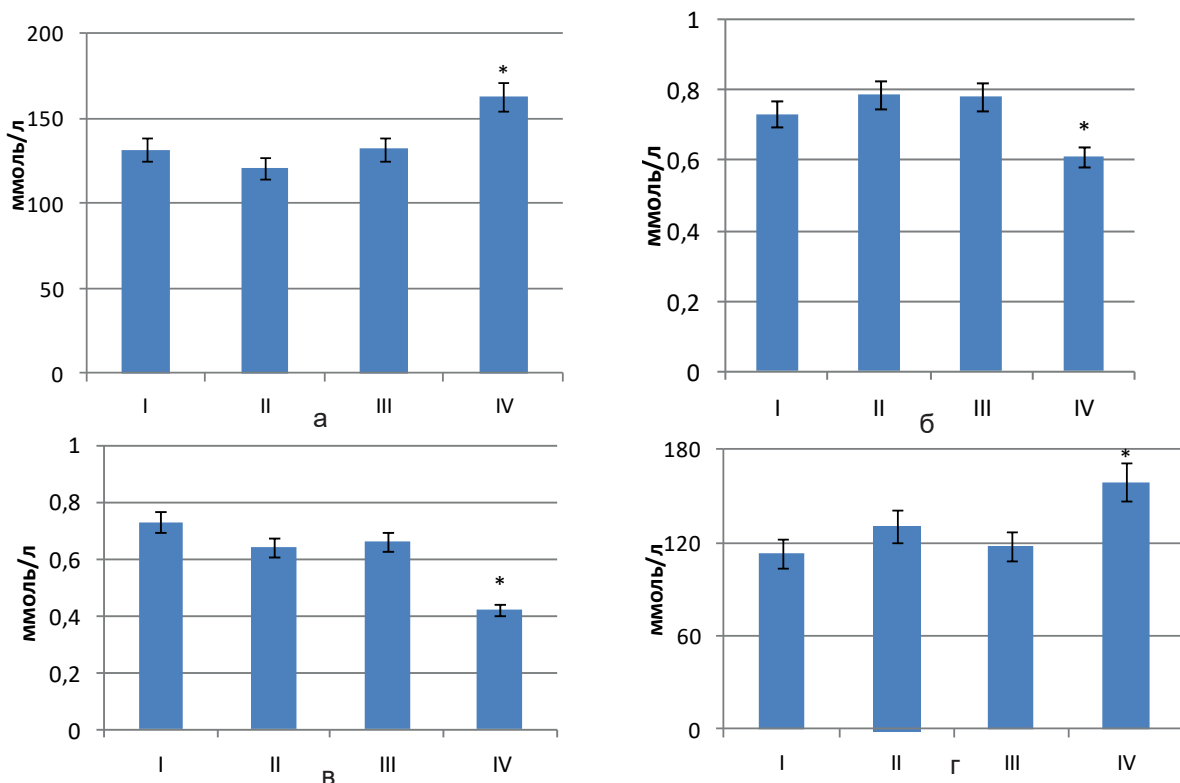


Рис. 1. Вміст Na^+ (а), K^+ (б), Mg^{2+} (в), Cl^- (г) у сироватці крові щурів за умов токсичного ураження ацетамінофеном на тлі аліментарної нестачі протеїну: I - контроль (повноцінна напівсинтетична дієта), II - низькопротеїнова дієта протягом 28 діб, III - гостре ацетамінофеніндуковане токсичне ураження і повноцінний раціон, IV - гостре ацетамінофеніндуковане токсичне ураження на тлі аліментарної депривації протеїну.

* $P < 0,05$ порівняно з контролем

активності нервової тканини, гліколізу, трансмембранному перенесенні калію та кальцію [18]. Наслідком встановленого нами зниження вмісту магнію у сироватці крові тварин з дефіцитом протеїну з токсичним ураженням може бути порушення магнійзалежних процесів та синтезу магнійвмісних біологічно активних речовин.

Варто відмітити, що достовірне підвищення вмісту Cl^- спостерігалось лише у щурів з дефіцитом протеїну за умов токсичного ураження (див. рис. 1, г). Імовірно, що показане нами раніше порушення ультраструктури нирок [9] за цих умов супроводжується дисрегуляторними змінами їх фільтраційної та реабсорбційної здатності, що й пояснює встановлену гіперхлоремію.

Обмін іонів хлору та натрію взаємопов'язаний, регулюється тими самими нейрогормональними факторами, хоча в ниркових каналцях вони можуть фільтруватися й реабсорбуватися незалежно один від іншого. Хлор разом із натрієм забезпечує необхідний рівень осмотичного тиску позаклітинної рідини, а з калієм бере участь у формуванні потенціалу спокою клітинних мембран [19]. Підвищений вміст іонів хлору в організмі призводить до затримки води в тканинах і органах, що, насамперед спричиняє підвищення артеріального тиску. Окрім того, гіперхлоремія супроводжується накопиченням органічних кислот і ацидозом.

Основний показник гомеостазу води у всьому організмі – осмолярність плазми – характеризується кількістю розчинних частинок, наявних у 1 л плазми. Головним катіоном позаклітинного середовища, який визначає його осмолярність, є натрій. Результати досліджень показали, що для щурів з дефіцитом протеїну за умов токсичного ураження (група IV) характерна гіперосмолярність плазми (рис. 2), а це вказує на формування стану гіпергідратації.

Ключовим гормоном, задіяним у регуляції водно-сольового обміну, є альдостерон. Він збільшує реабсорбцію іонів натрію і секрецію іонів калію та водню в каналцях нефронів

нирок і, таким чином, підтримує їх баланс, а також, завдяки осмотичному градієнту, регулює розподіл води між клітинами й у позаклітинному просторі. Найважливішими фізіологічними стимулами секреції альдостерону клубочковою зоною кори надниркових залоз є: по-перше, збільшення концентрації K^+ у плазмі крові, що безпосередньо стимулює секрецію альдостерону; по-друге, активація системи ренін-ангіотензин II [20]. Результати проведених досліджень показали, що тенденція до підвищення вмісту альдостерону спостерігалася як у тварин II, так і III групи. Проте максимально виражені зміни відмічались у щурів із токсичним ураженням на тлі дефіциту протеїну. У них вміст альдостерону в сироватці крові у 2,2 раза перевищував контрольні значення (рис. 3) і пояснює встановлене нами зниження в сироватці крові вмісту K^+ і накопичення Na^+ . Окрім того, наслідком дії альдостерону є індукція синтезу білків-транспортів іонів калію з клітин ниркового каналця в первинну сечу, а також мітохондріальних ферментів циклу Кребса, зокрема цитратсинтази, що стимулює утворення молекул АТФ, необхідних для активного транспорту іонів. Сумарним

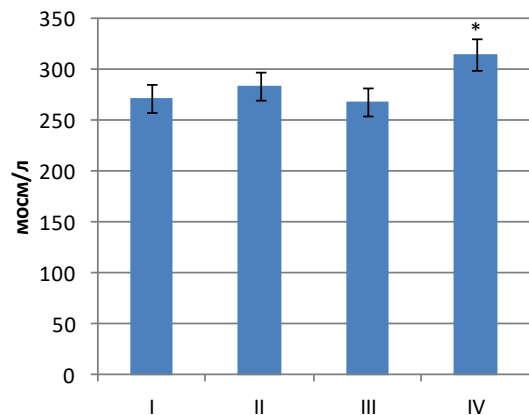


Рис.2. Осмолярність плазми крові щурів за умов токсичного ураження ацетамінофеном на тлі аліментарної нестачі протеїну: I - контроль (повноцінна напівсинтетична дієта), II - низькопротеїнова дієта протягом 28 діб, III - гостре ацетамінофеніндуковане токсичне ураження і повноцінний раціон, IV - гостре ацетамінофеніндуковане токсичне ураження на тлі аліментарної депривації протеїну.

* $P < 0,05$ порівняно з контролем

біологічним ефектом індукованих альдостероном білків є збільшення реабсорбції іонів натрію в каналцях, що викликає затримку NaCl в організмі, і зростання екскреції калію.

Таким чином, виражені порушення водно-електролітного обміну спостерігалися лише в групі тварин з токсичним ураженням ацетамінофеном на тлі аліментарної депривації протеїну. Для них характерні гіпернатріємія та гіперхлоремія на тлі гіпокаліємії та гіпомagneмії, що вказує на формування іонного дисбалансу. Водночас встановлене нами підвищення вмісту альдостерону та гіперосмолярність плазми крові відображає формування стану гіпергідратації.

Результати нашого дослідження можуть бути використані для розробки стратегії корекції порушень водно-солевого обміну за умов ацетамінофеніндукованого токсичного ураження на тлі аліментарної нестачі протеїну.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

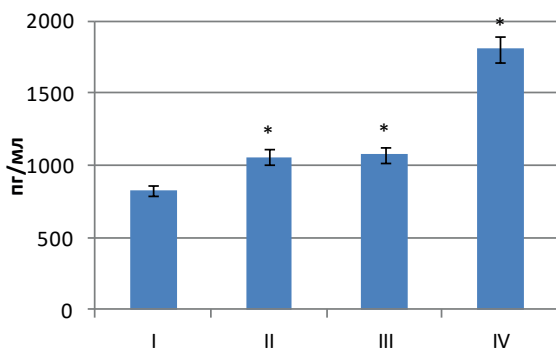


Рис.3. Вміст альдостерону у сироватці крові щурів за умов токсичного ураження ацетамінофеном на тлі аліментарної нестачі протеїну: I - контроль (повноцінна напівсинтетична дієта), II - низькопротеїнова дієта протягом 28 днів, III - гостре ацетамінофеніндуковане токсичне ураження і повноцінний раціон, IV - гостре ацетамінофеніндуковане токсичне ураження на тлі аліментарної депривації протеїну.

*P < 0,05 порівняно з контролем

O.M. Voloshchuk, G.P. Kopylchuk

CHARACTERISTICS OF WATER-SALT BALANCE IN PROTEIN-DEFICIENCY RATS WITH ACETAMINOPHEN-INDUCED TOXIC INJURY

Indicators of the water-salt balance in rats under the conditions of acetaminophen-induced injury and alimentary protein deficiency were studied in the research. Blood levels of Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Cl⁻ ions were measured by method of spectrophotometry using reagent sets (Human, Germany). Aldosterone level was determined by enzyme-linked immunosorbent assay method using Aldosterone ELISA kit. It is established that significant disturbances of water-salt balance were observed in a group of animals with the toxic acetaminophen-induced injury against the background of alimentary protein deficiency. In animals of the combined pathology group a hypernatremia (Na⁺ content increased by 25%), hyperchloremia (Cl⁻ content increased by 30%) along with hypokalemia (K⁺ content decreased by 20%) and hypomagnesemia (Mg²⁺ content decreased by 1,8 times) was revealed, indicating the formation of ion imbalance. A simultaneous increase in aldosterone level in 2,2 times and plasma hyperosmolarity indicates the formation of the state of hyperhydration. The obtained results can be used to develop a strategy for correction of water-salt balance disturbances in conditions of acetaminophen-induced toxic injury on the background of alimentary protein deficiency.

Key words: alimentary protein deprivation; acetaminophen; toxic damage; electrolytes; osmolarity; aldosterone.

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University;
e-mail: o.voloshchuk@chnu.edu.ua

О.Н. Волощук, Г.П. Копыльчук

ОСОБЕННОСТИ ВОДНО-СОЛЕВОГО ОБМЕНА У КРЫС С ДЕФИЦИТОМ БЕЛКА В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ АЦЕТАМИНОФЕНОМ

Исследованы показатели водно-солевого обмена у крыс в условиях ацетаминифениндуцированного токсического повреждения и алиментарного дефицита белка. Содержание Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Cl⁻ в сыворотке крови определяли спектрофотометрически с использованием стандартных наборов реактивов фирмы "Human" (Германия), содержание альдостерона – иммуноферментным методом с использованием тест-системы Aldosterone ELISA. Установлено, что выраженные нарушения водно-электролитного обмена наблюдаются только в группе с токсическим повреждением ацетаминифеном на фоне алиментарной депривации протеина. Для них характерна гипернатриемия (содержание Na⁺ увеличивалось на 25 %) и гиперхлоремия (содержание Cl⁻ увеличивалось на 30 %) на фоне гипокалиемии (содержание K⁺ снижалось на 20 %) и гипомagneмии (содержание Mg²⁺ снижалось

в 1,8 раза), что указывает на формирование ионного дисбаланса. В то же время установленное нами повышение содержания альдостерону в 2,2 раза и гиперосмолярность плазмы крови указывает на формирование состояния гипергидратации. Полученные результаты могут быть использованы с целью разработки стратегии коррекции нарушений водно-солевого обмена в условиях ацетаминофениндуцированного токсического повреждения на фоне алиментарного дефицита белка.

Ключевые слова: алиментарная депривация протена; ацетаминофен; токсическое повреждение; электролиты; осмолярность; альдостерон.

REFERENCES

1. Wu G. Dietary protein intake and human health. *Food Funct.* 2016; 7(3): 1251-65.
2. Smith SE, Figley SA, Schreyer DJ, Paterson PG. Protein-energy malnutrition developing after global brain ischemia induces an atypical acute-phase response and hinders expression of GAP-43. *PLoS One.* 2014; 9(9): e107570.
3. Voloshchuk ON, Kopylchuk GP. The ratio of ubiquinone redox forms in the liver mitochondria under toxic hepatitis induced on the background of alimentary protein deficiency. *Vopr Pitan.* 2015; 84 (5): 82-7. [Russian].
4. Hong JH, Park S, Shcheynikov N, Muallem S. Mechanism and synergism in epithelial fluid and electrolyte secretion. *Pflug. Arch.* 2014; 466(8): 1487-99.
5. El-Sharkawy AM, Sahota O, Maughan RJ, Lobo DN. The pathophysiology of fluid and electrolyte balance in the older adult surgical patient. *Clin Nutrition.* 2014; 3: 6e13.
6. Dhondup T, Qian Q. Electrolyte and acid – base disorders in chronic kidney disease and end-stage kidney failure. *Blood Purif.* 2017; 43: 179-88.
7. Piasecki R, Michalak A, Cichoż-Lach H. The role of electrical bioimpedance in the evaluation of the hydration status of patients with liver cirrhosis. *Pol Merkur Lekarski.* 2018; 45(267): 122-5.
8. Nishikawa H, Yoh K, Enomoto H, Ishii N, Iwata Y, Nakano C, Takata R, Nishimura T, Aizawa N, Sakai Y, Ikeda N, Hasegawa K, Takashima T, Iijima H, Nishiguchi S. Extracellular water to total body water ratio in viral liver diseases: a study using bioimpedance analysis. *Nutrients.* 2018; 10(8): 1072.
9. Kopylchuk GP, Voloshchuk ON, Buchkovskaia IM, Davydenko IS. Morphological characteristic of rats' kidneys under the conditions of acetaminophen-induced nephrotoxicity against the background alimentary deprivation of protein. *Morphologia.* 2015;9(3): 28-30. [Ukrainian].
10. Voloshchuk OM, Kopylchuk GP, Mishyna YI. Activity of the mitochondrial isoenzymes of endogenous aldehydes catabolism under the conditions of acetaminophen-induced hepatitis. *Ukr Biochem J.* 2018; 90 (1):42-7. [Ukrainian].
11. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993; (5):1939-51.
12. Heavens KR, Kenefick RW, Caruso EM, Spitz MG, Cheuvront SN. Validation of equations used to predict plasma osmolality in a healthy adult cohort. *Am J Clin Nutr.* 2014; 100: 1252-6.
13. Halushko OA, Bolyuk MV. Correction of sodium exchange disorders in intensive care patients: old methods and modern approaches. *Emergency Med.* 2018; 2: 40-7. [Ukrainian].
14. Farquhar WB, Edwards DG, Jurkovic CT, Weintraub WS. Dietary sodium and health: more than just blood pressure. *J Am Coll Cardiol.* 2015; 65(10): 1042-50.
15. Viera NJ, Wouk N. Potassium disorders: hypokalemia and hyperkalemia. *Am Fam Physician.* 2015; 92(6): 487-95.
16. Jain N, Kotla S, Little BB, Weideman RA, Brilakis ES, Reilly RF, Banerjee S. Predictors of hyperkalemia and death in patients with cardiac and renal disease. *Am J Cardiol.* 2012; 109: 1510-3.
17. Attia ZI, DeSimone CV, Dillon JJ, Sair Y, Somers VK, Dugan JL, Bruce CJ, Ackerman MJ, Asirvatham SJ, Striemer BL, Bukartyk J, Scott CG, Bennet KE, Ladewig DJ, Gilles EJ, Sadot D, Geva AB, Friedman PA. Novel bloodless potassium determination using a signal-processed single-lead ECG. *J Am Heart Assoc.* 2016; 5: e002746.
18. Litovka IG, Berezovskii VA Effect of magnesium on bone tissue remodeling. *Fiziol Zh.* 2018; 64(3): 91-9. [Ukrainian].
19. Hashemi R, Majidi A, Tabatabaey A, Mahmoudi S. Calculation of plasma chloride levels using blood gas measurements. *J Emergency Practice and Trauma.* 2017; 3(2): 42-5.
20. Palmer LG, Frindt G. Regulation of epithelial Na channels by aldosterone. *Kitasato Med J.* 2016; 46: 1-7.

Матеріал надійшов до редакції 04.02.2019