

А. Я. Велика, В. П. Пішак, І. В. Мацьона  
Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

## ВПЛИВ СОЛЬОВОГО НАВАНТАЖЕННЯ НА ФОНІ СУЛЕМОВОЇ НЕФРОПАТІЇ НА ГЛУТАТІОНПЕРОКСИДАЗНУ АКТИВНІСТЬ У НИРКАХ ЩУРІВ

Отруєння щурів розчином сулеми веде до руйнування клітинної мембрани та спричиняє активацію процесів вільнорадикального окиснення макромолекул. Це в свою чергу запускає захисну антиоксидантну систему організму тварин, яка бере участь у знешкодженні активних форм кисню. Дія 0,1%-ного розчину сулеми у дозі 5 мг/кг маси тіла тварини призвела до зниження глутатіонпероксидазної активності порівняно з контролем не залежно від виду сольового навантаження. 3% сольове навантаження призводить до незначних змін показників активності антиоксидантного ферменту – глутатіонпероксидази у різних шарах нирок порівняно з показниками контрольної групи. При 0,75% навантаженні розчином NaCl відмічено зниження глутатіонпероксидазної активності у всіх відділах нирки у порівнянні з контролем.

**Ключові слова:** нирки, глутатіонпероксидаза, сольове навантаження, сулема, антиоксидантна система.

*Робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри медичної біології, генетики та фармацевтичної ботаніки Буковинського державного медичного університету) «Участь структур головного мозку й ендокринних залоз у формуванні циркадіанних ритмів та часовій організації фізіологічних функцій органів у ссавців» (№ державної реєстрації 0109U003 912).*

За умов фізіологічної норми у живих системах існує динамічна рівновага між умістом прооксидантів, які стимулюють процеси вільнорадикального окиснення біополімерів, і активністю антиоксидантних систем. Чинники зовнішнього середовища (екзогенного походження) стимулюють утворення АФО та пригнічують антиоксидантну систему організму, що призводить до активації процесів вільнорадикального окиснення. Уведення токсичних речовин, зокрема розчину меркурію хлориду (II) призводить до виникнення оксидативного стресу – реакції організму на продукування великої кількості активних форм кисню [6]. Компоненти антиоксидантної системи запобігають руйнуванню клітин активними формами кисню. Відомо [1, 3, 8, 11], що адаптивні реакції організму при стресових впливах спрямовані на підтримання гомеостазу. Серед органів, що беруть участь у цьому процесі, пріоритетну й вирішальну роль відіграють нирки. Ферменти антиоксидантного захисту, а саме глутатіонпероксидаза [КФ 1.11.1.9], яка захищає ліпіди мембран і гемоглобін від окиснення пероксидами, забезпечує цілісність органел і перешкоджає цим розвитку патологічних станів за дії фізичних, хімічних чи інших стресових чинників. Глутатіонпероксидаза локалізована переважно в цитозолі клітин, однак, може знаходитися у незначній кількості у мітросомах [8, 9, 10]. Таким чином, процеси антиоксидантного захисту відіграють важливу роль у патогенезі різноманітних захворювань, оскільки виникнення дисбалансу між активацією вільнорадикального окиснення макромолекул та неспроможністю системи антиоксидантного захисту може прискорити розвиток різних патологічних процесів, які лежать в основі захворювань нирок.

**Метою** роботи було з'ясувати особливості впливу сольового навантаження на фоні сулемової нефропатії на зміни активності деяких ферментів системи антиоксидантного захисту у нирках щурів.

**Матеріал та методи дослідження.** Дослідження проведено на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях, масою 180±10г. Тварини перебували в умовах віварію зі сталим температурним та світловим режимами і розподілені на групи: 1-а група (n=6) контрольна (тварини, які не отримували сольового навантаження); 2-а група (n=6) тварини, які отримували 3% сольове навантаження (з розрахунку 3 мл 0,45% розчину NaCl на 100 г тіла тварини); 3-тя група (n=6) тварини, яким проводилось 0,75% сольове навантаження (з розрахунку 0,75 мл 0,45% розчину NaCl на 100 г тіла тварини); 4- та група (n=6) тварин, яким підшкірно вводили 0,1%-ий розчин сулеми у дозі 5 мг/кг маси тіла тварини [5], і через 72 години після інтоксикації отримували 3% сольове навантаження; 5-та група (n=6) тварин, яким підшкірно вводили 0,1%-ий розчин сулеми і через 72 години після інтоксикації отримували 0,75 % сольове навантаження. Сольове навантаження проводили за 2 години до евтаназії, внутрішньошлунково через металевий зонд. Через 2 год після навантаження проводили евтаназію тварин шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Евтаназію тварин здійснювали відповідно до вимог Європейської конвенції з захисту експериментальних тварин (86/609 ЄЕС). Після декапітації тварини швидко виймали нирки, ретельно висушували фільтрувальним папером та розділяли на шари: кірковий, мозковий і сосочок. Готували 5%-ий супернатант нирок щурів на 50 мМ тріс-НСІ буфері (рН 7,4), що містив 0,1% розчину ЕДТА та центрифугували протягом 10 хв при 900g. Всі операції проводили при температурі не вище + 4 °С. У постядерних супернатантах частин нирок щурів визначали глутатіонпероксидазну активність [2].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Отримані нами результати та дані літератури дають підставу стверджувати, що будь-який стресовий чинник для організму тварин призводить до змін показників активності ферментів антиоксидантного захисту нирок щурів [4, 7]. Навантаження 3% розчином NaCl не призвело до змін активності глутатіонпероксидази порівняно з контролем (рис.1). При 0,75% навантаженні розчином NaCl відмічено зниження глутатіонпероксидазної активності у мозковому шарі нирок щурів вдвічі, у кірковому шарі – 2,5 раза, а в сосочку - втричі порівнянні з контролем (рис.2). Інтоксикація тварин 0,1%-им розчином сулеми у дозі 5 мг/кг маси тіла тварини призвела до зміни глутатіонпероксидазної активності у різних

шарах нирок щурів (рис.1, рис.2). Так, нами встановлено, що 3% сольове навантаження на фоні сулемової нефропатії в нирках щурів знизила активність ферменту у кірковому шарі нирок в 5,5 разів, у мозковому шарі – у 8 разів, а у сосочку – у 3,4 рази порівняно з контролем. За цих же умов інтоксикації 0,75% сольове навантаження спричинило зниження глутатіонпероксидазної активності у порівнянні з контролем в 6 разів у кірковому шарі, в 3 рази – у мозковому шарі та в 3,7 рази у сосочку нирок.

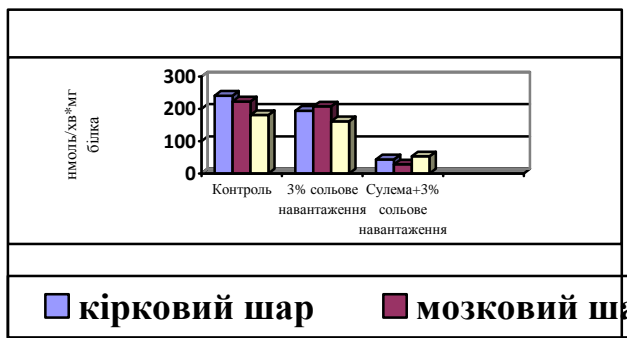


Рис.1 Глутатіонпероксидазна активність у нирках щурів за умов 3% сольового навантаження на фоні сулемової нефропатії

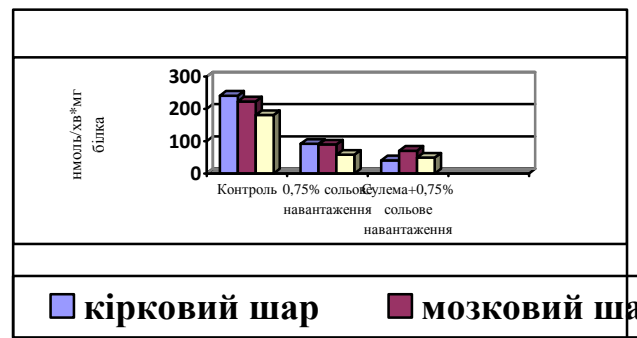


Рис.2 Глутатіонпероксидазна активність у нирках щурів за умов 0,75% сольового навантаження на фоні сулемової нефропатії

Отже, отруєння щурів розчином сулеми, можливо, веде до руйнування клітинної мембрани та спричиняє активацію процесів вільнорадикального окиснення макромолекул. Це в свою чергу запускає захисну антиоксидантну систему організму тварин, яка бере участь у знешкодженні активних форм кисню.

#### Висновок

3% сольове навантаження призводить до незначних змін показників активності антиоксидантного ферменту – глутатіонпероксидази у різних шарах нирок порівняно з показниками контрольної групи. При 0,75% навантаженні розчином NaCl відмічено зниження глутатіонпероксидазної активності у всіх відділах нирки у порівнянні з контролем. Дія 0,1%-ного розчину сулеми у дозі 5 мг/кг маси тіла тварини призвела до зниження глутатіонпероксидазної активності порівняно з контролем не залежно від виду сольового навантаження.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому планується дослідження впливу водного навантаження на функціональний стан нирок щурів на тлі сулемової нефропатії.

#### Література

1. Абдурахманов Д. Гепаторенальный синдром и лечение / Д. Абдурахманов // Врач. – 2004. - № 12. – С. 21–22.
2. Барабой В. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / [Барабой В. А., Сутковой Д. А.] ; под общ. ред. Зозули Ю. А. – Киев: Наукова думка, 1997. – 420с. 13
3. Беленічев І.Ф. / Антиоксидантна система захисту організму (огляд) / Беленічев І.Ф., Левицький Е.Л., Губський Ю.І. [та ін.] // Совр. пробл. токсикологии. – 2002. - №3. – С. 18-32.
4. Велика А. Я. Зміна активності антиоксидантних ферментів при водному і сольовому навантаженні у нирках щурів / А. Я. Велика // Буковинський медичний вісник.–2012. - №1(61). – С. 116-119.
5. Гоженко А. І. «Приховане» ушкодження проксимального відділу нефрону / А. І. Гоженко, Ю. Є. Роговий, О. С. Федорук // Одеський медичний журнал. – №5. – С. 16–19.
6. Гоженко А. И. Функциональное состояние почек в условиях водной и солевой загрузки при беременности у крыс на фоне сулемовой нефропатии / А. И. Гоженко, А. Н. Слученко // Нефрология. – 2006. – Т. 10, № 1. – С. 72 –76.
7. Мацьопа І. В. Адаптація антиоксидантної системи нирок щурів до різних світлових режимів за інтоксикації тетрахлорметаном та дії мелатоніну / І. В. Мацьопа, Н. П. Григор'єва, І. Ф. Мещишен // Український біохімічний журнал. – 2010. – Т. 82, № 2. – С. 79 – 88.
8. Пишак В. П. Биологические ритмы экскреторной функции почек у больных гипотиреозом / В. П. Пишак, Н. В. Кривич // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – Т. 125, № 6. – С. 684–688.
9. Пишак В. П. Клінічна анатомія шишкоподібного тіла / В. П. Пишак/ – Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 160 с.
10. Пишак В. П. Хроноритмічні особливості екскреторної функції нирок за умов гіпофункції шишкоподібної залози / В. П. Пишак, Р. Є. Булик, Н. М. Шумко // Буковинський медичний вісник. – 2005. – № 1. – С. 94–96.
11. Оковитый С. В. Клиническая фармакология антиоксидантов / С. В. Оковитый // ФАР Миндекс-Практика. – 2003. – вып. 5. – С. 85–119.

#### Реферати

##### ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОЙ НАГРУЗКИ НА ФОНЕ СУЛЕМОВОЙ НЕФРОПАТИИ НА ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ В ПОЧКАХ КРЫС

Великая А. Я., Пишак В. П., Мацьопа И. В.

Отравление крыс раствором сулемы ведет к разрушению клеточной мембраны и провоцирует активацию процессов свободнорадикального окисления макромолекул.

##### SALT LOADING INFLUENCE ON SULEMA NEPHROPATHY BACKGROUND OVER GLUTATHIONPEROXYDASA ACTIVITY IN THE RATS KIDNEYS

Velika A.Ya., Pishak V.P., Matsyepa I.V.

Rats poisoning with glutathionperoxydasa solution leads to destruction of the cell membrane and causes activation of free radical oxidation process of

Это в свою очередь запускает защитную антиоксидантную систему организма животных, которая берет участие в уничтожении активных форм кислорода. Действие 0,1%-ного раствора сулемы в дозе 5 мг/кг массы тела животного привела к снижению глутатионпероксидазной активности, по сравнению с контролем, не зависимо от вида солевой нагрузки. 3% солевая нагрузка приводит к незначительным изменениям показателей активности антиоксидантного фермента – глутатионпероксидазы в разных слоях почек, по сравнению с показателями контрольной группы. При 0,75% нагрузке раствором NaCl отмечено снижение глутатионпероксидазной активности у всех отделов почки, у сравнение с контролем.

**Ключевые слова:** почки, глутатионпероксидаза, солевая нагрузка, сулема, антиоксидантная система.

Стаття надійшла 28.05.2012 р.

macromolecules. It activates antioxidant defense system of the animal organism, which is responsible for decontamination of active form of oxygen. Effect of 0,1 % sulema (mercurius corrosivus) solution in dose of 5 mg/kg of the body weight of animals causes lowering of glutathionperoxydasa activity in comparison with control not depending on the type of salt loading. 3% salt loading leads to minor indexes alteration of antioxidant enzyme activity – glutathionperoxydasa in different kidneys layers in comparison with indexes of the control group. Lowering of glutathionperoxydasa activity in all parts of the kidney in comparison with control under 0,75% loading with NaCl is registered.

**Key words:** kidneys, glutathionperoxydasa, salt loading, sulema (mercurius corrosivus), antioxidant system.

УДК 616-003.972:616.33:616-006.66:616-091.8-036.1

С.В. Вернигородський  
Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця

### ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ ЦИТОКЕРАТИНІВ ТА КАРЦИНОЕМБРІОНАЛЬНОГО АНИГЕНУ ПРИ КИШКОВІЙ МЕТАПЛАЗІЇ ШЛУНКА

На основі імуногістохімічного аналізу гастробіопсій вивчено особливості експресії цитокератинів 7, 20 та карциноембріонального антигену при кишковій метаплазії СОШ. Встановлено, що позитивна експресія СК7 та СЕА в ділянках кишкової метаплазії свідчить про її незрілий, неповний або гастроінтестинальний фенотип, проте експресія СК20 є більш характерною для повного, зрілого/тонкокишкового фенотипу метаплазії СОШ.

**Ключові слова:** цитокератини, карциноембріональний антиген, кишкова метаплазія, шлунок.

*Робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Морфогенез та патоморфоз захворювань шлунково-кишкового тракту, сечостатевої, нейроендокринної та імунної системи», № державної реєстрації 0111U010551.*

Визнаними імуногістохімічними маркерами епітелію є цитокератини — білки проміжних філаментів (цитоскелету) епітеліальних клітин. [1]. Відомо близько 20 різних цитокератинів, що відрізняються за амінокислотним складом, молекулярною вагою та ізоелектричною точкою. Їх поділяють на дві великі групи – кислі або I тип А, сюди відносять 12 цитокератинів (СК9-СК20), інші 8 (СК1-СК8) - це основні/нейтральні або II тип В [6]. Кератини кодуються генами великого мультигенного сімейства (на хромосомах 11, 12 і 17). Для різних типів епітелію характерні певні групи цитокератинів [9]. В практичній роботі для імуногістохімічного визначення епітеліальної природи атипичних клітин в пунктатах та біоптатах новоутворень достатньо використовувати антитіла проти певного цитокератину, або антитіла до широкого спектру цитокератинів (Pan-CK). Відомо також, що малігнізація епітеліальних клітин може призводити до зміни спектру цитокератинів, притаманного епітелію певної локалізації [2]. Цей феномен міг би бути використаний в якості маркеру неопластичної трансформації. Так, аденокарциноми звичайно експресують цитокератини епітеліального типу СК8, СК18, СК19 та, часто СК7. Типовим для колоректальних аденокарцином є експресія специфічних інтестинальних цитокератинів СК20 та відсутність СК7. За Schwerer M. J. та Vaszako K. [10] найбільш характерним для зрілого інтестинального епітелію є експресія СК20.

Карциноембріональний антиген (СЕА) є онкофетальним білком, що виробляється переважно тканинами шлунково-кишкового тракту та підшлункової залози ембріону в першому триместрі вагітності а потім стає складовою частиною поверхневих клітинних мембран [11]. Після народження синтез його пригнічується. У дорослих людей він практично не виявляється. Вміст його збільшується при карциномах шлунково-кишкового тракту, легень, молочної залози, яєчників і матки. Найбільш часто його використовують як маркер колоректального раку. При пухлинах товстої кишки рівень СЕА корелює зі стадією процесу, тривалістю безрецидивного періоду та прогнозом. У зв'язку з високим вмістом вуглеводів (до 60%) в його молекулярній структурі та властивістю вироблятися переважно у фетальному періоді було доцільним прослідити його експресію в ділянках кишкової метаплазії (КМ) слизової оболонки шлунка (СОШ).

Експресія цитокератинів та СЕА при передракових змінах, зокрема при КМ залишається не вивченою та потребує додаткових досліджень [5, 10, 11].

**Метою** роботи було вивчити особливості експресії цитокератинів 7, 20 та карциноембріонального антигену в ділянках металазованого епітелію при різних типах кишкової метаплазії слизової оболонки у хворих з передраковими станами та раком шлунка.