

рентгенологічних особливостей морфогенеза регенерата. Рентгенографічно у крыс з перелом нижньої щелепи на фоні остеопороза, явлення первинної тканинної реакції на 7 сутки після перелому переростають на 14 і 21 сутки в виражений запальний і деструктивний процес, який зменшується на 30 сутки і купується лише к 45 суткам. При переломі нижньої щелепи на фоні остеопороза при введенні препарату криоплаценти деструктивно-резорбтивна і запальна реакції були менш виражені, ніж в контрольній групі крыс і затихали к 21-30 суткам, а к 45 суткам преваливали процеси консолідації отломків щелепи. В групі при спільному введенні препаратів криоплаценти і кальція первинна тканинна реакція проявлялась слабко вираженим запаленням лише на 7 сутки, а уже к 14 суткам спостерігались явлення консолідації, які, наростаючи, приводили к утворенню щільної кісткової мозолі к 45 суткам.

**Ключові слова:** рентгенологічні особливості, перелом нижньої щелепи, остеопороз, криоплацента, кальція цитрат, крысы.

Reviewer - prof. Gunas I.V.

Article received on 5.06.2017

Goltsev Anatoly Mykolayovych - academician of the National Academy of Sciences of Ukraine, Professor, DSc (Med), MD, Director of Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine; +38(057)3734143; cryo@online.kharkov.ua

Lukhytskyi Oleksiy Oleksiyovych - assistant of the Department of Surgery №2 with the course of the basis of dentistry of National Pirogov Memorial Medical University, Vinnitsa, +38(067)3964340

© Волощук Н.І., Конюх С.А., Мельник А.В.

УДК: 577.112.386:616.61

**Волощук Н.І., Конюх С.А., Мельник А.В.**

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра фармакології (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

## УЧАСТЬ СИСТЕМИ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В ПАТОГЕНЕЗІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ НИРКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

**Резюме.** В досліджах на щурах встановлено причетність системи гідроген сульфід до стану видільних органів за гострої міоглобінурічної та хронічної ниркової недостатності. За умов гострого ураження, підвищення рівня гідроген сульфід у нирках корелювало із погіршенням функціонального стану каналцевого та клубочкового апарату нирок, а зниження його кількості - навпаки, виявляло нефропротекторну дію. За умов хронічної ниркової недостатності виявлена протилежна закономірність, донатори гідроген сульфід проявляли захисну дію, а інгібітори його синтезу - погіршували показники роботи нирок.

**Ключові слова:** гідроген сульфід, гостра ниркова недостатність, хронічна ниркова недостатність.

### Вступ

Актуальність проблеми уражень нирок весь час зростає, оскільки ця патологія в світі охоплює від 10 до 16% дорослого населення. У 2011 році експерти ООН назвали хвороби нирок найбільш важливими неінфекційними захворюваннями сучасності [5]. У 1990 році хронічна хвороба нирок (ХХН) займала 27 місце серед усіх причин смертності, тоді як у 2010 році займала 18 місце (росла приблизно на 82%), що становило третє місце за швидкістю приросту летальності серед 25 основних причин смерті (після ВІЛ/СНІД - 396%, та діабету - 93%) [8]. В Україні станом на початок 2004 року на обліку перебувало 9647 хворих на ХНН, з яких 1634 були зареєстровані вперше. На кінець 2007 року на обліку перебувало вже 435 468 хворих з діагнозом хронічна хвороба нирок (ХХН), з яких 49 267 були виявлені вперше [3]. Молекулярні механізми ураження нирок є предметом інтенсивних досліджень. На сьогоднішній день не викликає сумнівів залучення таких процесів як прямий безпосередній вплив на певні клітинні мішені, субклітинні структури, ферментні чи транспортні білки, оксидативний та нітрозативний стрес, апоптоз та запалення [10]. Однак, повної ясності в цих питаннях наразі

немає. Тому встановлення молекулярних механізмів захисного потенціалу видільних органів набуває особливої ваги з огляду на можливість визначення додаткових маркерів нефротоксичності та розробки патогенетично обґрунтованих підходів до попередження і медикаментозного лікування ураження нирок.

Останні роки все більше уваги привертає така сигнальна молекула як гідроген сульфід ( $H_2S$ ), яка утворюється в організмі в процесі метаболізму сірковмісних амінокислот. Гідроген сульфід приймає участь в регуляції фізіологічних та патологічних процесів в різних органах, в т.ч. і нирках.  $H_2S$  утворюється в нирках за умови наявності реакцій, що каталізуються ферментами ЦГЛ (КФ 4.4.1.1), ЦБС (КФ 4.2.1.22), та 3-МСТ (ЕС 2.8.1.2) разом із ЦАТ (ЕС 2.6.1.3) у досить значних кількостях, що є свідченням досить значної ролі, яку відіграє цей газотрансмітер у функціонуванні як каналцевого, так і клубочкового апарату видільних органів [6, 9].

Зміни вмісту  $H_2S$  в організмі можуть виникати внаслідок застосування лікарських засобів та наявності у пацієнта патологічних станів та захворювань [10]. На сьогодні до кінця не з'ясована роль гідроген сульфід

в патогенезі ниркових уражень, зокрема, ниркової недостатності, а також реалізації нефропротекторної дії препаратів.

Метою роботи було з'ясувати роль дефіциту та надлишку  $H_2S$  у функціонуванні нирок щурів з експериментальною гострою і хронічною нирковою недостатністю.

### Матеріали та методи

Досліди виконані на 80 щурах самця лінії Вістар масою 300-330 г, отриманих із віварію Інституту фармакології та токсикології НАМН України і котрі перебували в умовах віварію ВНМУ. Дослідження проведені згідно загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986), правил гуманного відношення до експериментальних тварин, затверджених комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, інших міжнародних угод та національного законодавства в цій галузі. Всі тварини перебували в стандартних умовах віварію з 12-годинним режимом день / ніч. Воду і збалансований гранульований корм отримували *ad libitum* у відповідності до нормативів. Всі маніпуляції проводили в стандартних умовах з 900 до 1000.

Гостру міоглобінуричну ниркову недостатність (ГНН) викликали одноразовим в/м введенням 50% розчину гліцеролу, 10 мл/кг [4]. Хронічну ниркову недостатність (ХНН) викликали шляхом односторонньої нефрэктомії з подальшою субтотальною резекцією контрлатеральної нирки [4]. Дефіцит та надлишок  $H_2S$  створювали внутрішньоочеревним введенням, відповідно, пропаргілгліцину (PPG) (Sigma, USA), 10 мг/кг та натрію гідрогенсульфіду ( $NaHS$ ) (Sigma, USA), 3 мг/кг 1 раз на добу [1] за 5 днів до моделювання патології та протягом всього терміну розвитку ниркової недостатності.

Тварини контрольної групи та псевдооперовані щури отримували еквіоб'ємні кількості розчинників. Функціональні та біохімічні зміни в нирках оцінювали на 3 добу ГНН та на 41 добу після відтворення ХНН. Евтаназію тварин здійснювали під тіопенталовим наркозом (30 мг/кг маси інтраперитонеально). При проведенні дослідження користувались пробами сечі та супернатантів постядерного гомогенату нирок. Для оцінки функціонального стану нирок визначали рівень ензимурії, протеїнурії, показники азотистого балансу, швидкість клубочкової фільтрації після водного навантаження (5% маси тіла) з використанням стандартних наборів фірми Філісіт-Діагностика, Україна. Активність ЦГЛ в постядерному гомогенаті нирок оцінювали за приростом сульфід аніону, який визначали за реакцією утворення метиленового синього спектрофотометричним методом. Вміст  $H_2S$  в супернатанті нирок визначали спектрофотометричним

методом за реакцією з N,N-диметил-пара-фенілендіаміном в присутності  $FeCl_3$ . Вміст загального білку в постядерному супернатанті гомогенату нирок та сечі визначали мікробіуретовим методом. Статистичну обробку отриманих результатів проводили в програмі "STATISTICA 6.1".

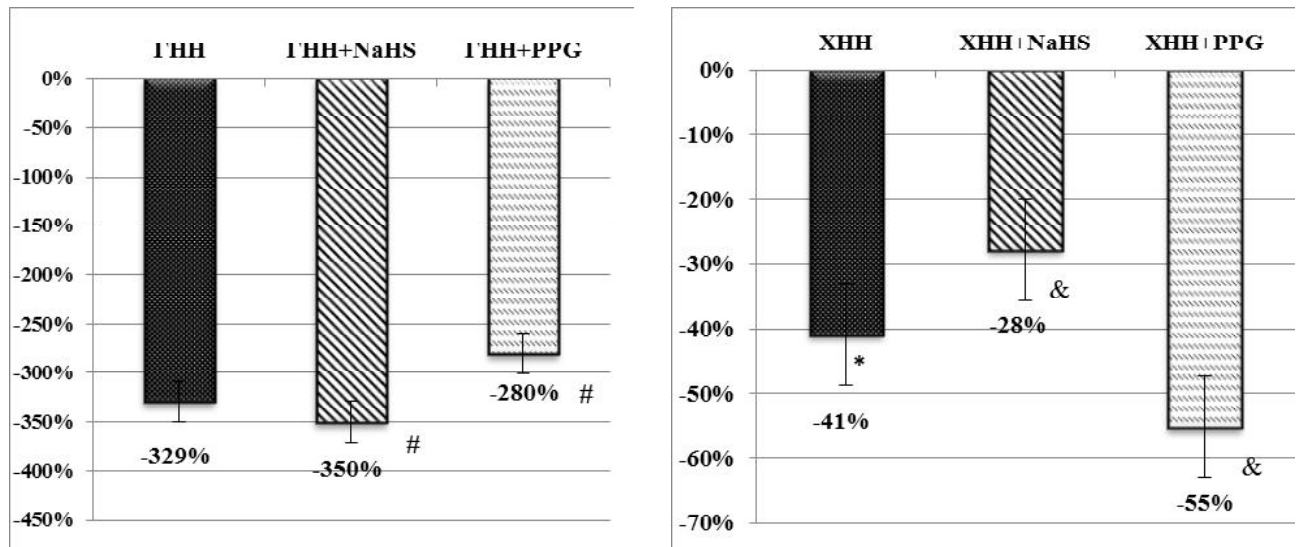
### Результати. Обговорення

В ході дослідження було встановлено, що у щурів з обома моделями ниркової недостатності спостерігались статистично вірогідні порушення як клубочкового так і канальцевого апарату видільних органів (рис. 1, 2). Так, введення гліцеролу супроводжувалось виразною протеїнурією та ензимурією (в 3 рази), зростанням у крові продуктів азотистого обміну (в 3,8 рази), а також розвитком фільтраційної недостатності нирок (ШКФ зменшувалась більш, ніж у 3 рази порівняно з показником інтактних тварин). Аналогічна тенденція була отримана і на тлі ХНН, однак виразність патологічних змін в цих групах тварин була не такою виразною (ШКФ зменшувалась на 41%, а екскреція ГГТП зростала на 62,6%). Модуляція вмісту гідроген сульфід у організмі проявила різноспрямований вплив за умов гострого та хронічного ураження нирок. Так, введення донору  $H_2S$  щурам з ГНН викликало ще більші ушкодження клубочкового апарату (ШКФ зменшувалась в 3,5 рази, а екскреція ГГТП зростала в 3,25 рази), в той час як введення інгібітора синтезу гідроген сульфід - навпаки, знижувало виразність патологічних змін (рис. 1, 2).

У той же час, звертає увагу, що за умов хронічної ниркової недостатності гідроген сульфід проявляв себе як нефропротектор, оскільки додаткове введення донору  $H_2S$  зменшувало ступінь ураження нирок (показники фільтраційної здатності широк та ензимурії становили -28 та +37,6%, відповідно, порівняно з інтактними тваринами). Введення інгібітора синтезу гідроген сульфід - навпаки, ще більше посилювало ураження як клубочкового, так і канальцевого апарату видільних органів.

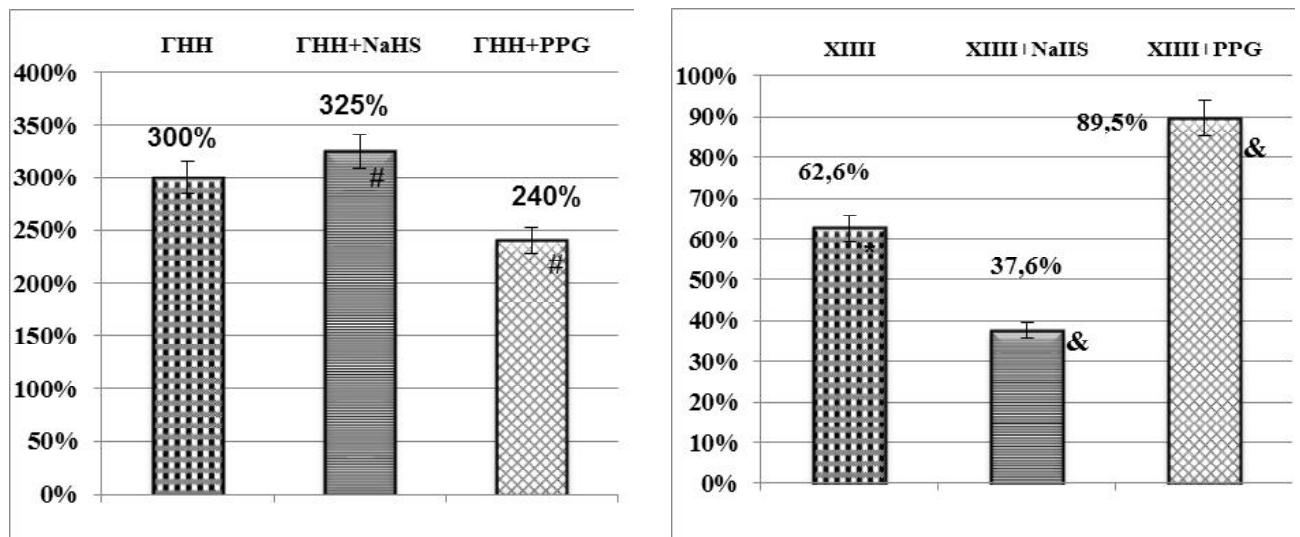
Тобто, за умов гострої ниркової недостатності підвищення вмісту гідроген сульфід у організмі посилювало ступінь ураження, а зменшення рівня  $H_2S$  - захищало нирки від міоглобінуричного пошкодження, натомість за умов хронічної ниркової недостатності - навпаки, гідроген сульфід вірогідно зменшував пошкодження нирок, про що свідчить більш низький показник екскреції гамаглутамілтранспептидази порівняно з ХНН без корекції.

В ході дослідження було виявлено, що превентивне введення натрію гідроген сульфід збільшувало рівень  $H_2S$  на тлі зростання активності ЦГЛ в нирках приблизно в 1,5 рази, що супротивно з поглибленням індукованих гліцеролом пошкоджень тубуло-гломерулярного апарату нирок. Натомість, введення ППГ зменшувало продукцію  $H_2S$  в нирках, а також рівень активності ЦГЛ, що асоціювалось зі зменшенням про-



**Рис. 1.** Ступінь ураження клубочкового апарату нирок (швидкість клубочкової фільтрації) на тлі дефіциту та надлишку гідроген сульфїду в організмі (% відносно інтактних тварин) ( $M \pm m$ ,  $n=10$ ).

**Примітки:** \* - статистично вірогідні відмінності ( $p < 0,05$ ) відносно інтактних тварин; # - статистично вірогідні відмінності ( $p < 0,05$ ) відносно групи "ГНН"; & - статистично вірогідні відмінності ( $p < 0,05$ ) відносно групи "ХНН".



**Рис. 2.** Ступінь ураження каналцевого апарату нирок (ГТТП сечі) на тлі дефіциту та надлишку гідроген сульфїду в організмі (% відносно інтактних тварин) ( $M \pm m$ ,  $n=10$ ).

**Примітки:** \* - статистично вірогідні відмінності ( $p < 0,05$ ) відносно інтактних тварин; # - статистично вірогідні відмінності ( $p < 0,05$ ) відносно групи "ГНН"; & - статистично вірогідні відмінності ( $p < 0,05$ ) відносно групи "ХНН".

явів ниркової недостатності та тубулотоксичності на тлі експериментальної гострої ниркової недостатності (рис. 3). Представлена закономірність характерна для міоглобінуричної моделі ГНН. В той же час, за хронічного ураження нирок підвищення вмісту гідроген сульфїду асоціювалось із зменшенням нефротоксичних проявів, тоді як підвищення його вмісту в крові - навпаки, погіршувало перебіг експериментальної патології.

Кореляційний аналіз надав вагомі докази різновекторного впливу системи гідроген сульфїду на ступінь ураження каналцевого та клубочкового апарату нирок за умов дії ГНН та ХНН (табл. 1).

Так, при ГНН вміст його в організмі негативно ко-

релював з функціональною здатністю каналців та клубочків нирок, про що свідчили зміни показників швидкості клубочкової фільтрації, а також протеїнурії та ензимурії та виявив пряму кореляційну залежність із ступенем пошкодження нирок. При ХНН - навпаки, гідроген сульфїд негативно корелював із показниками ушкодження нирок та позитивно - із показниками функціональної здатності видільних органів.

На нашу думку, захисна дія гідроген сульфїду за умов хронічного ураження нирок зумовлена, головним чином, його вазодилатуючим, антиоксидантним, та антиапоптотичним ефектами [10], тобто здатністю впливати на основні ланки патогенезу хронічного ура-

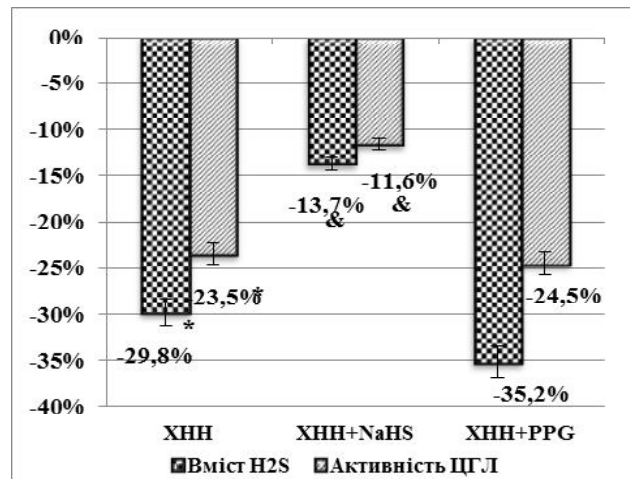
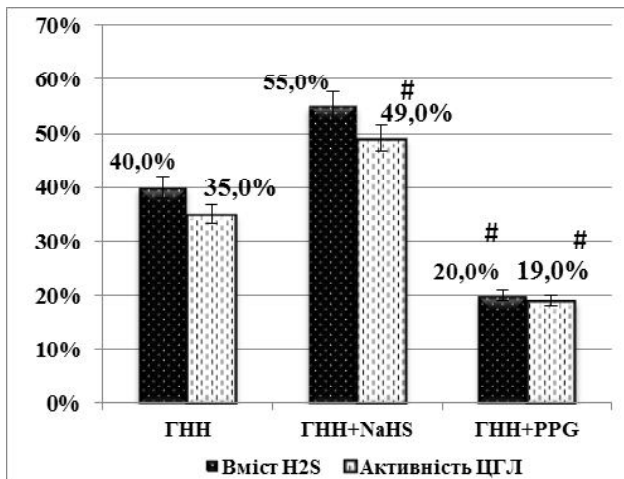


Рис. 3. Показники системи ЦГЛ/H<sub>2</sub>S в нирках щурів з гострою та хронічною нирковою недостатністю на тлі дефіциту та надлишку H<sub>2</sub>S в організмі (% відносно інтактних тварин) (M±m, n=10).

Примітки: \* - статистично вірогідні відмінності (p<0,05) відносно інтактних тварин; # - статистично вірогідні відмінності (p<0,05) відносно групи "ГНН"; & - статистично вірогідні відмінності (p<0,05) відносно групи "ХНН".

Таблиця 1. Коефіцієнти кореляції між вмістом H<sub>2</sub>S в нирках та показниками роботи нирок у щурів за ГНН та ХНН.

Показники	r <sub>H<sub>2</sub>S</sub>	
	ГНН	ХНН
ШКФ	-0,52*	0,60*
ГТПП	0,44*	-0,51*

Примітки: \* - вірогідні коефіцієнти кореляції r.

ження нирок. Водночас за міоглобінурічного ураження, особливо в ранні терміни патології, підвищення рівня H<sub>2</sub>S в нирках є прямою відповіддю на гостре ураження видільних органів, за цих умов H<sub>2</sub>S збільшуючи проникність судин, виступає як проінфламаторний чинник, посилюючи тим самим ступінь пошкодження нефронів. Ці дані узгоджуються з результатами інших дослідників, які показали нефропротективну дію донаторів гідроген сульфід за умов ішемічно-реперфузійного, обструктивного, гіпертензивного, діабетич-

ного ураження нирок [6, 9], тоді як за умов гострого цисплатин-індукованого ураження, особливо в ранні терміни, інгібування ендогенної продукції H<sub>2</sub>S зменшувало ступінь ураження нефронів [7], а у більш пізні терміни - навпаки, проявляло ренопротекторну дію [2].

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Таким чином, наші результати свідчать, що система гідроген сульфід залучена в патогенезі як гострої, так і хронічної ниркової недостатності. Вплив на систему гідроген сульфід може бути однією з важливих мішеней дії нефропротекторних засобів.

Отримані дані є важливим доказом необхідності подальших досліджень ролі гідроген сульфід в патології нирок, що створить передумови для більш ефективного лікування та профілактики ниркової недостатності шляхом цілеспрямованого впливу на систему H<sub>2</sub>S в нирках.

### Список посилань

1. Волощук, Н.І., & Таран, І.В. (2011). Гостра токсичність гідроген сульфід та його вплив на протизапальний ефект диклофенаку в експерименті. *Медична хімія*, 49(4), 88-91.
2. Йолтухівський, М.М. (2012). Патогенетична роль порушень метаболізму сірковмісних амінокислот у розвитку цисплатинової нефропатії. (Дис. канд. мед. наук). Луганський медичний університет, Луганськ.
3. Пиріг, Л.А., Іванов, Д.Д., & Таран, О.І. (2009). Нефрологія: Національний підручник, Донецьк: Видавель Заславський О.Ю.
4. Штриголь, С. Ю., Лісовий, В. М., Зупанець, І. А., Шебеко, С. К., Маслово, Н. Ф., Гоженко, А. І. ... Харченко, Д. С. (2009) Методи експериментального ураження нирок для фармакологічних досліджень. Методичні рекомендації. Київ, 36.
5. Dienemann, T., Fujii, N., Orlandi, P., Nessel, L., Furth, S. L., Hoy, W. E. ... Feldman, H.I. (2016). International Network of Chronic Kidney Disease cohort studies (iNET-CKD): a global network of chronic kidney disease cohorts. *BMC Nephrol.*, 17(1), 121.
6. Feliars, D., Lee, H. J., Kasinath, B. S. (2016). Hydrogen Sulfide in Renal Physiology and Disease. *Antioxid Redox Signal.*, 25(13), 720-731.
7. Francescato, D.C., Cunha, F.Q., Costa, R.S., Barbosa, J.F., Boim, M.A., Arnoni, C.P., ... Coimbra, T.M. (2011). Inhibition of hydrogen sulphide formation reduces cisplatin-induced renal damage. *Nephrol Dial Transplant.* 26(2), 479-488.
8. Lozano, R., Naghavi, M., Foreman, K., Lim, S., Shibuya, K., Aboyans, V. ... Memish, Z. A. (2012). Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. // *Lancet*, 380(9859), 2095-2128.
9. Xu, C., & Jin-Song, B. (2016). The Role of Hydrogen Sulfide in Renal System. *Front Pharmacol.*, 7, 385-392.
10. Zaichko, N.V., Melnik, A.V., Yoltukhivskyy, M.M., Olhovskiy, A.S., & Palamarchuk, I.V. (2014). Hydrogen sulfide: metabolism, biological and medical role. *Ukr. Biochem. J.*, 86(5), 5-25.

*Волощук Н.И., Конюх С.А., Мельник А.В.*

**УЧАСТИЕ СИСТЕМЫ ГИДРОГЕН СУЛЬФИДА В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

**Резюме.** В опытах на крысах установлена причастность системы гидроген сульфида к состоянию выделительных органов при острой миоглобинурической и хронической почечной недостаточностью. При остром поражении повышение уровня гидроген сульфида в почках коррелировало с ухудшением функционального состояния канальцевого и клубочкового аппарата почек, а снижение его количества - наоборот, выявляло нефропротекторное действие. При хронической почечной недостаточности выявлена противоположная закономерность, при этом доноры гидроген сульфида проявляли защитное действие, а ингибиторы его синтеза ухудшали показатели работы почек.

**Ключевые слова:** гидроген сульфид, острая почечная недостаточность, хроническая почечная недостаточность.

*Voloshchuk N.I., Konjuch S.A., Melnik A.V.*

**PARTICIPATION OF HYDROGEN SULFIDE SYSTEM IN THE PATHOGENESIS OF EXPERIMENTAL KIDNEY FAILURE**

**Summary.** In experiments on rats, the involvement of the hydrogen sulfide system in the condition of the excretory organ during acute myoglobinuric and chronic renal insufficiency was established. In acute injury increasing the level of hydrogen sulfide in kidneys correlated with worsening in the functional state of the tubular and glomerular apparatus of kidneys, and decreasing of H<sub>2</sub>S, on the contrary, showed a nephroprotective effect. In chronic renal failure, an opposite pattern was revealed, while donors of hydrogen sulfide showed a protective effect, and inhibitors of its synthesis worsened the functional state of kidneys.

**Key words:** hydrogen sulfide, acute renal failure, chronic renal failure.

*Рецензент - д.мед.н., проф. Заічко Н.В.*

*Стаття надійшла до редакції 7.06.2017*

*Волощук Наталія Іванівна - д.мед.н., проф., завідувач кафедри фармакології ВНМУ; voloshchuk@vnm.edu.ua*

*Конюх Сергій Анатолійович - аспірант кафедри фармакології ВНМУ ім. М.І. Пирогова; ksergey29061980@gmail.com*

*Мельник Андрій Володимирович - к.мед.н., доцент кафедри біологічної та загальної хімії ВНМУ ім. М.І. Пирогова; anderneting@gmail.com*

© Сікора В.В.

УДК: 616.62-002-018:616.633]:613.632

**Сікора В.В.**

Сумський державний університет, кафедра патологічної анатомії (вул. Привокзальна, 31, м. Суми, 40022, Україна)

**ОЦІНКА МОРФОМЕТРИЧНОГО СТАНУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ СЕЧОВОГО МІХУРА ТА РІВНЯ ЕКСКРЕЦІЇ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ З СЕЧЕЮ ЗА УМОВ ВЖИВАННЯ СУМІШІ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

**Резюме.** Забруднення навколишнього середовища екополютантами сприяє зростанню ризиків надходження важких металів (ВМ) до організму, що можна ідентифікувати шляхом встановлення рівня їх концентрації в сечі. Результати нашого експериментального дослідження показують, що в умовах застосування суміші ВМ відбувається посилення їх екскреції з сечею на тлі значних морфометричних перетворень компонентів слизової оболонки сечового міхура. Варто відзначити, що після скасування надходження поллютантів до організму їх вміст в урині різко знижується, що супроводжується покращенням стабілізації гістоморфометричних показників.

**Ключові слова:** сечовий міхур, важкі метали, мікроелементи, сеча.

**Вступ**

У літературі зростає чисельність повідомлень щодо високих концентрацій екотоксикантів у ґрунтовому, водному та повітряному середовищах, і як наслідок їх несприятливий вплив на організм людини [7, 8]. Одне з провідних місць серед усіх техногенних ксенобіотиків посідають солі важких металів (СВМ), однак вирішальне значення характеру їх дії на організм залежить від варіантів їх концентрації, міграції, комбінації та природи походження [2, 8-10]. Наслідки поширеності важких металів (ВМ) та результати їх контакту з організмом значно відрізняються серед багатьох публікацій [2, 5, 8], що кардинально впливає на складність розуміння небезпеки цієї проблематики.

Висновками багатьох учених є сильні корелятивні

зв'язки росту захворюваності різного генезу у людей з промислово розвиненими локаціями повсякденного життя та високим рівнем урбанізації, де рівні та види хімічних елементів у різних органах значно варіюють [1, 5, 7, 11]. Доведено, що після тривалого контакту з цими хімічними полютантами відбувається їх акумулювання в організмі, а найшвидшими та найдоступнішими індикаторами для реєстрації коливання вмісту ВМ в організмі є кров та сеча [5, 10, 12].

Беручи до уваги інтригуючі дані щодо мінливості рівня елімінації ВМ за допомогою сечовидільної системи [3, 5, 12] і тривале накопичення/резервування урини у сечовому міхурі (СМ) [4], метою нашого дослідження стало встановлення особливостей екскреції