

*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

хімічних елементів з сечею та їх зв'язку зі зміною морфометричних показників слизової оболонки органа під час вживання СВМ у підвищених концентраціях і в період реадптації.

### Матеріали та методи

У ході дослідження в якості експериментальної моделі використовувались білі щурі-самці лінії Вістар ( $n=48$ ), які перебували в стандартних лабораторних умовах з контрольованою температурою, вологістю та 12 годинним циклом день/ніч. Харчі та вода були у вільному доступі. Згідно сценарію експерименту тварин було поділено на 3 групи, а саме: I - контрольна; II - тварини вживали питну воду з сумішшю СВМ протягом 30 та 90 днів; III - група реадптації, тварини після відміни вживання комбінації ВМ протягом 30 (120 доба) та 90 (180 доба) днів. У перелік зазначених ВМ з відповідним дозуванням ввійшли наступні елементи: цинк ( $ZnSO_4 \times 7H_2O$ ) - 5 мг/л, мідь ( $CuSO_4 \times 5H_2O$ ) - 1 мг/л, залізо ( $FeSO_4$ ) - 10 мг/л, марганець ( $MnSO_4 \times 5H_2O$ ) - 0,1 мг/л, свинець ( $Pb(NO_3)_2$ ) - 0,1 мг/л, хром ( $K_2Cr_2O_7$ ) - 0,1 мг/л. Всі процедури з догляду та використання лабораторних тварин проводилися згідно положень, прийнятих "Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються в наукових цілях" (Страсбург, 1986 р.), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, схвалених I національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) та Етичних принципів та вказівок для експериментів на тваринах: 3-є видання (Швейцарія 2005 р.).

Забір сечі здійснювався запатентованим автором винаходом на 30, 90, 120 та 180 доби. Для встановлення рівня хімічних елементів в урині використовували атомно-абсорбційний спектрофотометр С-115М1 з комп'ютерним записом аналітичного сигналу та розрахунковою програмою "AAS SPEKTR" з урахуванням довжини хвилі кожного елементу. У ці ж терміни проводили декапітацію тварин під наркозом та видаляли СМ. Орган проходив етапи фіксації (10% розчині формаліну протягом 24 годин), дегідратації у спиртах зростаючої концентрації та парафінової заливки. З отриманих парафінових блоків готували зрізи товщиною 3-5 мкм та забарвлювали гематоксилін-еозинном за загальноприйнятою методикою. Світлооптичне дослідження та морфометрія слизової оболонки СМ проводилися за допомогою мікроскопа "Carl Zeiss Primo Star" з цифровою камерою "Zeiss AxioCam ERs 5s" та програмним забезпеченням "ZEN 2 (blue edition)" з цифровим мікрометром і розрахунковим виходом (мкм). Результати вивчалися як середнє ( $M$ )  $\pm$  стандартне відхилення (SD) та представлені як відсоток приросту у порівнянні з контролем. Непараметричний тест Манна-Уїтні використовували для оцінки відмінностей між групами, у свою чергу, імовірність взаємозв'язків між вибірками вивчали згідно кореляційного аналізу Спірмена ( $r$ ). Відмінність вважали статистично достовірною при

$p < 0,05$ . Статистичні розрахунки проводили у програмному середовищі Graph Pad® 6.0. та Attestat 12.0.5.

### Результати. Обговорення

Результати дослідження хімічних елементів у пробах зібраної сечі тварин показали, що на тлі надходження комбінації ВМ протягом 30 та 90 днів відбувається зростання їх загального рівня на 269,1% і 287,7% ( $p < 0,01$ ) від нормативних значень. Проте, ці показники залежали від індивідуальних особливостей екскреції кожного елементу. Так, концентрація Zn у біосубстратах зросла відповідно до термінів на 276,26% і 296,63% ( $p < 0,01$ ), Cu - 219,35% і 235,94% ( $p < 0,01$ ), Fe - 303,86% і 320,49% ( $p < 0,01$ ), Mn - 195,2% і 217,22% ( $p < 0,01$ ), - 312,14% і 319,54% ( $p < 0,01$ ) та Cr - 283,23% і 302,08% ( $p < 0,01$ ). На противагу цьому, на 30 та 90 добу реадптації констатовано різке зниження їх сумарних показників до 16,71% ( $p < 0,01$ ) і 4,24% ( $p > 0,05$ ), при цьому, у міру пролонгації дослідження концентрація цинку знизилася та коливалася на рівні 18,72% ( $p < 0,01$ ) та 4,2% ( $p > 0,05$ ), міді - на 11,11% ( $p < 0,05$ ) та 2,32% ( $p > 0,05$ ), заліза - на 20,1% ( $p > 0,05$ ) та 5,8% ( $p > 0,05$ ), марганцю - на 15,85% ( $p < 0,01$ ) та 4,84% ( $p > 0,05$ ), свинцю - на 5,68% ( $p > 0,05$ ) та 1,73% ( $p > 0,05$ ), хрому - на 8,58% ( $p > 0,05$ ) та 1,68% ( $p > 0,05$ ) (рис. 1 А).

У ході морфометричного дослідження СМ II та III експериментальних груп було встановлено високу мінливість та незначну ( $p > 0,05$ ) дестабілізацію товщини слизової оболонки від порогового контрольного рівня відповідно на (-14,53%), 0,48%, (-1,56%) та (-2,69%). Однак, при більш детальному аналізі виявлено, що отримані результати напряду залежали від різноспрямованості змін окремих компонентів її структурної будови. Так, у тварин II групи на 30 та 90 доби ми спостерігали зменшення висоти епітелію на 57,31% та 34,56% ( $p < 0,01$ ) та збільшення товщини власної пластинки на 30,53% ( $p < 0,01$ ) та 37,16% ( $p < 0,01$ ), відповідно до термінів дослідження (рис. 1 Б). Натомість, у 30-денний період реадптації коливання розмірів епітеліального пласту (-26,47%,  $p < 0,05$ ) і власної пластинки (23,09%,  $p < 0,01$ ) поступово зменшувалися, однак більш виразніші прояви відновлення їх параметрів спостерігали саме на 90 добу (-14,08%,  $p > 0,05$  і 9,12%,  $p > 0,05$ ), відповідно.

При кореляційному аналізі виявлено негативний обернено пропорційний зв'язок між збільшенням вмісту іонів ВМ в сечі та коливаннями параметрів висоти уротелію ( $r = -0,71$ ,  $p < 0,001$ ), з різною зворотною силою впливу для цинку ( $r = -0,69$ ,  $p < 0,001$ ), міді ( $r = -0,58$ ,  $p < 0,001$ ), заліза ( $r = -0,73$ ,  $p < 0,001$ ), марганцю ( $r = -0,71$ ,  $p < 0,001$ ), свинцю ( $r = -0,64$ ,  $p < 0,001$ ) та хрому ( $r = -0,73$ ,  $p < 0,001$ ) (рис. 1 В). Зростання концентрації металів-мікроелементів у сечовому біосубстраті характеризувалось позитивними (рис. 1 Г) взаємозв'язками зі збільшенням показників власної пластинки ( $r = 0,57$ ,  $p < 0,001$ ), що також залежало від вагомості дії Zn ( $r = 0,62$ ,

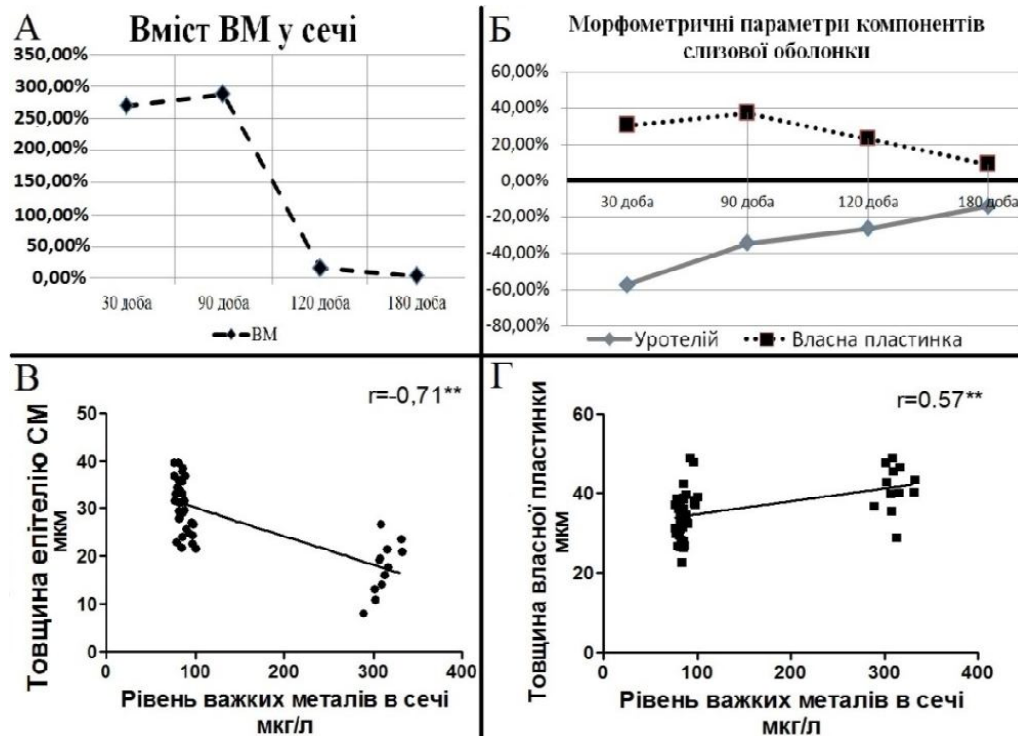


Рис. 1. Зображення коливань параметрів вмісту ВМ у сечі (А), товщини компонентів слизової оболонки (Б) та сила їх кореляційного зв'язку (В і Г).

$p < 0,001$ ), Cu ( $r = 0,52$ ,  $p < 0,001$ ), Fe ( $r = 0,41$ ,  $p < 0,001$ ), Mn ( $r = 0,63$ ,  $p < 0,001$ ), Pb ( $r = 0,51$ ,  $p < 0,001$ ), Cr ( $r = 0,49$ ,  $p < 0,001$ ).

Наші результати демонструють виражену реакцію морфометричних показників структурних компонентів слизової оболонки на тлі зростання концентрацій іонів ВМ у сечі. Відомо, що склад хімічних елементів у сечі залежить від умов проживання у техногенних районах або моделювання експериментів з даними ксенобіотиками [1, 5, 11, 12]. Загалом ми виявили, що змодельований вплив ВМ не зумовив значимих відмінностей у загальних параметрах товщини слизової протягом всього експерименту, так як показники зменшення перехідного епітелію протиставлялися потовщенню власної пластинки. Інтерпретація наших результатів полягає в тому, що така реакція уротелію і власної пластинки може бути наслідком резервування сечі з відносно великим надлишком металів-мікроелементів, подолання анатомо-фізіологічних протекторних (глікозаміногліканових) рівнів [6] та їх тривалого контакту з епітеліоцитами, що підтверджується наявністю корелятивних взаємозв'язків.

Беручи до уваги результати наших попередніх гістологічних досліджень, в момент надходження СВМ до

організму, на тлі дистрофічних та дегенеративних змін уротелію спостерігали численні вогнища десквамації, а їх глибина подекуди сягала власної пластинки [9], що забезпечило контакт останньої з агресивними компонентами сечі та іонами ВМ. Саме тому, визначення рівня хімічних елементів у сечі може слугувати індикатором їх вмісту та впливу на живі організми та в якості теоретичного підґрунтя для прогнозування ефекту від їх надходження.

Також, зацікавленість до даного дослідження привертає факт різкого зниження рівня екскреції

хімічних елементів в урині з поступовою стабілізацією морфометричних даних у період відновлення. Хоча надходження ВМ до організму було зупинено, вони все ще, були вище вихідних рівнів у контролі, що можливо пояснюється частковим компенсаторно-адаптивним виведенням з органів [3, 5, 10, 11].

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. За умов вживання солей важких металів відбувається збільшення вмісту хімічних елементів у сечі та зміна морфометричних параметрів окремих компонентів слизової оболонки сечового міхура.

2. Припинення надходження поллютантів призводить до зменшення кількості їх виведення, що супроводжується певною тенденцією до стабілізації гістоморфометричних показників.

3. Кореляційний аналіз вказав на залежність дисбалансу показників товщини перехідного епітелію та власної пластинки від величини вмісту важких металів у сечі.

У перспективі планується розробити шляхи корекції змін у сечовому міхурі під впливом солей важких металів.

### Список літератури

- Chang, C.H., Liu, C.S., Liu, H.J., Huang, C.P., Huang, C.Y., Hsu, H.T., ... Chung, C.J. (2016). Association between levels of urinary heavy metals and increased risk of urothelial carcinoma. *Int J Urol*, 23(3), 233-239.
- Chen, Z., Salam, M.T., Eckel, S.P., Breton, C.V., & Gilliland, F.D. (2015). Chronic effects of air pollution on respiratory health in Southern

California children: findings from the Southern California Children's Health Study. *J Thorac Dis*, 7(1), 46-58. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.12.20

3. Crinnion, W.J. (2009). The benefit of pre- and post-challenge urine heavy metal testing: part 2. *Altern Med Rev*, 14(2), 103-108.
4. de Groat, W.C., Griffiths, D., & Yoshimura, N. (2015). Neural control of the lower urinary tract. *Compr Physiol*, 5(1), 327-396. doi: 10.1002/cphy.c130056
5. Jaishankar, M., Tseten, T., & Anbalagan, N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol*, 7(2), 60-72.
6. Klingler, C.H. (2016). Glycosaminoglycans: how much do we know about their role in the bladder? *Urologia*, 83, Suppl 1, 11-4.
7. Pollack, L., Ondrasek, M.R., & Calisi, R. (2017). Urban health and ecology: the promise of an avian biomonitoring tool. *Current Zoology*, 63(2), 205-212.
8. Qing, X., Yutong, Z., & Shenggao, L. (2015). Assessment of heavy metal pollution and human health risk in urban soils of steel industrial city (Anshan), Liaoning, Northeast China. *Ecotoxicol Environ Saf*, 120, 377-385. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.06.019
9. Romaniuk, A., Sikora, V., Lyndin, M., Smiyanov, V., Sikora, V., Lyndina, Y., . . . Korobchanska, A. (2017). The features of morphological changes in the urinary bladder under combined effect of heavy metal salts. *Interv Med Appl Sci*, 9(2), 105-111. doi: 10.1556/1646.9.2017.2.09
10. Sheng, J., Qiu, W., Xu, B., Xu, H., & Tang, C. (2016). Monitoring of heavy metal levels in the major rivers and in residents' blood in Zhenjiang City, China, and assessment of heavy metal elimination via urine and sweat in humans. *Environ Sci Pollut Res Int*, 23(11), 11034-11045. doi: 10.1007/s11356-016-6287-z
11. Singh, R., Gautam, N., Mishra, A., & Gupta, R. (2011). Heavy metals and living systems: An overview. *Indian J Pharmacol*, 43(3), 246-253.
12. Sponder, M., Fritzer-Szekeres, M., Marculescu, R., Mittlbock, M., Uhl, M., Kohler-Vallant, B., & Strametz-Juranek, J. (2014). Blood and urine levels of heavy metal pollutants in female and male patients with coronary artery disease. *Vasc Health Risk Manag*, 10, 311-317. doi: 10.2147/VHRM.S61510

**Сикора В.В.**

#### ОЦЕНКА МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ И УРОВНЯ ЭКСКРЕЦИИ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ С МОЧОЙ ПРИ УПОТРЕБЛЕНИИ СМЕСИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

**Резюме.** Загрязнение окружающей среды экопеллутантами благоприятствует росту рисков поступления тяжелых металлов (ТМ) в организм, что можно идентифицировать путем выявления уровня их концентрации в моче. Результаты нашего экспериментального исследования показывают, что в условиях применения смеси ТМ происходит усиление их экскреции с мочой на фоне значительных морфометрических преобразований компонентов слизистой оболочки мочевого пузыря. Стоит отметить, что после отмены поступления поллутантов к организму их содержание в моче резко снижается, что сопровождается улучшением стабилизации гистоморфометрических показателей.

**Ключевые слова:** мочевого пузыря, тяжелые металлы, микроэлементы, моча.

**Sikora V.V.**

#### EVALUATION OF MORPHOMETRIC STATUS OF THE URINARY BLADDER MUCOSIUM AND THE LEVEL OF EXCESSATION OF MICROELEMENTS WITH URINE BY USING THE MIXTURE OF HEAVY METALS

**Summary.** Pollution of the environment by ecopollutants favors the growth of risks of heavy metals (HM) entering the body, which can be identified by detecting the level of their concentration in the urine. The results of our experimental study show that under the conditions of HM mixture application, their urinary excretion intensifies against the background of significant morphometric transformations of components of the mucous membrane of the bladder. It should be noted that after the cancellation of pollutant intake to the body, their content in urine decreases sharply, which is accompanied by an improvement in the stabilization of histomorphometry parameters.

**Key words:** urinary bladder, heavy metals, microelements, urine.

**Рецензент - д.мед.н., проф. Романюк А.М.**

Стаття надійшла до редакції 1.06.2017

Сикора Владислав Володимирович - аспірант кафедри патологічної анатомії Сумського державного університету; +38(050)7276193; v.sikora@med.sumdu.edu.ua