

УДК 616.61-008.64-036.1-085.273.2

І. І. Заморський,

Т.М. Унгуран

Вищий державний навчальний заклад
України "Буковинський державний
медичний університет", м. ЧернівціВПЛИВ ПРОФІЛАКТИЧНОГО
ЗАСТОСУВАННЯ ЦЕРУЛОПЛАЗМІНУ НА
ПЕРЕБІГ ГОСТРОГО ПОШКОДЖЕННЯ
НИРОК**Ключові слова:** церулоплазмін,
гостре пошкодження нирок,
функція нирок.**Мета роботи** - вивчення впливу церулоплазміну на функцію нирок за умов гострого пошкодження нирок.**Матеріали та методи.** В експерименті на білих щурах досліджено вплив церулоплазміну на функцію нирок за умов рабдоміолітичного пошкодження нирок, яке викликали внутрішньом'язовим введенням 50 % гліцеролу.**Результати.** Введення гліцеролу призвело до розвитку гострого пошкодження нирок. Профілактичне застосування церулоплазміну протягом трьох діб до моделювання ГПН сприяло обмеженню ураження нирок та зменшенню порушень їх функції. Спостерігалось збільшення діурезу та клубочкової фільтрації, зменшення екскреції білка з сечею, фракційної екскреції натрію та калію порівняно з нелікованими тваринами.**Висновки.** Встановлено, що церулоплазмін при профілактичному застосуванні протягом трьох днів запобігає значному пошкодженню нирок за умов рабдоміолізу та сприяє зменшенню порушень функції нирок.**Вступ**

Гостре пошкодження нирок (ГПН) зустрічається у 5 % усіх госпіталізованих пацієнтів, а за наявності факторів ризику може сягати до 70%, що призводить до підвищення захворюваності, тривалості госпіталізації, витрат на охорону здоров'я та збільшення госпітальної летальності у 3-10 разів [2, 7]. Цей синдром є потенційно небезпечним для життя ускладненням гострої травми, масивних оперативних втручань, гіповолемії, кардіогенного та септичного шоку, дії нефротоксичних агентів [7, 11]. Важливою причиною ГПН є рабдоміоліз, патологічний стан, при якому відбувається руйнування м'язової тканини із вивільненням токсичних доз міоглобіну та інших внутрішньоклітинних білків у кровообіг з подальшою їхньою фільтрацією в ниркові каналці, що викликає пошкодження нефроцитів [5]. Загалом, близько 40% випадків рабдоміолізу спричиняють ГПН, що становить 7 - 15% усіх випадків гострої ниркової недостатності. Патогенетичні механізми, які розвиваються при рабдоміолітичному ГПН, включають ішемію, зменшення ниркового кровообігу, внутрішньоренальну вазоконстрикцію, пряму токсичну дію міоглобіну, тубулярну обструкцію, внутрішньосудинне зсідання крові та формування тромбів у судинах реальної паренхіми, запалення та окислювальний стрес [5, 8, 11].

Основою лікування при ГПН залишається рання оптимізація гемодинаміки, при швидкому розпізнаванні цього стану, лікування та запобіган-

ня дії основної причини, що викликають ГПН, зокрема нефротоксинів. Наукові дослідження засвідчують, що своєчасні профілактичні та ранні терапевтичні втручання зменшують пошкодження нирок та сприяють відновленню їх функцій [11]. Серед медикаментозних засобів корекції багатьох патологічних процесів, у тому числі ГПН, важливе місце займають антиоксиданти, які здатні зменшувати активність вільнорадикального окислення та пошкодження нефроцитів. При цьому нашу увагу привернув потужний природний антиоксидант - мідьвмісний глікопротеїн церулоплазмін, який входить до глобулінової фракції плазми крові. Антиоксидантні властивості церулоплазміну зумовлені фероксидазною активністю, перетворюючи токсичний іон двовалентного заліза в нетоксичний тривалентного заліза, видаляє вільний іон заліза, який діє як головний виробник окислювачів (супероксидних та гідроксильних радикалів), внаслідок цього гальмує перекисне окислення ліпідів, підвищує стабільність клітинних мембран [1, 9]. Також цей білок здійснює антигіпоксичну, антитоксичну, радіозахисну дію, бере участь в транспорті та регулюванні обміну міді в крові та органах, обміні заліза, стимулює кровотворення та імунні процеси, покращує реологічні властивості крові, відіграє важливу роль у гострофазових реакціях та регуляції рівня біогенних амінів [1, 3, 9-10].

Мета дослідження

Вивчення впливу церулоплазміну при профілак-

тичному введенні на функцію нирок за умов рабдоміолітичного гострого пошкодження нирок.

Матеріал та методи

Дослідження проводили на нелінійних статевозрілих білих щурах масою 170 - 220 г, яких утримували в стандартних умовах віварію з вільним доступом до води та їжі. Тварин розподілено на три групи (n=8): 1 - інтактні тварини, 2 - модельна патологія, 3 - тваринам вводили церулоплазмін з моделювання ГПН. Для дослідження використали препарат церулоплазміну вітчизняного фармацевтичного об'єднання "Біофарма", який вводили внутрішньоочеревинно 1 раз на добу протягом 3 діб в дозі 7 мг/кг [6]. ГПН моделювали шляхом в/м введення 50% розчину гліцеролу з розрахунку 8 мл/кг [4, 12]. Для дослідження видільної функції нирок проводили водне навантаження, для цього застосовували питну воду в об'ємі 5 % від маси тварини, яку вводили внутрішньошлунково [5]. Тварин розсаджували в індивідуальні клітки та збирали сечу протягом 2 годин. Евтаназію тварин здійснювали на 24 год після моделювання ГПН шляхом декапітації під легкою ефірною анестезією у відповідності до положень "Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою" (Страсбург, 1986).

Функціональний стан нирок оцінювали за по-

казниками діурезу, концентрації креатиніну в плазмі крові, екскреції білка з сечею. Концентрацію креатиніну в плазмі крові визначали методом Поппера в модифікації Мерзона, вміст білка в сечі - за реакцією з сульфосаліциловою кислотою. Концентрацію іонів натрію та калію в плазмі крові та сечі визначали методом полум'яної фотометрії. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistica 10.0. Достовірність різниці між показниками оцінювали за допомогою параметричного t-критерію Стюдента (при нормальному розподілі) та непараметричного U-критерію Манна-Уїтні (при невідповідності нормальному розподілу).

Обговорення результатів дослідження

В/м введення гліцеролу спричинило тяжке рабдоміолітичне пошкодження нирок у щурів 2-ї групи, що супроводжувалось значним пригніченням функції нирок: діурез зменшився в 2,6 раза ($p<0,01$), клубочкова фільтрація знизилася в 4,5 раза ($p<0,01$) порівняно з інтактним контролем. У плазмі крові нелікованих тварин спостерігалась значна азотемія, рівень креатиніну підвищився в 3,6 раза ($p<0,01$). Про пошкодження нирок також засвідчила значна протеїнурія, спостерігалось збільшення екскреції білка з сечею в 3,3 раза ($p<0,01$).

Застосування церулоплазміну з профілактич-

Таблиця

Вплив профілактичного застосування церулоплазміну на функцію нирок за умов їх гострого пошкодження у щурів (7 мг/кг внутрішньоочеревинно) ($m \pm M$, $n=8$)

Показники	Контроль	ГПН	ЦП + ГПН
Діурез, мл/2 год	4,07 \pm 0,11	1,54 \pm 0,07 $p_1<0,01$	2,98 \pm 0,24 $p_2<0,01$
Вміст креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л	71,14 \pm 1,83	239,37 \pm 19,10 $p_1<0,01$	109,91 \pm 11,94 $p_2<0,01$
Екскреція креатиніну, мкмоль/л	3,99 \pm 0,40	2,92 \pm 0,19 $p_1<0,01$	5,09 \pm 0,14 $p_2<0,01$
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв	472,37 \pm 54,41	105,26 \pm 11,21 $p_1<0,01$	425,17 \pm 66,37 $p_2<0,01$
Реабсорбція води, %	92,29 \pm 0,80	87,39 \pm 0,84 $p_1<0,01$	93,62 \pm 0,69 $p_2<0,01$
Вміст білка в сечі, г/л	0,022 \pm 0,003	0,196 \pm 0,003 $p_1<0,01$	0,076 \pm 0,015 $p_2<0,01$
Екскреція білка, мг/2 год	0,091 \pm 0,009	0,302 \pm 0,017 $p_1<0,01$	0,207 \pm 0,027 $p_2<0,01$
Фракційна екскреція Na ⁺ , %	0,30 \pm 0,06	3,52 \pm 0,41 $p_1<0,01$	0,37 \pm 0,04 $p_2<0,01$
Реабсорбція Na ⁺ , %	98,61 \pm 0,19	96,60 \pm 0,20 $p_1<0,01$	98,49 \pm 0,26 $p_2<0,01$
Концентрація K ⁺ у плазмі, ммоль/л	5,50 \pm 0,14	12,86 \pm 0,79 $p_1<0,01$	7,86 \pm 0,38 $p_2<0,01$
Фракційна екскреція K ⁺ , %	6,49 \pm 0,93	30,82 \pm 3,29 $p_1<0,01$	8,23 \pm 1,17 $p_2<0,01$

Примітка: 1. $p_1<0,01$ – показник достовірності різниці з групою контролю; 2. $p_2<0,01$ – показник достовірності різниці з групою патології

ною метою протягом трьох діб сприяло значно меншому пошкодженню нирок та незначному порушенню функції нирок за умов рабдоміолітичного ГПН порівняно з нелікованими тваринами. Згідно з отриманими даними, діурез у тварин, яким вводили препарат, був вищий в 1,9 раза ($p < 0,01$), клубочкова фільтрація в 4,0 раза ($p < 0,01$), а екскреція білка була меншою в 1,5 раза ($p < 0,01$).

Для розвитку рабдоміолітичного пошкодження нирок також характерні порушення водно-електролітного обміну, що проявлялось розвитком гіперкаліємії: вміст іонів K^+ у плазмі крові підвищився в 2,4 раза ($p < 0,01$) порівняно з інтактними тваринами. На втрату іонів з сечею вказувало підвищення показників фракційної екскреції іонів натрію ($FENa^+$) в 11,3 раза ($p < 0,01$) та фракційної екскреції іонів калію (FEK^+) в 4,7 раза ($p < 0,01$). Водночас у тварин третьої групи виявлені порушення водно-електролітного обміну незначні порівняно з тваринами другої групи: вміст іонів калію у плазмі крові менший в 1,6 раза ($p < 0,01$), $FENa^+$ - в 9,5 раза ($p < 0,01$) та FEK^+ - в 3,7 раза ($p < 0,01$). Таким чином, встановлено, що церулоплазмін проявляє нефропротекторну дію при рабдоміолітичному ГПН.

Висновки

У результаті дослідження виявлено, що профілактичне застосування церулоплазміну протягом трьох днів запобігає значному пошкодженню нирок за умов рабдоміолізу та сприяє зменшенню порушень функцій нирок, яке проявляється збільшенням діурезу, клубочкової фільтрації, зменшенням азотемії, протейнурії, втрати електролітів з організму.

Перспективи подальших досліджень

Отримані в результаті дослідження дані засвідчують про нефропротекторну дію церулоплазміну за умов рабдоміолітичного ГПН та доцільність подальших досліджень застосування цього препарату у лікувальному режимі.

Список літератури. 1. Дослідження механізмів взаємодії церулоплазміну з моношаровими плівками з дистероїлфосфатидилхоліну / О. М. Ляхов та ін. Укр. біохім. журн. 2007. Т. 79, № 3. С. 97-100. 2. Закон К. М. Фактори ризику та лікування гострого пошкодження нирок. Український журнал нефрології та діалізу. 2012. № 4. С. 30-39. 3. Ідентифікація комплексів церулоплазміна з матриксними металопротеїнами 2 і 12 / А. В. Соколов та др. Біохімія. 2009. Т. 74, № 1. С. 1703-1708. 4. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень: методичні рекомендації ДФУ України / С. Ю. Штриголь та ін. К., 2009. С. 9-10. 5. Нефропротекторное действие пептида EDL при остром повреждении почек различного генеза / И. И. Заморский и др. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. Т. 163, № 3. С. 376

- 380. 6. Нечай А. В. Антиоксидант церулоплазмин та підбір його дози при гострій нирковій недостатності в експерименті. Медична хімія. 2007. Т. 9, № 4. С. 80-81. 7. Acute kidney injury - an update / M. Varrier et al. European medical journal nephrology. 2015. № 7. P. 75-82. 8. Animal models of acute renal failure / A. P. Singh et al. Pharmacological Reports. 2012. Vol. 64. P. 31-44. 9. Ceruloplasmin its role and significance: a review / V. Gaware et al. International journal of biomedical research. 2010. Vol. 1, № 4. P. 153-162. 10. Plasma ceruloplasmin chronic renal failure patients undergoing haemodialysis / K. J. Ashok et al. Journal of clinical and diagnostic research. 2010. № 4. P. 2058-2060. 11. Recovery from glycerol-induced acute kidney injury is accelerated by suramin / M. C. Korrapat et al. Journal Pharmacol. Exp. Ther. 2012. Vol. 341, № 1. P. 126-136. 12. The nephroprotective effects of taurine in acute kidney injury due to rhabdomyolysis / I. I. Zamorskii et al. Biophysics. 2016. Vol. 61, N. 6. P. 1036-1038.

References: 1. Doslidzhennia mekhanizmiv vzaiemodii tseruloplasminu z monosharovymy plivkami z dysteroilfosfatydydkholinu [Investigation of the mechanisms of interaction of ceruloplasmin with monolayer films of dysteroilfosfatydydkholin] / O. M. Liakhov i dr. Ukr. biokhim. zhurn. T. 79, № 3. S. 97-100. (in Ukrainian). 2. Zakon K. M. Faktory ryzyku ta likuvannya hostroho poskodzhennia nyrok [Risk factors and treatment of acute kidney injury] Ukrainskyi zhurnal nefrolohii ta dializu. 2012. № 4. S. 30-39. (in Ukrainian). 3. Identifikacija kompleksov ceruloplasmina s matriksnymi metaloproteinami 2 i 12 [Identification of complexes of ceruloplasmin with matrix metaloproteins 2 and 12] / A. V. Sokolov i dr. Biohimija. 2009. T. 74, № 1. S. 1703-1708. (in Russian). 4. Metody eksperymentalnoho modelivannia urazhennia nyrok dlia farmakologichnykh doslidzhenn: metodychni rekomendatsii DFU Ukrainy [Methods of experimental modeling of kidney injury for pharmacological research] / S. Iu. Shtryhol ta in. K., 2009. S. 9-10. (in Ukrainian). 5. Nefroprotektornoe dejstvo peptida EDL pri ostrom povrezhdenii pochek razlichnogo geneza [The nephroprotective effect of the EDL peptide in acute renal damage of various origins] / I. I. Zamorskij i dr. Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i medicyny. 2017. T. 163, № 3. S. 376-380. (in Russian). 6. Nychaj A. V. Antyoksydant tseruloplasmin ta pidbir yoho dozy pry hostrii nyrkovii nedostatnosti v eksperymenti [Antioxidant ceruloplasmin and selection of the dose for acute renal failure in the experiment] . Medychna khimiia. 2007. T. 9, № 4. S. 80-81. (in Ukrainian).

ВЛИЯНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА НА ТЕЧЕНИЕ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК

И. И. Заморский, Т. М. Унгурян

Цель работы - изучение влияния церулоплазмина на функцию почек в условиях острого повреждения почек.

Материалы и методы. В эксперименте на белых крысах исследовано влияние церулоплазмина на функцию почек в условиях рабдомиолитического повреждения почек, которое вызывали внутримышечным введением 50 % раствора глицерина.

Результаты. Введение глицерина привело к развитию рабдомиолитического повреждения почек. Профилактическое применение церулоплазмина в течение трех суток способствовало ограничению поражения почек и уменьшению функциональных нарушений. Наблюдалось увеличение диуреза, клубочковой фильтрации, а также уменьшение экскреции белка, фракционной экскреции натрия и калия в сравнении с животными группы патологии.

Выводы. Установлено, что церулоплазмин при профилактическом применении в течение трех дней предотвращает значительное повреждение почек в условиях рабдомиолиза и способствует уменьшению нарушений функции почек.

Ключевые слова: церулоплазмин, острое повреждение почек, функция почек.

THE INFLUENCE OF PROPHYLACTIC USE OF CERULOPLASMIN ON THE COURSE OF ACUTE KIDNEY INJURY*I. I. Zamorskii, T. M. Unguryan*

Abstract. The rhabdomyolytic acute kidney injury (AKI) includes ischemia, renal vasoconstriction, the thrombosis of kidney vessels, tubular obstruction, direct toxic effects of myoglobin, inflammation, oxidative stress. Antioxidants reduce the free radical activity and damage to renal cells. Ceruloplasmin is plasma glucoprotein, it has antioxidant, antihypoxic, antitoxic, radioprotective properties. It transports copper and participates in iron metabolism, stimulates hematopoiesis, immune processes, oxidizes biogenic amines.

Objective - to study the influence of ceruloplasmin on renal function under conditions of rhabdomyolytic acute kidney injury.

Materials and methods. The influence of ceruloplasmin on

renal function under conditions of rhabdomyolytic acute kidney injury was studied in experiment on white rats. Glycerol was administered intramuscularly at dose of 8 ml / kg.

Results. Ceruloplasmin increases diuresis, glomerular filtration rate, and also reduces azotemia, proteinuria and loss of electrolytes.

Conclusions. It has been established that prophylactic use of ceruloplasmin for three days possesses nephroprotective effect and reduces renal dysfunction.

Key words: ceruloplasmin, acute kidney injury, renal function.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Clin. and experim. pathol.-2017.-Vol.16,№2(60),p.2.-P.107-111.

Надійшла до редакції 10.05.2017

Рецензент – проф.Ю.С.Роговий

© I. I. Заморський, Т.М. Унгуриян, 2017
