

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2020-24(3)-02

УДК: 612.466.21:616.379-008.64-085.224.2:577.25

## ОСОБЛИВОСТІ КИСЛОТОВИДІЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ НИРОК ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ НА ТЛІ ФАКМАКОЛОГІЧНОЇ БЛОКАДИ РЕНІН-АНГІОТЕНЗИН-АЛЬДОСТЕРОНОВОЇ СИСТЕМИ

Оленович О. А.

Буковинський державний медичний університет (пл. Театральна, 2, м.Чернівці, Україна, 58002)

Відповідальний за листування:  
e-mail: olenovych.olga@bsmu.edu.ua

Статтю отримано 15 червня 2020 р.; прийнято до друку 20 липня 2020 р.

**Анотація.** Метою роботи було дослідити особливості кислотовидільної функції нирок щурів у динаміці розвитку експериментального цукрового діабету (ЕЦД) на тлі фармакологічної блокади ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС). Дослідження виконані на 78 неплідних статевозрілих самцях білих щурів з 11-, 26- та 46-денним алоксан-індукованим ЕЦД на тлі фармакологічної блокади РААС введенням каптоприлу. Кислотовидільну функцію нирок досліджували за умов водного 2-годинного діурезу за змінами рН сечі, виділенням титрованих кислот (ТК), аміаку й активних іонів водню з розрахунками їх екскреції та індексів співвідношення, перерахунку на 100 мкл клубочкового фільтрату (КФ). Встановлено, що після введення каптоприлу щурам з 11-денним ЕЦД показник рН сечі, екскреція активних іонів водню, виділення аміаку зростали, екскреція ТК зменшувалась, в т.ч. стандартизована за об'ємом КФ, як і стандартизована екскреція амонійних солей. Після введення каптоприлу тваринам з 26-денним ЕЦД зростали рН сечі та екскреція ТК, екскреція амонію та іонів водню зменшувалися, перевищуючи показники контролю. Стандартизовані за КФ зазначені показники змінювалися аналогічно. Після фармакологічної блокади РААС на 46-й день ЕЦД зростали рН сечі, екскреція ТК, в т.ч. стандартизована за КФ, екскреція іонів водню. Екскреція амонійних сполук, в т.ч. стандартизована за КФ, та стандартизована екскреція іонів водню зменшувалися відносно показників контролю. Отже, інтенсифікація кислотовиділення у ранні терміни ЕЦД має системний характер і завдячує клубочковій гіперфільтрації, перевантаженням нефрону кислими продуктами метаболізму за структурної неушкодженості тубулярного апарату нирок. Тривала клубочкова гіперфільтрація, ймовірно, є ініціюючим пошкоджуючим фактором для каналцевого апарату діабетичної нирки, що за 26-денного ЕЦД, незважаючи на високу ефективність ниркових транспортних механізмів кислотовиділення, супроводжується неспроможністю ферментних систем клітин тубулярного епітелію, переважно, проксимальних каналців забезпечити адекватні процеси амоніогенезу. Проксимальна тубулопатія на тлі посилення ацидурії у тварин з 46-денним ЕЦД викликає відносну функціональну недостатність дистального каналцевого апарату.

**Ключові слова:** експериментальний цукровий діабет, алоксан, каптоприл, кислотовидільна функція нирок, ренін-ангіотензин-альдостеронова система.

### Вступ

Участь нирок у кисло-основному гомеостазі вимагає співдружньої роботи багатьох компонентів, результатом якої є підтримка оптимальних значень рН у різних інтрацелюлярних компартментах, нормальна буферна ємність бікарбонатної системи, видалення надлишку протонів, джерелом яких слугують нелеткі кислоти тощо [12].

Як проксимальні, так і дистальні процеси ацидифікації сечі потребують участі низки транспортних протеїнів та обмінників-транспортів, серед яких  $\text{Na}^+/\text{H}^-$ -обмінник (на апікальних мембранах проксимального нефротелію, клітинах товстого висхідного відділу петлі Генле), вакуолярна  $\text{H}^+$ -АТФаза (на апікальних мембранах клітин тубулярного епітелію), люменальна карбоангідраза типу IV (у щітковій облямівці клітин проксимального каналця), цитозольна карбоангідраза типу II,  $\text{Na}^+$ -залежний бікарбонатний  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -котранспортер (на базолатеральних мембранах клітин проксимального каналця і, подекуди, в медулярних відділах петлі Генле),  $\text{K}^+/\text{H}^+$ -АТФаза,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза тощо [2, 12].

Разом з тим, нирковий транспорт кислот та основ забезпечується й складною, багаторівневою гуморальною регуляцією, що реалізується низкою гормонів та біологічно активних речовин, як-от альдостерон, ангіотензин II, вазопресин (АДГ), ендотеліні, калікреїн, ін. Так, альдостерон виявляє прямий вплив на секрецію катіонів водню через транскрипційні/трансляційні шляхи утворення низки протеїнів-транспортів [2, 13], а також, стимулюючи реабсорбцію іонів натрію, полегшує секрецію позитивно заряджених протонів [13]. У свою чергу, ангіотензин II (Ang II) розглядають як потенційного активатора реабсорбції бікарбонату та секреції протонів у нефроні, цільовими транспортерами для якого вважають  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -котранспортер,  $\text{Na}^+/\text{H}^-$ -обмінники у проксимальних каналцях та вакуолярну  $\text{H}^+$ -АТФазу у проксимальних, дистальному звивистому каналцях і в усіх вставних клітинах кортикальних збиральних трубок [13, 17]. Вищевикладене визначає беззаперечний регуляторний вплив РААС на кислоторегуляторну функцію нирок та обмовлює необхідність дослідження його

наслідків на розвиток ренопатій на тлі різноманітних захворювань. Особливої уваги заслуговують дисметаболічні розлади, системні прояви яких пов'язані з порушенням кислотно-лужної рівноваги в організмі, надмірним кислотним навантаженням на нирки, як-от цукровий діабет. Формування ренопатії за цукрового діабету та розвиток діабетичної хвороби нирок (ДХН) є безперервно прогресуючим мультифакторним процесом, серед патогенетичних чинників якого метаболічний і гемодинамічний посідають провідне місце [8]. Незважаючи на чисельні наукові відомості щодо патогенетичної ролі РААС у прогресуванні ДХН [1, 8], рівень та характер залучення РААС на окремих стадіях розвитку ДХН все ще вимагає деталізації.

**Мета** роботи - дослідити особливості кислотовидільної функції нирок щурів при експериментальному алоксан-індукованому цукровому діабеті на тлі фармакологічної блокади РААС.

### Матеріали та методи

Дослідження проведені на 78 статевозрілих нелінійних самцях білих щурів, масою 0,18-0,20 кг, яких утримували за ідентичних стандартних умов віварію. Експериментальний цукровий діабет (ЕЦД) моделювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення 48 тваринам розчину алоксану (Alloxan monohydrate, "Acros Organics", Бельгія) у дозі 160 мг/кг маси тіла після попередньої 12-годинної депривації їжі при збереженому доступі до води. Через 10, 25 та 45 діб після введення діабетогенної речовини щурів виводили з експерименту (група 1). Фармакологічну блокаду РААС викликали внутрішньоочеревинним введенням водного розчину інгібітора ангіотензин-перетворюючого ферменту каптоприлу (Картоприл, КРКА, Словенія) у дозі 10 мг/кг маси тіла 24-м алоксан-діабетичним щурам (група 2) на 11-й, 26-й та 46-й день експерименту (по 8 тварин у кожній підгрупі). Через 2 години після введення іАПФ всім щурам з алоксановим діабетом відповідної тривалості, а також 30-ти контрольним тваринам (по 10 у кожній на кожній стадії експерименту), проводили навантаження водогінною водою в об'ємі 5% маси тіла, сечу збирали упродовж 2 годин, після чого тварин виводили з експерименту. У пробах крові, відібраній в момент еutanазії тварин, визначали рівень глюкози та враховували в подальшому лише показники щурів зі стійкою гіперглікемією, що сягала понад 7,0 ммоль/л.

Подальший аналіз проб сечі дозволив оцінити кислотовидільну функцію нирок кліренс-методом за змінами рН сечі, виділенням титрованих кислот, аміаку й активних іонів водню з розрахунками їх екскреції та індексів співвідношення [3, 6, 9]. рН сечі визначали на мікробіоаналізаторі "Redelkys" (Угорщина), дослідження вмісту в сечі титрованих кислот та аміаку проводили титрометрично [6], за їх сумою судили про рівень екскреції іонів водню, а за їх співвідношенням (амонійним коефіцієнтом) - про функцію амоніогенезу [3, 9]. Для стандарти-

зації показників функціонального стану нирок абсолютні їх величини перераховували на 100 мкл клубочкового фільтрату (КФ).

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали із визначенням середньої величини, стандартних відхилень. Для оцінки вірогідності різниці між досліджуваними групами застосовували непараметричний ранговий критерій Манна-Уїтні за алгоритмами, що реалізовані в комп'ютерній програмі "Statistica for Windows", "Version 8.0" [5].

Дослідження проводили із дотриманням положень Директиви ЄЕС №609 (1986) та наказу МОЗ України №690 від 23.09.2009 р. "Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин".

### Результати. Обговорення

Аналіз кислотовидільної функції нирок за умов 11-денного алоксан-індукованого ЕЦД виявив інтенсифікацію ацидо- та амоніогенезу: екскреція титрованих кислот та амонійних сполук перевищували контрольні показники (на 49,3% та 29,1% відповідно), проте в перерахунку на об'єм КФ зазначені параметри ниркового кислотовиділення достовірно не відрізнялись від показників контролю, так само як і амонійний коефіцієнт (табл. 1). Водночас, екскреція активних іонів водню зростала на 16,0%, однак стандартизована за об'ємом КФ виявилася на 16,4% меншою, ніж у щурів контрольної групи. Недостовірно зменшувався (на 1,5%) показник рН сечі.

Удавана інтенсифікація кислотовиділення у ранні терміни ЕЦД, ймовірно, завдячує клубочковій гіперфільтрації, встановленій нами для алоксан-індукованого ЕЦД цієї тривалості, коли гіпердинамічна гіперперфузія супроводжується зростанням фільтраційного навантаження нефрону [11]. Феномен перевантаження транспортних систем стосується як проксимальних, так і дистальних каналців і не реалізується за приведення показників кислотовиділення та амоніогенезу до одиниці діючих нефронів, що можливо лише за структурної неушкодженості тубулярного апарату. Підвищення інтенсивності виділення протонів на тлі незмінної кислотності сечі підтверджує висловлене припущення, адже не змінюється при стандартизації за об'ємом КФ.

Після введення каптоприлу алоксан-діабетичним щурам з 11-денним ЕЦД показник рН сечі на 13,5% перевищував зазначений параметр у групі 1 та на 11,7% - у групі контролю, а екскреція активних іонів водню зростала відповідно у 1,5 та 1,8 рази. При цьому, зменшена на 43,3% у порівнянні з рівнем алоксан-діабетичних тварин групи 1 екскреція титрованих кислот при стандартизації за об'ємом КФ виявилася у 2,7 раза меншою за рівень у щурів групи 1 та у 2,6 раза - за показник інтактних щурів.

Виділення аміаку зростало на 15,4% на тлі фармакологічної блокади РААС, перевищуючи значення відповідного показника групи контролю на 49,2%. Тим не

**Таблиця 1.** Характеристика кислотовидільної діяльності нирок у щурів з 11-денним алоксан-індукованим експериментальним діабетом за умов фармакологічної блокади РААС ( $X \pm Sx$ ).

Показник	Контроль, n=10	Група, кількість тварин	
		11-денний алоксановий діабет (група 1), n=8	11-денний алоксановий діабет + <b>каптоприл</b> (група 2), n=8
Екскреція титрованих кислот, мкмоль за 2 год.	42,32 $\pm$ 3,09	63,19 $\pm$ 6,42*	35,84 $\pm$ 5,76#
Стандартизована екскреція титрованих кислот, мкмоль/100 мкл КФ	12,02 $\pm$ 0,82	12,72 $\pm$ 1,57	4,68 $\pm$ 0,51**
Екскреція амонійних сполук, мкмоль за 2 год.	63,38 $\pm$ 3,66	81,83 $\pm$ 8,37	94,45 $\pm$ 3,63*
Стандартизована екскреція амонійних сполук, мкмоль/100мкл клубочкового фільтрату	18,03 $\pm$ 0,92	16,67 $\pm$ 2,18	12,94 $\pm$ 0,91*
Амонійний коефіцієнт, од.	1,52 $\pm$ 0,04	1,40 $\pm$ 0,18	3,06 $\pm$ 0,44**
Екскреція активних іонів водню, нмоль за 2 год.	2,38 $\pm$ 0,12	2,76 $\pm$ 0,13*	4,23 $\pm$ 0,37**
Стандартизована екскреція активних іонів водню, нмоль/100 мкл КФ	0,67 $\pm$ 0,02	0,56 $\pm$ 0,05	0,59 $\pm$ 0,07
pH сечі	6,49 $\pm$ 0,20	6,39 $\pm$ 0,15	7,25 $\pm$ 0,15**

**Примітки:** оцінку міжгрупових відмінностей здійснювали за допомогою непараметричного критерію Мана-Уїтні; \* - вірогідність розбіжності показників відносно контролю,  $p < 0,05$ ; # - вірогідність розбіжності показників з групою 1,  $p < 0,05$ .

**Таблиця 2.** Характеристика кислотовидільної діяльності нирок у щурів з 26-денним алоксан-індукованим експериментальним діабетом за умов фармакологічної блокади РААС ( $X \pm Sx$ ).

Показник	Контроль, n=10	Група, кількість тварин	
		26-денний алоксановий діабет (група 1), n=8	26-денний алоксановий діабет + <b>каптоприл</b> (група 2), n=8
Екскреція титрованих кислот, мкмоль за 2 год.	50,15 $\pm$ 2,73	92,41 $\pm$ 9,07*	96,54 $\pm$ 2,40*
Стандартизована екскреція титрованих кислот, мкмоль/100 мкл КФ	11,95 $\pm$ 0,61	5,15 $\pm$ 0,51*	6,41 $\pm$ 0,24*
Екскреція амонійних сполук, мкмоль за 2 год.	67,35 $\pm$ 3,58	175,83 $\pm$ 11,71*	104,73 $\pm$ 7,99**
Стандартизована екскреція амонійних сполук, мкмоль/100мкл клубочкового фільтрату	16,15 $\pm$ 0,89	9,72 $\pm$ 0,47*	6,91 $\pm$ 0,48**
Амонійний коефіцієнт, од.	1,37 $\pm$ 0,08	2,03 $\pm$ 0,24*	1,10 $\pm$ 0,10**
Екскреція активних іонів водню, нмоль за 2 год.	2,63 $\pm$ 0,09	3,47 $\pm$ 0,16*	3,42 $\pm$ 0,10*
Стандартизована екскреція активних іонів водню, нмоль/100 мкл КФ	0,63 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,01*	0,23 $\pm$ 0,01**
pH сечі	5,89 $\pm$ 0,05	8,07 $\pm$ 0,08*	8,29 $\pm$ 0,12**

**Примітки:** оцінку міжгрупових відмінностей здійснювали за допомогою непараметричного критерію Мана-Уїтні; \* - вірогідність розбіжності показників відносно контролю,  $p < 0,05$ ; # - вірогідність розбіжності показників з групою 1,  $p < 0,05$ .

менш, за стандартизації екскреції амонійних солей за об'ємом КФ вона виявилася на 22,4% меншою за показник алоксан-діабетичних щурів групи 1 та на 28,2% нижчою за контрольний рівень. Під впливом каптоприлу показник кислотно-лужного балансу - амонійний коефіцієнт - у 2,2 рази зростав відносно рівня алоксан-діабетичних щурів групи 1, удвічі перевищуючи його значення в інтактних щурів.

За фармакологічної блокади РААС закономірно було б очікувати пригнічення екскреції протонів, яка, натомість, достовірно зростала у тварин цієї експериментальної серії. За пригнічення прямого впливу компонентів РААС на секрецію іонів водню, така реакція нирок щурів з 11-денним ЕЦД на введення каптоприлу дозволяє припустити причетність інших механізмів до регуляції кислотно-лужної рівноваги на цій стадії експерименту.

Відомо, що кількість секретованих  $H^+$  визначається сумою реабсорбції  $HCO_3^-$  та екскреції амонію та кислот [6]. Виділення титрованих кислот ознака дистальних процесів ацидифікації сечі [2]. Саме там відбувається секреція протонів, яка полегшується аніонними залишками низки неметаболізованих, нелетких, сильних кислот, переважно, неорганічних (сірчаної, соляної, фосфорної), джерелом яких є метаболізм білків та фосфоліпідів [2]. "Протонування" титрованих кислот і, відтак, їх нейтралізація, за нормальних умов складає 1/3 процесів ацидифікації, тоді як решта 2/3 завдячують амоніогенезу [7]. Термін "амоніогенез" найчастіше об'єднує два поняття: утворення амонію в основному епітелії проксимальних каналців (власне амоніогенез) та транспорт амонію ( $NH_4^+$ ) та аміаку ( $NH_3$ ) в каналцевих клітинах різних відділів нефрону. Утворення амонію відбувається у проксимальному нефротелії (до 50%) [4,

**Таблиця 3.** Характеристика кислотовидільної діяльності нирок у щурів з 46-денним алоксан-індукованим експериментальним діабетом за умов фармакологічної блокади РААС ( $X \pm Sx$ ).

Показник	Контроль, n=10	Група, кількість тварин	
		46-денний алоксановий діабет (група 1), n=8	46-денний алоксановий діабет + <b>каптоприл</b> (група 2), n=8
Екскреція титрованих кислот, мкмоль за 2 год.	40,57 $\pm$ 3,02	134,58 $\pm$ 18,63*	253,99 $\pm$ 7,01**
Стандартизована екскреція титрованих кислот, мкмоль/100 мкл КФ	10,42 $\pm$ 1,29	10,88 $\pm$ 1,22	25,99 $\pm$ 1,47**
Екскреція амонійних сполук, мкмоль за 2 год.	69,43 $\pm$ 4,22	324,34 $\pm$ 23,76*	86,12 $\pm$ 5,68**
Стандартизована екскреція амонійних сполук, мкмоль/100мкл клубочкового фільтрату	17,15 $\pm$ 1,24	26,88 $\pm$ 3,06*	8,89 $\pm$ 0,89**
Амонійний коефіцієнт, од.	1,75 $\pm$ 0,10	2,69 $\pm$ 0,38*	0,34 $\pm$ 0,02**
Екскреція активних іонів водню, нмоль за 2 год.	2,76 $\pm$ 0,18	2,99 $\pm$ 0,10	2,95 $\pm$ 0,24
Стандартизована екскреція активних іонів водню, нмоль/100 мкл КФ	0,67 $\pm$ 0,03	0,25 $\pm$ 0,02*	0,31 $\pm$ 0,04*
pH сечі	6,94 $\pm$ 0,07	6,79 $\pm$ 0,10	7,69 $\pm$ 0,12**

**Примітки:** оцінку міжгрупових відмінностей здійснювали за допомогою непараметричного критерію Мана-Уїтні; \* - вірогідність розбіжності показників відносно контролю,  $p < 0,05$ ; # - вірогідність розбіжності показників з групою 1,  $p < 0,05$ .

14, 15, 16], переважно, з глютаміну та, можливо, у невеликій кількості, з аланіну [2, 14, 15, 16]. Вироблений клітиною шляхом дезамінування амінокислот аміак секретується до просвіту каналця, де набуває іон водню  $H^+$ , перетворюючись на амоній  $NH_4^+$ , не здатний дифундувати назад до клітини. Амоній використовується в якості основи для нейтралізації сильних нелетких кислот (він заміщує аналогічного заряду катіон і перетворює кислий радикал на нейтральну амонійну сіль, забезпечуючи при цьому можливість реабсорбції відповідного катіона) [7, 14, 15, 16].

Факт достовірного пригнічення екскреції амінію кожним окремим нефроном, ймовірно, слугує ознакою того, що не амоніогенез, а інтенсифікація каналцевого транспорту амонію відповідальна за виявлене під впливом каптоприлу зростання амонійного коефіцієнту. Підвищення швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) за пригнічення обмежувальних впливів РААС на тонус *vas efferens* спричиняє підвищене навантаження на тубулоцити, пов'язане з необхідністю посиленої реабсорбції компонентів надмірної кількості ультрафільтрату, в т.ч. білків. Перевантаження реабсорбційного потенціалу проксимальних каналців, можливо, стосується й пригнічення проксимальної реабсорбції бікарбонату, що профільтрувався із системного кровоплину (80-90% його реабсорбції відбувається у проксимальному каналці [6]), викликаючи залужування внутрішньоканальцевої рідини та зростання pH сечі.

Водночас, скерування ультрафільтрату з високим вмістом амонію і бікарбонату до товстого висхідного відділу петлі Генле потребує максимальної потужності апікального  $Na^+, K^+, 2Cl^-$ -котранспортера, здатного транспортувати всередину клітини  $NH_4^+$  замість  $K^+$  [15, 16]. Обмеження калійуричної реакції нирок щурів з 11-денним ЕЦД на введення каптоприлу може долучатися до інтенсифікації виділення амонію, засвідчуючи, між тим, структурну неушкодженість каналцевого відділу

нефрону на цій стадії експерименту та підкреслюючи ренопротекторний вплив РААС. Зниження екскреції титрованих кислот після введення каптоприлу, в т.ч. за приведення показника до одиниці діючих нефронів, виключає причетність дистальних механізмів ацидифікації сечі до надмірної протонурії.

Через 26 днів після відтворення моделі алоксанового діабету у щурів кислоторегулювальна функція нирок характеризувалась підвищенням на 37,0% pH сечі (табл. 2). Параметри кислотовиділення за 26-денного алоксанового ЕЦД достовірно перевищували відповідні показники щурів контрольної групи: екскреція титрованих кислот зростала на 84,3%, екскреція амонійних сполук - у 2,6 рази з підвищенням на 48,2% амонійного коефіцієнту; екскреція активних іонів водню збільшувалася на 31,9%. Однак, їх стандартизація за об'ємом КФ виявила достовірне зменшення всіх зазначених складників кислотовидільної функції: стандартизована екскреція титрованих кислот була у 2,3 рази меншою за контроль, стандартизована екскреція амонійних сполук - у 1,7 рази, а стандартизована екскреція активних іонів водню - у 3,3 рази.

Результати дослідження змін кислоторегулювальної функції нирок тварин з 26-денним ЕЦД після введення каптоприлу демонструють підвищення на 2,7% pH сечі. Зменшення на 45,8% амонійного коефіцієнту відбувається, переважно, через значне пригнічення процесів виділення аміаку (на 40,4%), адже екскреція титрованих кислот збільшувалась. Водночас, стандартизація зазначених показників кислотно-лужного балансу за КФ виявила аналогічну тенденцію: екскреція аміаку під впливом каптоприлу достовірно зменшувалась (на 28,9%), тоді як екскреція титрованих кислот - зростала на 24,5%, причому обидва параметра залишалися достовірно меншими за контрольні значення (відповідно у 2,3 та 1,9 рази). Уведення алоксан-діабетичним щурам каптоприлу практично не змінило інтенсивності екск-

реції вільних іонів водню, однак при перерахунку показника на 100 мкл КФ встановлено її достовірне зростання (на 21,1%) у порівнянні з алоксан-діабетичними тваринами групи 1.

Інтенсифікація всіх параметрів кислотовиділення на 26-й день експерименту пов'язана, ймовірно, зі збільшенням ШКФ й фільтраційного завантаження нефрону. За таких умов нирки працюють у активному адаптивному режимі із залученням максимального резервного потенціалу у відповідь на обмінні процеси, які відбуваються в організмі на тлі алоксан-індукованої гіперглікемії, для виведення кислих продуктів обміну речовин та ефективне очищення позаклітинної рідини. Зазначене припущення підтверджується виявленими на тлі фармакологічної блокади РААС змінами кислотовиділення, особливо посиленням екскреції титрованих кислот, в т.ч. стандартизованої за об'ємом КФ, що засвідчує високу ефективність ниркових транспортних механізмів видалення небажаних для організму кислих продуктів обміну речовин. Можливо, й через надмірне надходження бікарбонату, коли за збільшення рН канальцевої рідини зростає ступінь іонізації кислот, більша їх кількість екскретується з сечею [4].

Тривала гіперфільтрація із залученням максимальної кількості дієвих нефронів, переводить їх у несприятливий режим функціонування на межі функціональних можливостей з надлишковим навантаженням на тубулярні відділи, виснаження яких супроводжується неспроможністю ферментних систем клітин тубулярного епітелію забезпечити адекватні процеси кислотовиділення кожним окремим нефроном. Так, введення каптоприлу виявило достовірне обмеження екскреції амонію, а оскільки подібні зміни зберігаються і за введення показника екскреції до одиниці діючих нефронів, можемо припустити, що порушуються процеси власне амоніогенезу, котрі, як відомо, відбуваються у мітохондріях, переважно, проксимального нефротелію [2], що засвідчує відносну функціональну недостатність останнього за 26-денного ЕЦД.

Кислотовидільна функція нирок на 46-й день експериментальної індукції у щурів алоксанового діабету характеризувалась недостовірним зниженням рН сечі, зростанням екскреції титрованих кислот та амонійних солей у 3,3 та 4,7 рази відповідно (табл. 3). Разом з тим, стандартизація зазначених параметрів кислотовиділення за об'ємом КФ виявила переважне зростання екскреції сполук амонію (на 56,7%) та незначне (на 4,4%) - титрованих кислот. Практично незмінна екскреція іонів водню у тварин цієї групи реалізувалася у протилежно направлені зміни при перерахунку на 100 мкл КФ - була у 2,7 раза меншою за відповідний показник інтактних тварин.

Після фармакологічної блокади РААС каптоприлом кислотовидільна функція нирок щурів з 46-денним алоксановим діабетом характеризувалась достовірним підвищенням рН сечі як відносно відповідного показни-

ка алоксан-діабетичних щурів групи 1 (на 13,3%), так і щодо рівня інтактних тварин (на 10,8%). Рівень рН підтримувався за рахунок збільшення в 1,9 рази екскреції титрованих кислот на тлі впливу каптоприлу, тоді як показник екскреції аміаку знижувався (у 3,8 раза). Вказані зміни засвідчували переважання ацидогенезу над амоніогенезом за фармакологічної блокади РААС і відобразились на істотному зменшенні (у 7,9 рази) амонійного коефіцієнта, а також підтверджувались аналогічними змінами за перерахунку зазначених показників на 100 мкл КФ - відповідно, збільшенням у 2,4 рази стандартизованої екскреції титрованих кислот та суттєвим зменшенням у 3,0 рази - стандартизованої екскреції амонійних солей. Водночас, екскреція протонів за дії каптоприлу статистично достовірних змін не зазнавала, за винятком її значення при стандартизації за об'ємом КФ, коли вона залишалась у 2,2 раза нижчою за контроль.

Аналіз виявлених на 46-й день експерименту змін кислотовиділення дозволяє припустити порушення як проксимальних, так і дистальних механізмів ацидифікації сечі. Причому, інтенсифікація ацидурії у тварин цієї експериментальної серії може свідчити про перевантаження транспортних систем через надмірну фільтрацію кислотних залишків і викликати відносну функціональну недостатність дистального канальцевого апарату. Водночас, закислення внутрішньоканальцевої рідини посилює процеси секреції аміаку до просвіту канальця [4]. На тлі компенсаторної гіперфункціональної діяльності залишкових нефронів це створює враження посиленого амоніогенезу у щурів з 46-денним ЕЦД. Лише за блокади вазоконстрикторних впливів РААС каптоприлом, коли покращення перфузії бездіяльних клубочків призводить до зниження навантаження на гіперфункціонуючі нефрони, прояви тубулопатії стають більш виразними - стандартизована за об'ємом КФ екскреція амонійних сполук виявляється значно пригніченою.

Достовірне зменшення екскреції іонів водню на 46-й день експерименту може бути наслідком їх використання для протонування і нейтралізації надмірної кількості титрованих кислот та аміаку. Крім того, слід взяти до уваги й те, що для видалення іонів водню використовується механізм контртранспорту за рахунок входження іонів натрію до клітини з просвіту канальця [4]. Встановлена нами інтенсифікація натрійурезу на тлі цукрового діабету [10], що значно посилюється за фармакологічної блокади РААС у щурів з 46-денним ЕЦД, може вказувати на порушення натрій-залежних механізмів ацидифікації сечі на цій стадії експерименту, а також на зрив регуляторного впливу РААС.

## Висновки та перспективи подальших розробок

1. Ниркові механізми кислотовиділення у щурів з алоксан-індукованим ЕЦД працюють у активному адаптивному режимі із залученням максимального резерв-

ного потенціалу у відповідь на обмінні процеси, індуковані гіперглікемією, що підкреслює важливу роль нирок у підтримці кислотно-лужної рівноваги за цукрового діабету. Інтенсифікація кислотовиділення у ранні терміни ЕЦД має системний характер і завдячує клубочковій гіперфільтрації, переважанню нефрону кислими продуктами метаболізму за структурної неушкодженості тубулярного апарату нирок.

2. Тривала клубочкова гіперфільтрація, ймовірно, є ініціюючим пошкоджуючим фактором для каналцевого апарату діабетичної нирки, що за 26-денного ЕЦД,

незважаючи на високу ефективність ниркових транспортних механізмів кислотовиділення, супроводжується неспроможністю ферментних систем клітин тубулярного епітелію, переважно, проксимальних каналців забезпечити адекватні процеси амоніогенезу. Проксимальна тубулопатія на тлі посилення ацидурії у тварин з 46-денним ЕЦД викликає відносну функціональну недостатність дистального каналцевого апарату.

Окремі уваги заслуговують натрій-залежні механізми ацидифікації сечі на різних термінах алоксан-індукованого діабету.

## Список посилань

1. Денисенко, В. П. (2010). Вміст альдостерону у хворих на діабетичну нефропатію з артеріальною гіпертензією. *Український терапевтичний журнал*, 2, 51-54. Взято з [http://www.vitalpol.com.ua/user\\_files/pdfs/utj/17049613921586\\_20092010112301.pdf](http://www.vitalpol.com.ua/user_files/pdfs/utj/17049613921586_20092010112301.pdf)
2. Каюков, И. Г., Добронравов, В. А., Кучер, А. Г., Есаян, А. М., & Смирнов, А. В. (2013). Почечные тубулярные ацидозы в практике "Взрослого" нефролога. Сообщение I. Роль почек в регуляции кислотно-основного гомеостаза. *Нефрология*, 17 (1), 20-41. Взято с <https://cyberleninka.ru/article/n/pochechnye-tubulyarnye-atsidozy-v-praktike-vzroslogo-nefrologa-soobschenie-1-rol-pochek-v-regulyatsii-kislотно-osnovnogo-gomeostaza>
3. Магальяс, В. М., Міхеев, А. О., Роговий, Ю. Є., Щербініна, А. В., Турчинець, Т. Г., & Чіпко, Т. М. (2001). *Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії*. Навчально-методичний посібник. Чернівці: Буковинська державна медична академія.
4. Наточин, Ю. В. (1982). *Основы физиологии почки*. Л.: Медицина.
5. Реброва, О. Ю. (2002). *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA*. М.: МедиаСфера.
6. Рябов, С. И., & Наточин, Ю. В. (1997). *Функциональная нефрология*. СПб.: Лань.
7. Храйчик, Д. Е., Седор, Дж. Р., & Ганц, М. Б. (2001). *Секреты нефрологии*. СПб.: "БИНОМ" - "Невский Диалект". ISBN 5-7940-0075-9
8. Шестакова, М. В. (2010). Роль тканевой ренин-ангиотензин-альдостероновой системы в развитии метаболического синдрома, сахарного диабета и его сосудистых осложнений (пленарная лекция). *Сахарный диабет*, 3, 14-19. Взято с <https://www.dia-endojournals.ru/jour/article/viewFile/5481/3279>
9. Шюк, О. (1981). *Функциональное исследование почек*. Прага: Авицелум.
10. Boychuk, T. M., Olenovych, O. A., & Gozhenko, A. I. (2016). Peculiarities of ionoregulatory renal function disorder in case of diabetes mellitus. *Pharmacologyonline*, 3, 1-5. Retrieved from <http://dspace.bsmu.edu.ua:8080/xmlui/handle/123456789/13523>
11. Boychuk, T. M., Olenovych, O. A., & Gozhenko, A. I. (2018). Peculiarities of excretory renal function in the early period of alloxan-induced experimental diabetes. *Вісник морської медицини*, 3 (80), 102-109. doi: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1450849>
12. Brown, D., Carsten, A. & Wagner, C. A. (2012). Molecular Mechanisms of Acid-Base Sensing by the Kidney. *Journal of the American Society of Nephrology*, 23, 774-780. doi: 10.1681/ASN.2012010029
13. Nagami, G. T., & Kraut, J. A. (2010). Acid-base regulation of

angiotensin receptors in the kidney. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 19, 91-97. doi:10.1097/MNH.0b013e32833289fd

14. Weiner, D. I., & Verlander, J. W. (2011). Role of NH<sub>3</sub> and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> transporters in renal acid-base transport. *American Journal of Physiology: Renal Physiology*, 300, F11-F23. doi:10.1152/ajprenal.00554.2010
15. Weiner, D. I., & Verlander, J. W. (2013). Renal Ammonia Metabolism and Transport. *Comprehensive Physiology*, 3 (1), 201-220. doi:10.1002/cphy.c120010
16. Weiner, D. I., & Verlander, J. W. (2019). Emerging Features of Ammonia Metabolism and Transport in Acid-Base Balance. *Seminars in Nephrology*, 39 (4), 394-405. doi:10.1016/j.semnephrol.2019.04.008
17. Yamazaki, O., Ishizawa, K., Hirohama, D., Fujita, T., & Shibata, S. (2018). Electrolyte transport in the renal collecting duct and its regulation by the renin-angiotensin-aldosterone system. *Clinical Science*, 133, 75-82. <https://doi.org/10.1042/CS20180194>

## References

1. Denysenko, V. P. (2010). Vmist aldosteronu u khvorykh na diabetichnu nefropatiiu z arterialnoiu hipertenziiu [Aldosterone levels in the patients with diabetic nephropathy and arterial hypertension]. *Ukrainskyi terapevtychnyi zhurnal - Ukrainian Therapeutical Journal*, 2, 51-54. Vziato z [http://www.vitalpol.com.ua/user\\_files/pdfs/utj/17049613921586\\_20092010112301.pdf](http://www.vitalpol.com.ua/user_files/pdfs/utj/17049613921586_20092010112301.pdf)
2. Kayukov, I. G., Dobronravov, V. A., Kucher, A. G., Esayan, A. M., & Smirnov, A. V. (2013). Pochechnye tubulyarnye atsidozy v praktike "Vzroslogo" nefrologa. Soobshchenie I. Rol' pochek v regulyatsii kislотно-osnovnogo gomeostaza [Renal tubular acidosis in practice of "adult" nephrologist. Communication I. Kidneys role in acid base homeostasis regulation]. *Nefrologiya - Nephrology*, 17 (1), 20-41. Vzyato s <https://cyberleninka.ru/article/n/pochechnye-tubulyarnye-atsidozy-v-praktike-vzroslogo-nefrologa-soobschenie-1-rol-pochek-v-regulyatsii-kislотно-osnovnogo-gomeostaza>
3. Mahalias, V. M., Mikhieiev, A. O., Rohovyi, Yu. Ye., Shcherbinina, A. V., Turchynets, T. H., & Chipko, T. M. (2001). *Suchasni metodiki eksperimental'nikh ta klinichnikh doslidzhen' tsentral'noi naukovо-doslidnoi laboratorii Bukovins'koї derzhavnoi medichnoi akademii [Modern methods of experimental and clinical studies of the central research laboratory of Bukovinian State Medical Academy]*. Navchal'no-metodichnyi posibnik. - Chernivtsi: Bukovins'ka derzhavna medichna akademiya.
4. Natochin, Yu. V. (1982). *Osnovy fiziologii pochki [Fundamentals of Kidney Physiology]*. L.: Meditsina.
5. Rebrova, O. Yu. (2002). *Statisticheskiy analiz meditsinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA [Statistical analysis of medical data. Application*

- of the STATISTICA software package]. M.: MediaSfera.
6. Ryabov, S. I., Natchin, Yu. V. (1997). Funktsional'naya nefrologiya [Functional Nephrology]. Spb.: Lan'.
  7. Khraychik, D. E., Sedor, Dzh. R., & Gants, M. B. (2001). *Sekrety nefrologii [Nephrology Secrets]*. Spb.: "Izdatel'stvo BINOM" - "Nevskiy Dialekt". ISBN 5-7940-0075-9
  8. Shestakova, M. V. (2010). Rol' tkanevoy renin-angiotenzin-aldosteronovoy sistemy v razvitiy metabolicheskogo sindroma, sakharnogo diabeta i ego sosudistikh oslozheniy (plenamaya lektsiya) [The role of the tissue renin-angiotensin-aldosterone system in the development of metabolic syndrome, diabetes mellitus and its vascular complications (plenary lecture)]. *Sakharnyy diabet - Diabetes Mellitus*, 3, 14-19. Vzyato s <https://www.dia-endojournals.ru/jour/article/viewFile/5481/3279>
  9. Shyuk, O. (1981). Funktsional'noe issledovanie pohek [Examination of kidney function]. Praga: Avitsenum.
  10. Boychuk, T. M., Olenovych, O. A., & Gozhenko, A. I. (2016). Peculiarities of ionoregulatory renal function disorder in case of diabetes mellitus. *Pharmacologyonline*, 3, 1-5. Retrieved from <http://dSPACE.bsmu.edu.ua:8080/xmlui/handle/123456789/13523>
  11. Boychuk, T. M., Olenovych, O. A., & Gozhenko, A. I. (2018). Peculiarities of excretory renal function in the early period of alloxan-induced experimental diabetes. *Visnyk morskoi medytsyny - Bulletin of Marine Medicine*, 3 (80), 102-109. doi: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1450849>
  12. Brown, D., Carsten, A. & Wagner, C. A. (2012). Molecular Mechanisms of Acid-Base Sensing by the Kidney. *Journal of the American Society of Nephrology*, 23, 774-780. doi: 10.1681/ASN.2012010029
  13. Nagami, G. T., & Kraut, J. A. (2010). Acid-base regulation of angiotensin receptors in the kidney. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 19, 91-97. doi:10.1097/MNH.0b013e32833289fd
  14. Weiner, D. I., & Verlander, J. W. (2011). Role of NH<sub>3</sub> and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> transporters in renal acid-base transport. *American Journal of Physiology: Renal Physiology*, 300, F11-F23. doi:10.1152/ajprenal.00554.2010
  15. Weiner, D. I., & Verlander, J. W. (2013). Renal Ammonia Metabolism and Transport. *Comprehensive Physiology*, 3 (1), 201-220. doi:10.1002/cphy.c120010
  16. Weiner, D. I., & Verlander, J. W. (2019). Emerging Features of Ammonia Metabolism and Transport in Acid-Base Balance. *Seminars in Nephrology*, 39 (4), 394-405. doi:10.1016/j.semnephrol.2019.04.008
  17. Yamazaki, O., Ishizawa, K., Hirohama, D., Fujita, T., & Shibata, S. (2018). Electrolyte transport in the renal collecting duct and its regulation by the renin-angiotensin-aldosterone system. *Clinical Science*, 133, 75-82. <https://doi.org/10.1042/CS20180194>

#### ОСОБЕННОСТИ КИСЛОТОВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕК КРЫС В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА НА ФОНЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЛОКАДЫ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИН-АЛЬДОСТЕРОНОВОЙ СИСТЕМЫ

Оленович О. А.

**Аннотация.** Целью работы было исследовать особенности кислотовыделительной функции почек крыс в динамике развития экспериментального сахарного диабета (ЭСД) на фоне фармакологической блокады ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). Исследования выполнены на 78 нелинейных половозрелых самцах белых крыс с 11-, 26- и 46-дневным аллоксан-индуцированным ЭСД на фоне фармакологической блокады РААС введением каптоприла. Кислотовыделительную функцию почек изучали в условиях водного 2-часового диуреза по изменениям pH мочи, выделению титруемых кислот (ТК), аммиака и активных ионов водорода с расчетом их экскреции и индексов соотношения, пересчетом на 100 мкл клубочкового фильтрата (КФ). Установлено, что после введения каптоприла крысам с 11-дневным ЭСД показатели pH мочи, экскреция активных ионов водорода, выделение аммиака возрастали, экскреция ТК уменьшалась, в т.ч. стандартизированная по объему КФ, как и стандартизированная экскреция аммонийных солей. После введения каптоприла животным с 26-дневным ЭСД возрастали pH мочи и экскреция ТК, экскреция аммония и ионов водорода уменьшались, превышая показатели контроля. Стандартизированные по КФ указанные показатели изменялись аналогично. После фармакологической блокады РААС на 46-й день ЭСД увеличивались pH мочи, экскреция ТК, в т.ч. стандартизированная по КФ, экскреция ионов водорода. Экскреция аммонийных соединений, в т.ч. стандартизированная по КФ, и стандартизированная экскреция ионов водорода уменьшались относительно показателей контроля. Таким образом, интенсификация кислотовыделения в ранние сроки ЭСД имеет системный характер и является следствием клубочковой гиперfiltrации, перегрузки нефрона кислыми продуктами метаболизма при структурной сохранности тубулярного аппарата почек. Длительная клубочковая гиперfiltrация, вероятно, является иницирующим повреждающим фактором для канальцевого аппарата диабетической почки, что при 26-дневном ЭСД, несмотря на высокую эффективность почечных транспортных механизмов кислотовыделения, сопровождается неспособностью ферментных систем клеток тубулярного эпителия, преимущественно, проксимальных канальцев обеспечить адекватные процессы аммионогенеза. Проксимальная тубулопатия на фоне ускорения ацидурии у животных с 46-дневным ЭСД вызывает относительную функциональную недостаточность дистального канальцевого аппарата.

**Ключевые слова:** экспериментальный сахарный диабет, аллоксан, каптоприл, кислотовыделительная функция почек, ренин-ангиотензин-альдостероновая система.

#### PECULIARITIES OF ACID-RELEASING RENAL FUNCTION OF RATS IN THE DYNAMICS OF EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS WITH UNDERLYING PHARMACOLOGICAL BLOCKADE OF RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERONE SYSTEM

Olenovych O. A.

**Annotation.** The aim of the study was to explore the peculiarities of acid-releasing renal function of rats in the dynamics of alloxan-induced experimental diabetes mellitus (EDM) with underlying pharmacological blockade of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS). The experiments were carried out on 78 white non-linear mature male rats with 11-, 26- and 46-day long alloxan-induced EDM with underlying pharmacological blockade of RAAS by administration of captopril. The study of acid-releasing renal function was provided under the condition of water 2-hour diuresis by changes in urine pH, excretion of titrated acids (TA), ammonia and active hydrogen ions with calculations of their excretion and ratio indices, standardization per 100  $\mu$ l of glomerular filtrate (GF) volume. It was found that after administration of captopril to rats with 11-day long EDM urine pH, excretion of active hydrogen ions, ammonia excretion

increased, TA excretion reduced, including it standardized by the volume of GF, as well as standardized excretion of ammonium compounds. After captopril administration to the animals with a 26-day long EDM, urine pH and TA excretion raised, and the excretion of ammonium and hydrogen ions decreased, still exceeding the control values. Standardized by GF, these indices changed similarly. After pharmacological blockade of RAAS on the 46th day of EDM urine pH, TA excretion, including it standardized by GF, excretion of hydrogen ions enhanced. Excretion of ammonium compounds, including it standardized by GF, and standardized excretion of hydrogen ions declined as compared with control parameters. Thus, the intensification of acid-release at the early stages of EDM is systemic by character and develops due to glomerular hyperfiltration, overload of the nephron with acidic products of metabolism and accompanied by structural intactness of the tubular apparatus of the kidneys. Prolonged glomerular hyperfiltration, probably, is the initiating damaging factor for the tubular apparatus of the diabetic kidney, which in 26-day long EDM is accompanied by the inability of enzyme systems of tubular epithelial cells of proximal tubules, mostly, to provide adequate ammoniogenesis, despite the high efficacy of renal transport mechanisms of acid-release. Proximal tubulopathy on the background of augmented aciduria in animals with 46-day long EDM causes relative functional insufficiency of the distal tubular apparatus.

**Keywords:** experimental diabetes mellitus, alloxan, captopril, acid-releasing renal function, renin-angiotensin-aldosterone system.

---