

**Ю. Є. Роговий, В. Ф. Мислицький, Л. О. Філіпова,
В. П. Шаповалов, М. В. Магальяс, Р. І. Майкан, Ю. Б. Чортик**

Вплив препарату Wobe-Mugos E на функціональний та біохімічний стан нирок у поліурічну стадію сулемової нефропатії

В исследованиях на 40 белых крысах-самцах показано защитное действие энзимного препарата Wobe-Mugos E на функционально-биохимическое состояние почек в полиурическом периоде сулемовой нефропатии в момент формирования тубуло-интерстиционного компонента. На фоне введения препарата увеличивались экскреция ионов водорода, титрованных кислот, тканевая фибринолитическая и протеолитическая активность, а также улучшался энергетический обмен, на что указывало увеличение активности сукцинатдегидрогеназы в корковом веществе почек.

В патогенезі тубуло-інтерстиційного компонента нирок важлива роль приділяється патології протеолізу з явищами дисбалансу між підсиленням синтезу білка і зниженням протеолітичної активності, що призводить до гіпертрофії клітин і збільшення об'єму позаклітинного матриксу [2, 9].

Проведені експерименти на моделі прогресуючої ниркової недостатності при нефректомії 5/6 нирок показують, що протеазна терапія затримує розвиток фіброзу в інтерстиції нирок. Відмічалася редукція об'єму інтерстицію, зменшення клітинної інфільтрації, зниження рівня колагеногенезу і підвищення активності лізосомальних ферментів в каналцях нирок [11]. При сулемовій нефропатії в поліурічну стадію процесу відмічається розвиток тубуло-інтерстиційного компонента з характерними дистрофічними змінами ниркових каналців, дифузним розростанням сполучної тканини в інтерстицію, зниженням фібринолізу і активності ключового ферменту циклу Кребса — сукцинатдегідрогенази, який є найбільш чутливим до дії патогенних чинників [6]. Таким чином, можливе застосування системної ензимотерапії для корекції функціонально-біохімічних порушень і фібринолізу в поліурічну стадію сулемової нефропатії.

Мета роботи — вивчити вплив ензимного препарату Wobe-Mugos E (комплекс папаїну, трипсину і хімотрипсину) на функціональний стан нирок, тканинний фібриноліз, протеоліз і активність сукцинатдегідрогенази в поліурічну стадію сулемової нефропатії на момент формування тубуло-інтерстиційного компонента.

Методика

Досліди проведені на 40 білих нелінійних щурах-самцях масою 120—180 г за умов гіпонатрієвого раціону харчування. Сулему (5 мг/кг) вводили одноразово підшкірно. Wobe-Mugos E вводили в дозі 8,5 мг/кг щодобово в

© Ю. Є. Роговий, В. Ф. Мислицький, Л. О. Філіпова, В. П. Шаповалов,
М. В. Магальяс, Р. І. Майкан, Ю. Б. Чортик

черевну порожнину в 0,2 мл 1 %-ного розчину лідокаїну [11]. Функцію нирок вивчали на 10-ту, 30-ту добу після індукції нефропатії, для чого водопровідну воду в кількості 5 % від маси тіла за допомогою металевого зонду вводили щурам у шлунок, з наступним збором сечі протягом 2 год. Діурез оцінювали в мілілітрах за 2 год на 100 г маси тіла. Відразу після збору сечі тварин декапітували під ефірним наркозом. Кров збирали в пробірки з гепарином. У плазмі крові та сечі визначали концентрації креатиніну за реакцією з пікриновою кислотою, калію і натрію — за методом фотометрії полум'я на ФПЛ-1. Клубочкову фільтрацію оцінювали за кліренсом ендogenous креатиніну. Розраховували екскрецію калію, індекс співвідношення екскреції натрію до екскреції креатиніну. Кислотовидільну функцію нирок оцінювали за концентрацією іонів водню сечі, рН сечі, екскреції титруємих кислот і іонів водню [7]. Нирки швидко вилучали і заморожували в рідкому азоті. Фібринолітичну активність в нирках і сечі вивчали по лізису азофібрину, причому звільнявся азобарвник, який мав максимум поглинання при довжині хвилі 440 нм. Ми вивчали три види фібринолітичної активності: сумарну (СФА), неферментативну (НФА) (інкубація гомогенату чи сечі при наявності блокатора ферментного фібринолізу ϵ -амінокапронової кислоти) і ферментативну фібринолітичну активність (ФФА), яку розраховували за формулою:

$$\text{ФФА} = \text{СФА} - \text{НФА} [4]$$

Протеолітичну активність в нирках оцінювали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу (Simko Ltd., Львів) зі звільненням азобарвника, який має максимум поглинання при довжині хвилі 440 нм. Активність виражали як E_{440} /г тканини/год. В кірковій речовині нирок визначали активність сукцинатдегідрогенази, використовуючи сіль 2,3,5 трифенілтетразолію хлориду [8]. Білок у нирках оцінювали за методом Лоурі [10]. Для морфологічного підтвердження розвитку тубулоінтерстиційного компонента проводили гістологічні дослідження із забарвленням депарафінованих зрізів гематоксилін-еозинном. Статистичну обробку даних проводили на комп'ютері IBM PC AT 386 DX за допомогою програми «Statgrafics».

Результати та їх обговорення

Як показали наші дослідження, на 30-ту добу поліуричної стадії сулемової нефропатії розвиток тубулоінтерстиційного компонента характеризувався дистрофічними змінами ниркових каналців, інфільтрацією стромы клітинними елементами і дифузним розростанням сполучної тканини в кірковій, мозковій речовині і сосочку нирки. На цей час не було виявлено змін з діурезу, але вірогідно зростали клубочкова фільтрація, рН сечі (табл. 1), та знижувалися концентрація і екскреція іонів водню. На фоні введення Wobe-Mugos E, порівняно з модельним враженням, відмічалось зниження концентрації натрію в сечі, індексу співвідношення екскреції натрію до екскреції креатиніну, рН сечі. Порівняно з модельним враженням підвищувались екскреція калію, концентрація і екскреція іонів водню та титрованих кислот. При сулемовій нефропатії порівняно зі здоровими тваринами в кірковій речовині нирок фібриноліз характеризувався зниженням сумарної, ферментативної та неферментативної фібринолітичної активності (табл. 2). Використання

Таблиця 1. Вплив Wobe-Mugos E на функцію нирок на 30-ту добу сулемової нефропатії (x±Sx)

Показники функції нирок	Контроль (n = 9)	Сулемова нефропатія (n = 6)	Сулемова нефропатія +Wobe-Mugos E (n = 7)
Діурез, мл · 2 год ⁻¹ · 100 г ⁻¹	3,37±0,503	3,21±0,251	3,79±0,276
Клубочкова фільтрація, мкл · хв ⁻¹ · 100 г ⁻¹	321,99±50,97	580,87±120,48 P1<0,05	535,13±23,16
Концентрація натрію сечі, ммоль/л	0,761±0,2150	1,458±0,3225	0,700±0,0690 P2<0,05
Екскреція натрію/екскреція креатиніну	0,835±0,2062	1,164±0,3228	0,465±0,0276 P2<0,05
Екскреція калію, мкмоль · 2 год ⁻¹ · 100 г ⁻¹	32,11±7,537	45,37±12,728	132,28±22,54 P2<0,01
pH сечі	6,18±0,041	6,77±0,053 P1<0,001	6,16±0,022 P2<0,001
Концентрація іонів водню сечі, мкмоль/л	0,687±0,0547	0,176±0,0236 P1<0,001	0,690±0,0325 P2<0,001
Екскреція іонів водню, мкмоль · 2 год ⁻¹ · 100 г ⁻¹	2,185±0,3143 P1<0,01	0,548±0,0528 P2<0,001	2,58±0,139
Екскреція титрованих кислот, мкмоль · 2 год ⁻¹ · 100 г ⁻¹	33,31±5,017	46,54±7,485	67,33±5,928 P2<0,05

Примітка. Тут і в табл. 2, 3: P1 — вірогідність різниць порівняно з контролем, P2 — порівняно з сулемовою нефропатією, n — число спостережень.

Таблиця 2. Вплив Wobe-Mugos E на фібринолітичну активність нирок і сечі на 30-ту добу сулемової нефропатії (x±Sx)

Показники фібринолітичної активності, E ₄₄₀ · г ⁻¹ · год ⁻¹	Контроль (n = 9)	Сулемова нефропатія (n = 6)	Сулемова нефропатія +Wobe-Mugos E (n = 7)
Кіркова речовина:			
сумарна фібринолітична активність	47,41±2,764	9,32±0,453 P1<0,001	83,11±2,483 P2<0,001
ферментативна фібринолітична активність	23,42±1,417	4,43±0,426 P1<0,001	44,62±1,812 P2<0,001
неферментативна фібринолітична активність	23,29±1,706	4,89±0,436 P1<0,001	38,49±1,811 P2<0,001
Мозкова речовина:			
сумарна фібринолітична активність	65,19±9,926	8,41±0,579 P1<0,001	118,08±13,726 P2<0,001
ферментативна фібринолітична активність	35,42±5,520	5,22±0,413 P1<0,001	63,24±8,650 P2<0,001
неферментативна фібринолітична активність	29,77±4,471	3,19±0,432 P1<0,001	54,84±5,272 P2<0,001
Сосочок:			
сумарна фібринолітична активність	36,83±3,381	6,87±0,757 P1<0,001	72,05±5,528 P2<0,001
ферментативна фібринолітична активність	19,36±1,873	5,35±0,738 P1<0,001	35,29±4,773 P2<0,001
неферментативна фібринолітична активність	17,47±1,588	1,53±0,384 P1<0,001	36,76±2,800 P2<0,001
Сеча:			
сумарна фібринолітична активність	1,80±0,103	0,224±0,0234 P1<0,001	5,50±0,209 P2<0,001
ферментативна фібринолітична активність	0,929±0,0600	0,152±0,0261 P1<0,001	3,07±0,098 P2<0,001
неферментативна фібринолітична активність	0,868±0,0571	0,072±0,0107 P1<0,001	2,44±0,139 P2<0,001

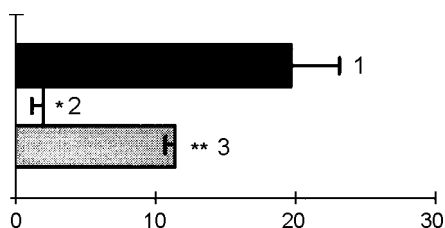
Wobe-Mugos E призводило до нормалізації трьох видів указаної фібринолітичної активності. Аналогічні закономірності спостерігалися в мозковій речовині, сосочку нирки та сечі — зниження сумарної, ферментативної та неферментативної фібринолітичної активності в указаних ділянках нирки і нормалізація їх під впливом Wobe-Mugos E. Дослідження протеолізу при сулемовій нефропатії виявило зниження протеолітичної активності за азоальбуміном та азоказеїном і підвищення її за азоколом у кірковій речовині нирок (табл. 3). На фоні введення Wobe-Mugos E відмічалась нормалізація протеолізу в цій ділянці нирки за азоальбуміном та азоказеїном. У мозковій речовині нирок при модельному враженні також знижувалась протеолітична активність за азоальбуміном та азоказеїном і зростала за азоколом. Застосування Wobe-Mugos E викликало підвищення протеолітичної активності за азоальбуміном та азоказеїном і зниження останньої за азоколом. У сосочку нирки при сулемовій нефропатії знижувалася протеолітична активність за азоальбуміном, азоказеїном та азоколом і так само спостерігалась нормалізація трьох вище вказаних видів протеолізу на фоні введення Wobe-Mugos E. Енергетичний обмін характеризувався зниженням активності сукцинатдегідрогенази в кірковій речовині нирок при сулемовій нефропатії і зростанням її активності на фоні введення Wobe-Mugos E (див. рисунок).

Тлумачення отриманих результатів, на наш погляд можна пояснити тим, що клубочкова капілярна гіпертензія як наслідок гіперфільтрації стимулює синтез β -трансформуючого фактора росту (TGF- β), який викликає пригнічення протеолізу [9]. Це в свою чергу призводить до дисбалансу між

Таблиця 3. Вплив Wobe-Mugos E на протеолітичну активність нирок на 30-ту добу сулемової нефропатії ($x \pm Sx$)

Показники фібринолітичної активності, $E_{440} \cdot g^{-1} \cdot год^{-1}$	Контроль (n = 9)	Сулемова нефропатія (n = 6)	Сулемова нефропатія + Wobe-Mugos E (n = 7)
Кіркова речовина:			
за азоальбуміном	26,75 \pm 2,054	14,67 \pm 2,078 P1<0,01	26,86 \pm 1,318 P2<0,001
за азоказеїном	38,42 \pm 2,650	19,20 \pm 1,407 P1<0,001	41,98 \pm 3,222 P2<0,001
за азоколом	4,54 \pm 0,425	7,69 \pm 0,659 P1<0,001	6,65 \pm 0,516
Мозкова речовина:			
за азоальбуміном	78,74 \pm 6,491	12,78 \pm 0,909 P1<0,001	64,08 \pm 8,403 P2<0,001
за азоказеїном	115,82 \pm 16,581	19,23 \pm 0,572 P1<0,001	119,96 \pm 15,481 P2<0,001
за азоколом	1,29 \pm 0,247	4,88 \pm 0,438 P1<0,001	2,50 \pm 0,234 P2<0,001
Сосочок:			
за азоальбуміном	185,13 \pm 31,205	17,80 \pm 4,746 P1<0,001	228,25 \pm 24,992 P2<0,001
за азоказеїном	165,33 \pm 22,605	35,88 \pm 5,897 P1<0,001	330,51 \pm 21,907 P2<0,001
за азоколом	1,74 \pm 0,260	0,835 \pm 0,3183 P1<0,05	3,56 \pm 0,344 P2<0,001

Вплив Wobe-Mugos E на активність сукцинатдегідрогенази (мкг · мг білка⁻¹ · год⁻¹) в кірковій речовині нирок на 30-ту добу сулемової нефропатії (x±Sx). 1 — контроль, 2 — сулемова нефропатія, 3 — сулемова нефропатія на фоні введення Wobe-Mugos E. * — вірогідність різниць (P<0,01) порівняно з контролем, ** — (P<0,001) порівняно з сулемовою нефропатією.



анаболізмом та катаболізмом в сторону посиленого синтезу компонентів міжклітинного матриксу з розвитком тубулоінтерстиційного фіброзу. Використання ензимного препарату Wobe-Mugos E призводить до нормалізації протеолізу в кірковій, мозковій речовинах і сосочку нирок, і таким чином запобігає розвитку склеротичних змін. Нормалізація функції інтерстицію призводить до покращання діяльності ниркових каналців, тому є підвищення активності сукцинатдегідрогенази — ключового ферменту циклу Кребса та покращання кислотовидільної функції ниркових каналців. Зниження концентрації натрію в сечі та індексу співвідношення екскреції натрію до екскреції креатиніну вказує на те, що під впливом Wobe-Mugos E не порушується основна енергозалежна функція нирок — реабсорбція натрію [3]. Зростання екскреції калію пояснюється звільненням даного катіону при активації протеолізу. Активація фібринолітичної активності нирок та сечі пояснюється нормалізацією роботи юктагломерулярного апарату нирок, в якому синтезується основний компонент фібринолітичної системи нирок — урокіназа [1] внаслідок нормалізації функціонального стану інтерстицію, а також в результаті прямого стимулюючого впливу на систему фібринолізу Wobe-Mugos E [5].

Таким чином, показана захисна дія ензимного препарату Wobe-Mugos E на функціонально-біохімічний стан нирок в поліурічну стадію сулемової нефропатії на момент формування тубуло-інтерстиційного компонента, що характеризувалося зростанням екскреції іонів водню, титруємих кислот, тканинної фібринолітичної і протеолітичної активності, покращанням енергетичного обміну в кірковій речовині нирок.

Yu. E. Rogovoy, V. F. Mislitskiy, L. O. Filipova, V. P. Shapovalov, M. V. Magalyas, R. I. Maykan, Yu. B. Chortik

THE INFLUENCE OF THE ENZYME COMPLEX WOBЕ-MUGOS E ON KIDNEY FUNCTIONAL AND BIOCHEMICAL STATE, INCLUDING THEIR FIBRINOLYTIC AND PROTEOLYTIC ACTIVITIES IN POLYURIC STAGE OF SUBLIMATE NEPHROPATHIA

The protective effect of Wobe-Mugos appliance on the kidney function and biochemical state in polyuric stage of sublimation nephropathia at the moment of tubulointerstitial component formation was revealed in experiments on 40 white male rats. It appeared in the increase of hydrogenous ion excretion, titrated acids, renal tissue fibrinolytic and proteolytic activity. The succinatdehydrogenase activation in renal cortex matter pointed out on the improvement of energy balance.

*Bucovinian State Medical Academy
Ministry of Public Health of the Ukraine, Chernivtsy*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Братчик А.М.* Клинические проблемы фибринолиза. — К.: Здоров'я, 1993. — 344 с.
2. *Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И.* Протеолиз в норме и при патологии. — К.: Здоров'я. — 1988. — 198 с.
3. *Гоженко А.И.* Энергетическое обеспечение основных почечных функций и процессов в норме и при повреждении почек: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Киев, 1987. — 38 с.
4. *Кухарчук О.Л.* Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-мезенжерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис ... д-ра мед. наук. — Одеса, 1996. — 36 с.
5. *Мазуров В.И., Лил А.М., Стернин Ю.И.* Системная энзимотерапия. — Спб.: Моби Дик. — 1996. — 206 с.
6. *Роговий Ю.Е.* Функционально-биохимические особенности формирования тубуло-интерстициального компонента при сулемовой нефропатии // Урология и нефрология. — 1997, № 4. — С. 15-17.
7. *Рябов С.И., Наточин Ю.В.* Функциональная нефрология. — Спб.: Лань, 1997. — 304 с.
8. *Торчинский Ю.М.* Об активности дегидразных систем и содержание сульфгидрильных групп в некоторых отделах мозга кошки // Биохимия. — 1959. — **24**, №3. — С. 496-502.
9. *Heidland A., Sebekova K., Paczek L. et al.* Renal fibrosis: Role of impaired proteolysis and potential therapeutic strategies // Kidney Int. — 1997. — **52**. — P. s1-s4.
10. *Lowry O.H., Rosebrough N.I., Parr A.L., Randall R.I.* Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — **193**, №1. — P. 265-275.
11. *Sebekova K., Paczek L., Dammrich J. et al.* Effects of protease therapy in the remnant kidney model of progressive renal failure // Mineral and Electrolyte Metab. — 1997. — **23**. — P. 1-6.

*Буковин. медична академія М-ва охорони
здоров'я України, Чернівці*

*Матеріал надійшов
до редакції 18.09.98*