

до тривалого порушення концентраційної функції органа.

Перспективи подальших досліджень. Визначення параметрів реактивності організму

може лежати в основі розробки системи індивідуалізації діагностичного обстеження та терапевтичної тактики в урологічній та нефрологічній практиці.

ЛІТЕРАТУРА

1. Chevalier R.L. Pathogenesis of renal injury in obstructive uropathy // *Curr. Opin. Pediatr.* – 2006. – V. 18, № 2. – P. 153-160.

2. Hunyady L., Catt J.K. Pleiotropic AT₁ Receptor Signaling Pathways Mediating Physiological and Pathogenic Actions of Angiotensin II // *Mol. Endocr.* – 2005. – V. 20, № 5. – P. 953-970.

3. Klahr S., Morrissey J. Obstructive nephropathy and renal fibrosis // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2002. – Vol. 283, №5. – P. 861-875.

4. Salivon I., Polina N. Constitution and reactivity of the organism // *J. Physiol. Anthropol. Appl. Human Sci.* – 2005. – V. 24, № 4. – P. 497-502.

MORPHOLOGY OF RENAL INNER MEDULLA IN RATS WITH HYPOREACTIVITY OF TYPE I ANGIOTENSIN RECEPTORS UNDER URETERAL OBSTRUCTION

©E.F. Barynov, V.V. Voloshyn, Ye.V. Chereshneva

Donetsk State Medical University by M. Horky

SUMMARY. The renal inner medulla structural and functional state was analysed in rats with decreased sensitivity of AT₁ receptors during 1 month after left ureteral obstruction. It was shown that the intensive inflammatory reaction and tubular alteration takes place in renal medulla in early terms after obstruction. To the end of the 1 month the chronization of inflammation and sclerotic transformation of interstitium are observed and it can result in dystrophic changes of medullar tubules prolongation, which can be a reason of urinary concentration mechanisms alteration.

KEY WORDS: kidney, inner medulla, angiotensin II.

УДК 591.461.2:599.323.4+616.379–008.64:001.891.57

МОРФОГЕНЕЗ НИРКОВИХ ТІЛЕЦЬ У ЩУРІВ З РІЗНОЮ ПОТУЖНІСТЮ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ NO-СИНТАЗИ ЗА УМОВ МОДУЛЮВАННЯ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Е.Ф. Барінов, В.М. Гузенко, Х.В. Григорян

Донецький державний медичний університет ім. М. Горького

РЕЗЮМЕ. В роботі проведено аналіз структурно-функціонального стану ниркових тілець у щурів з нормальною та зниженою активністю NO-синтази в динаміці розвитку діабетичної нефропатії. Продемонстровано, що низький рівень продукції NO є фактором ризику раннього (14 доба) розвитку гломерулопатії, що супроводжується ураженням фільтраційного бар'єру з розвитком протеїнурії на фоні зміни клітинного стану судинного клубочка: втрати подоцитів та активації проліферації й секреторної активності мезангіальних клітин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нирка, судинний клубочок, синтаза оксиду азоту.

Вступ. Провідною ланкою патогенезу діабетичної нефропатії (ДН) є ендотеліальна дисфункція, що певною мірою обумовлена порушенням продукції оксиду азоту (NO) [1]. Досвід дослідників останніх років свідчить про те, що одним з причинних факторів цього є генетично детермінована експресія гену ендотеліальної NO-синтази (eNOS) [2], яка визначає адаптаційні реакції ендотелію за умов дії несприятливих факторів, зокрема дизметаболических розладів при дефіциті інсу-

ліну: гіперглікемії, дизліпідемії та ін. Таким чином, індивідуальні особливості експресії eNOS та продукції NO значною мірою детермінують стан мікроциркуляторного русла органів, в тому числі й нирки, порушення якого може бути предиктором розвитку ускладнень цукрового діабету (ЦД), зокрема ДН [3]. Але, на жаль, в сучасній літературі немає чіткої системи уявлень щодо взаємозв'язків між станом eNOS та вірогідністю, термінами і швидкістю прогресування гломерулопатії за умов ЦД.

Метою дослідження став аналіз структурно-функціонального стану ниркових тілець в щурів з різною потужністю eNOS в динаміці розвитку ДН.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження виконані на дорослих білих щурах-самцях віком 6 міс. і вагою (220 ± 25) г, що мали вільний доступ до води та їжі. З метою оцінки потужності eNOS використовували тест *in vitro*: інкубація тромбоцитів з інгібітором ферменту - L-NAME. Для отримання тромбоцитів з хвостової вени брали кров у пластикову пробірку, що містила кислий цитратдекстрозний антикоагулянт в співвідношенні його і крові 1:6. Кров центрифугували протягом 15 хв при 200 г для отримання збагаченої тромбоцитами плазми. Після її видалення проводили подальше центрифугування впродовж 10 хв при 2000 г з метою отримання плазми, бідної на тромбоцити, яку використовували для підтримання стандартної кількості клітин на рівні 200 тис/мкл. Готували суспензію відмитих тромбоцитів в буферному розчині наступного складу (мкМ): NaCl (138), KCl (3), MgCl₂ (1), глюкоза (10), HEPES (10), NaH₂PO₄ (0,37), pH 7,4. В I серії до суспензії тромбоцитів додавали 0,1 мл фізіологічного розчину (контроль) В II серії в проби вводили 0,25, 0,5, 1,0, 1,5 і 2 мкМ L-NAME, реєструючи агрегацію тромбоцитів (АТ) спектрофотометричним методом. При цьому визначали характер розподілу АТ в тварин та розраховували EC50 - ефективну концентрацію блокатора eNOS, що спричиняла агрегацію 50% тромбоцитів. За цим показником всіх тварин розподілили на три групи - з нормальною, зниженою та підвищеною потужністю eNOS. До подальших експериментів в рамках даної роботи відбирали щурів зі зниженою (1 група, n=20) та нормальною (2 група, n=20) активністю eNOS, для яких EC50 складала, відповідно (0,63 0,012) і (0,97 0,05) мкМ. ЦД моделювали аллоксаном, який вводили після 24-годинного голодування в черевну порожнину тварин в дозі 15 мг/100г маси. Показником розвитку інсулярної недостатності вважали підвищення вмісту глюкози в крові в межах 12-24 ммоль/л, що було зареєстровано на 14 добу експерименту. Рівень глікемії визначали глюкозооксидазним методом. Критерієм залучення в патологічний процес нирки вважали появу протеїнурії, вираженість якої оцінювали через 14 діб, 1, 2 та 3 місяці, визначаючи її ступінь (слабку, помірну та виражену) за показниками добового виділення білка з сечею (г/добу). Для морфологічного дослідження використовували зрізи нирки товщиною (5 ± 1) мкМ, які забарвлювали гематоксиліном і еозином та ставили PAS-реакцію. При аналізі стану ниркових тілець (НТ) оцінювали їх питомий об'єм (ПО)

в зовнішній (1-ша зона) та внутрішній (2-ша зона) частинах кіркової речовини, вимірювали діаметр та абсолютний об'єм НТ та судинних клубочків (СК) в них, діаметри аферентної та еферентної артеріол. Для визначення міри ушкодження судинного клубочка підраховували: ПО гломерулярних капілярів (ГК) в СК, щільність клітин (кількість клітин на одиницю об'єму СК), клітинний склад СК (у %), питому площу (ПП) гломерулярної базальної мембрани (ГБМ) [4], виявлену PAS-реакцію. Для статистично обґрунтованої оцінки взаємозалежності між ступенем протеїнурії та морфологічними проявами гломерулярного ушкодження використовували регресивний аналіз.

Результати й обговорення. Оцінка глікемії через 14 діб після введення аллоксану показала, що рівень глюкози в щурів з низькою потужністю eNOS був на 16,34% ($p < 0,05$) вище, ніж в 2 групі, що свідчить про роль дефіциту NO в патогенезі ЦД. В сечі тварин 1 групи було визначено появу глюкози та слабкої протеїнурії. Морфологічно ці зміни проявлялися ішемічним ушкодженням СК переважно в 1 зоні нирки. На фоні спазму приносної та виносної артеріол було зареєстровано збільшення розміру СК, нерівномірне кровонаповнення ГК та гіперклітинність СК за рахунок діapedезу нейтрофілів. Через 1 місяць від початку експерименту в нирках щурів основної групи було визначено збільшення ПО НТ та СК. В структурі останніх зареєстровано зменшення ПО ГК, хвилястість та нерівномірна товщина ГБМ, зменшення відсотку подоцитів на фоні проліферації мезангіальних клітин та міграції моноцитів/макрофагів. Ці зміни супроводжувалися слабкою та помірною протеїнурією. Через 2 місяці до патоморфологічних змін залучалися ниркові тільця не тільки в 1-й, але й в 2-й зонах, що свідчить про ураження й юкстамедулярних нефронів, які відіграють провідну роль в осмоконцентруванні сечі. В СК 1-ї зони зареєстровано появу часточкової будови СК, подекуди - наявність синехій - зростання СК з паріетальним листком капсули Шумлянського-Боумана, що вважається критерієм втрати подоцитів [3] - основного джерела синтезу та відновлення компонентів ГБМ. Крім того, зареєстровано зниження діаметру та ПО ГК та ПП ГБМ, її потовщення. Відсоток подоцитів знизився на 32,12%, порівняно з контролем, а об'єм мезангію зріс за рахунок клітин (на 19,4%) та матриксу (на 13,8%; $p < 0,05$), що свідчить про активацію секреторної активності мезангіальних клітин та запуск процесу склерозування СК. Останнє мало місце в ($38,5 \pm 1,7$) % СК 1 зони через 3 місяці після введення аллоксану і проявлялося зменшенням діаметру СК, їх абсолютного та питомого

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, короткі повідомлення, замітки з практики (у складі НТ) обсягів, різким дефіцитом кількості та об'єму ГК та подоцитів на фоні превалювання мезангіального матриксу. Ці морфологічні зміни супроводжувалися помірною (в 45%) та значною (55%) протеїнурією, причому ступінь добової втрати білка корелював з відсотком втрачених подоцитів ($r=0,821$), зменшенням площі ГБМ ($r=0,733$) та розширенням мезангіума ($r=0,882$). На відміну від 1 групи, поява протеїнурії та морфологічних змін в нирках в щурів 2 групи була зареєстрована через 1 місяць в 25% тварин, тоді як в інших щурів розвиток ініціація ДН відбувалася лише через 2-3 місяці після початку експерименту.

Висновки. Отримані дані свідчать про те, що низька резервна потужність eNOS є патоген-

етичним фактором, що провокує ранній розвиток гломерулопатії, ініціальними проявами якої є міграція лейкоцитів, ушкодження ендотелію та подоцитів. Це призводить до порушення регенерації ГБМ, активації проліферації та секреторної активності мезангіальних клітин, наслідком чого є склерозування СК.

Перспективи подальших досліджень. Визначення індивідуальних характеристик роботи системи eNOS-NO дозволить адекватно оцінити ступінь ендотеліальної дисфункції, розробити програму її корекції, що може стати основою в формуванні стратегії ренопротекції за умов ЦД.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ossman S.S. Diabetic Nephropathy: Where We Have Been and Where We Are Going // Diabetes Spectrum. - 2006. - Vol. 19. - P. 153-156.

2. Jones L.C., Hingorani M.B. Genetic regulation of endothelial function of heart. - 2005. - Vol. 91, № 10. - P. 1275-1277.

3. Шишкин А.Н. Дисфункция эндотелия у пациентов с прогрессирующими заболеваниями почек // Нефрология- 2005.- Т. 9, № 2.- С. 16-23.

4. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. - М.: Медицина, 1991.

RENAL CORPUSCLE MORPHOGENESIS IN RATS WITH DECREASED POWER OF NO-SYNTASE IN DIABETES MELLITUS MODEL

©E.F. Barynov, V.M. Huzenko, K.V. Hryhoryan

Donetsk State Medical University by M. Horky

SUMMARY. The analysis of structural and functional state of renal corpuscles was performed in rats with normal and decreased NO-synthase activity during diabetic nephropathy development. It was shown that low intensity of NO production is a risk factor in early (since 14 day) initiation of glomerulopathy under diabetes, which is accompanied by filtration barrier structures damage with proteinuria development against a background of glomeruli cellular condition change: podocytes loss and activation of proliferation and secretory function of mesangial cells.

KEY WORDS: kidney, glomeruli, NO-synthase.

УДК 616-001.5: 616.155.34]-037

ЦИТОХІМІЯ НЕЙТРОФІЛІВ У ПРОГНОЗУВАННІ ПЕРЕБІГУ РАНОВОГО ПРОЦЕСУ

©М.Е. Барінова, М.В. Свіридов, О.М. Сулаєва

Донецький державний медичний університет ім. М. Горького

РЕЗЮМЕ. В роботі проведено оцінку активності ферментів, залучених до киснезалежних та кисненезалежних систем антимікробного захисту нейтрофілів в динаміці лікування за умов загоєння та тривалого незагоєння ран стопи в 22 хворих на цукровий діабет. Визначено, що загоєння ран асоційоване з нормалізацією балансу між швидкою та повільною фазами бактеріолізу, відновленням потужності початкової та термінальної ланок кисень-залежного антимікробного захисту нейтрофілів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нейтрофіли, ферменти, загоєння ран.

Вступ. Однією з патогенетичних ланок різноманітних захворювань шкіри та слизових оболонок порожнистих органів (гнійно-некро-

тичні ураження шкіри за умов цукрового діабету, опіки, екзема, виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки тощо) є порушення про-