

СТАН КИСЛОТНОРЕГУЛЮВАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ НИРОК ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНОМУ ДІАБЕТИ У ЩУРІВ

М.І. Грицюк

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м.Чернівці

Ключові слова:
кислотнорегулювальна функція, цукровий діабет, стрептозотоксин, нирки.

Клінічна та експериментальна патологія Т.16, №4 (62). С.37-41.

DOI:10.24061/1727-4338.XVI.4.62.2017.50

E-mail: m.grytsiuk@gmail.com

Резюме. Цукровий діабет та пов'язані з ним ускладнення викликають порушення водного та іонного обміну в організмі. Серед типових ускладнень цього захворювання є ураження судин, яке проявляється різноманітними мікро- та макроангіопатіями. До мікроангіопатій відносять діабетичну нефропатію, яка призводить до втрати працездатності населення та розвитку хронічної ниркової недостатності. **Мета роботи.** Дослідити зміни показників кислотнорегулювальної функції нирок у щурів в динаміці експериментального стрептозотоксин-індукованого цукрового діабету.

Матеріал і методи. Експеримент проведено на 26 статевозрілих нелінійних самцях білих щурів. Дослідним групам тварин одноразово внутрішньоочеревинно вводили стрептозотоксин у дозі 70 мг/кг. Вивчення показників кислотнорегулювальної функції нирок проводили на 11-ту, 21-шу та 31-шу добу експерименту. Результати обробляли статистично.

Результати. Кислотнорегулювальна функція нирок дослідних тварин протягом 11-31-ї доби експериментального ЦД залишається доволі інтенсивною. У вказаний період спостереження ефективно відбуваються процеси активного виділення титрованих кислот, іонів водню та аміаку, які її забезпечують. Зростання вказаних показників відбувається як при розрахунках за 2 години форсованого діурезу, так і при стандартизації показників за КФ.

Висновки. Активне виведення надлишкових продуктів обміну вказує на те, що в організмі тварин з стрептозотоксин-індукованим ЦД у цей період нарастають прояви метаболічного ацидозу.

Ключевые слова:
кислотнорегулирующая функция, сахарный диабет, стрептозотоксин, почки.

Клиническая и экспериментальная патология Т.16, №4 (62). С.37-41.

СОСТОЯНИЕ КИСЛОТОРЕГУЛИРУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕК ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННОМ ДИАБЕТЕ У КРЫС

М.И. Грицюк

Резюме. Сахарный диабет и связанные с ним осложнения вызывают нарушения водного и ионного обмена в организме. Типичным осложнением этого заболевания является поражение сосудов, которое проявляется разнообразными микро- и макроангиопатиями. К микроангиопатиям относят диабетическую нефропатию, которая приводит к потере трудоспособности населения и развития хронической почечной недостаточности.

Цель работы. Исследовать изменения показателей кислотнорегулирующей функции почек у крыс в динамике экспериментального стрептозотоксин-индуцированного сахарного диабета.

Материал и методы. Эксперимент проведен на 26 половозрелых нелінійних самцах белых крыс. Исследовательским группам животных однократно внутрибрюшинно вводили стрептозотоксин в дозе 70 мг/кг. Изучение показателей кислотнорегулирующей функции почек проводили на

11-е, 21-е и 31-е сутки эксперимента. Результаты обрабатывали статистически.

Результаты. Кислотнорегулирующая функция почек подопытных животных в течение 11-31-х суток экспериментального СД остается достаточно интенсивной. В указанный период наблюдения эффективно происходят процессы активного выделения титруемых кислот, ионов водорода и аммиака, которые ее обеспечивают. Рост указанных показателей происходит как при расчетах за 2 часа форсированного диуреза, так и при стандартизации показателей по КФ.

Выводы. Активное выведение избыточных продуктов обмена указывает на то, что в организме животных с стрептозотоксин-индуцированным СД в этот период нарастают проявления метаболіческого ацидоза.

THE STATE OF ACID-REGULATING FUNCTION OF THE KIDNEYS IN RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS

M.I. Grytsiuk

Abstract. Diabetes mellitus and related with it complications cause disturbances in

water and ion metabolism of the body. A typical complication of this disease is vascular damage, which manifests itself in a variety of micro- and macroangiopathies. Microangiopathies include diabetic nephropathy, which leads to the loss of the population's ability to work and the development of chronic renal failure.

Aim. To study the changes in the parameters of the acid-regulating renal function in rats in the dynamics of experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus.

Material and methods. The experiment was performed on 26 mature non-linear males of white rats. The experimental groups of animals were injected intraperitoneally with streptozotocin at a dose of 70 mg/kg. The study of the parameters of acid-regulating function of the kidneys was carried out on 11th, 21st and 31st day of the experiment. The results were assessed statistically.

Results. Acid-regulating function of the kidneys of experimental animals during 11-31 days of experimental DM remains quite intense. In the indicated period of observation, the processes of active release of titrated acids, hydrogen ions and ammonia, which provide it, are effective. The growth of these indicators occurs both in calculations for 2 hours of forced diuresis, and in standardizing the parameters according to glomerular filtration.

Conclusions. Active removal of excess metabolic products indicates that during this period the manifestations of metabolic acidosis increase in the body of animals with streptozotocin-induced diabetes.

Key words: acid-regulating function, diabetes mellitus, streptozotocin, kidneys.

Clinical and experimental pathology. Vol.16, №4 (62). P.37-41.

Вступ

Загальновідомою є роль нирок у обміні води в організмі. Вважають, що транспорт близько 15% води здійснюється в дистальних канальцях і збиральних трубках під впливом антидіуретичного гормону, котрий також збільшує всмоктування сечовини, створюючи цим 50% осмотичного тиску мозкового шару нирки. Особливістю транспорту води у вказаних відділах є те, що вона рухається міжклітинно за рахунок осмотичного градієнту між просвітом канальців та інтерстицієм мозкової речовини нирок [8, 9]. Відомо також, що такі захворювання, як цукровий діабет (ЦД) та пов'язані з ним ускладнення викликають порушення водного та іонного обміну в організмі. Серед типових ускладнень ЦД головним є ураження судин, яке проявляється різноманітними мікро- та макроангіопатіями. До мікроангіопатій зараховують діабетичну нефропатію (ДН), ретинопатію та нейропатію, до макроангіопатій - ураження серцево-судинної системи та діабетичну стопу [4-6, 12].

Розвиток мікросудинної патології, яка супроводжується підвищенням артеріального тиску, зниженням рівня швидкості клубочкової фільтрації та прогресуванням запальних процесів в нирках, зумовлює високий ризик інвалідності і смертності внаслідок серцево-судинних захворювань [3]. Саме тому вивченню механізмів розвитку та прогресуванню ДН присвячено багато уваги дослідниками.

Загалом слід сказати, що патогенез розвитку ДН комплексний і включає спадковий, метаболічний (гіперглікемія, гіперліпідемія, гіперурикемія і т.д.), гемодинамічний (внутрішньоклубочкова гіпертензія, артеріальна гіпертензія) компоненти, гормональні (гіперінсулінемія, активація локальної ниркової ренінаангіотензинової системи і т.д.), імунні порушення (дисбаланс продукції про- і протизапальних цитокінів, факторів росту і т.д.) тощо [2, 7, 10].

Численні роботи присвячені змінам діяльності окремих ниркових функцій при різноманітних типах ЦД. Проте і до тепер стан кислотнорегулювальної функції

нирок, як чутливого індикатора порушення їх діяльності, при експериментальному ЦД вивчено недостатньо.

Для наукового пошуку дослідники застосовують цілу низку експериментальних моделей, які дають їм змогу викликати той чи інший тип цукрового діабету, що відповідає цьому захворюванню у людей [1, 11]. Загалом усі моделі поділяють на генетичні та негенетичні.

Генетичні дефекти в інсулінопродукуючих клітинах, у структурах, які обумовлюють трансдукцію інсулінового сигналу або секреторну функцію ендокриноцитів, можуть бути детально досліджені за допомогою спеціалізованих ліній тварин зі спонтанно отриманими мутаціями або спрямованим нокаутом генів [1]. Однак найпростішими у відтворенні є негенетичні моделі із застосуванням різноманітних хімічних сполук. Для відтворення моделі ЦД I типу ми обрали введення антибіотику з відомою протипухлинною дією - стрептозоточину. У бактеріальних клітинах він викликає спеціальну реакцію з цитозиновими групами, наслідком якої є дегенерація та деструкція ДНК. Результатом даного біохімічного механізму є загибель клітин.

Мета роботи

Дослідити зміни показників кислотнорегулювальної функції нирок у щурів в динаміці експериментального стрептозоточин-індукованого цукрового діабету.

Матеріал і методи дослідження

Експеримент проведено на 26 статевозрілих нелінійних самцях білих щурів, масою 0,17 - 0,20 кг. Тварин розподіляли на чотири дослідні групи. Перша (I) - контрольна група, яка перебувала на стандартному режимі годування, освітлення та утримання. Дослідним групам тварин II, III та IV одноразово внутрішньоочеревинно вводили стрептозоточин (Sigma, США) у дозі 70 мг/кг [1]. У II групі тварин забій та відповідні дослідження проводили через 11 діб після введення стрептозоточину, показники тварин III групи досліджували через 21 Клінічна та експериментальна патологія. 2017. Т.16, №4 (62)

добу, IV - через 31 добу відповідно. В експеримент брали тварин з рівнем глікемії понад 10 ммоль/л. Щоб оцінити функції судинно-клубочкового апарата нирки, тваринам проводили навантаження водогінною водою в об'ємі 5% маси тіла, сечу збирали упродовж 2 годин.

Виведення тварин з експерименту проводили під легким ефірним знеболенням, дотримуючись 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 обробляли статистично з використанням t-критеріїв Стьюдента. У таблицях значення вірогідності ("p") наведені лише для вірогідних (p=0,05 або менше) різниць показників, що вивчалися.

Результати та їх обговорення

Вважається, що стан кислотнорегулювальної функції є одним з чутливих показників функціонального стану нефрону. Отримані нами дані на 11-ту добу моделювання експериментального ЦД засвідчують про те, що в цей період нирки виводять кислоти як в активній формі, на що вказує зростання кислотності сечі (рН експериментальних тварин на 11,5% за показники інтактної групи), так і за рахунок показника екскреції титрованих кислот, який зростає на 169% при стандартизації за КФ та аміаку. Показник останнього збільшується у щурів з модельованим ЦД більш, ніж утричі (p<0,001) разом зі зростанням амонійного коефіцієнту на 68,05% (табл.).

Це дозволяє припустити, що в цей період в діючих

нефронах не порушуються процеси, які забезпечують транспорт і секрецію іонів водню та аміаку. Ймовірно, зростання виведення продуктів кислотного обміну викликане тим, що в організмі дослідних тварин з ЦД збільшується утворення недоокиснених продуктів та аміаку, і нирки реагують на це шляхом активізації екскреції цих компонентів.

У цей період спостереження реєстрували також високодостовірне (p<0,001) зростання екскреції іонів водню у чотири рази, при чому при стандартизації цього показника за КФ різниця між показниками інтактних тварин та щурів з ЦД була значно нижчою і відрізнялася від даних інтактних щурів у 2,5 рази.

Аналізуючи дані, отримані на 21-шу добу експерименту, можна помітити, що кислотнорегулювальна функція активована ще більше, ніж на 11 добу. Відзначено ще більше закислення сечі за показником рН (майже на 13%). Ще більше зростає екскреція іонів водню - на 21 добу експерименту цей показник перевищив дані контролю майже втричі (p<0,001) в абсолютних величинах та вдвічі (p<0,01) при перерахунку на 100 мкл КФ (табл.). Така ж тенденція прослідковувалася щодо екскреції титрованих кислот. Цей показник зростав і при вимірюванні за 2 години (в 4,2 рази) і при перерахунку на одиницю активно діючого нефрону (p<0,01) - у 1,7 рази.

Реєстрували також достовірне збільшення екскреції аміаку понад удвічі, зростання амонійного коефіцієнту на 76% у дослідних щурів з експериментальним ЦД на 21 добу. Така ж динаміка зберігалася при перерахунку на 100 мкл клубочкового фільтрату (p<0,01).

Таблиця

Зміни показників кислотнорегулювальної функції нирок у щурів при моделюванні ЦД ($\bar{x} \pm Sx$)

Показник	Контроль, n=6	Стрептозоточиновий діабет		
		11-а доба, n=6	21-а доба, n=6	31-а доба, n=8
рН сечі, од	7,05±0,11	6,25±0,10 p<0,05	6,19±0,10 p<0,05	6,14±0,12 p<0,05
Екскреція іонів водню, ммоль/2 год	0,69±0,06	2,85±0,05 p<0,001	3,07±0,05 p<0,001	3,96±0,55 p<0,001
Екскреція іонів водню, мкмоль/ 100 мкл КФ	0,20±0,19	0,50±0,18 p<0,05	0,53±0,18 p<0,01	0,62±0,13 p<0,01
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/2год	32,28±0,89	121,43±1,89 p<0,001	134,48±3,71 p<0,001	211,45±47,59 p<0,001
Екскреція кислот, що титруються, мкмоль/100 мкл КФ	9,38±0,38	15,88±0,18 p<0,05	18,42±0,16 p<0,01	24,35±0,19 p<0,01
Екскреція аміаку, мкмоль/2 год	48,23±0,77	138,16±5,09 p<0,001	186,15±5,36 p<0,001	174,15±15,36 p<0,001
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл КФ	18,34±2,82	35,66±0,67 p<0,05	37,63±7,15 p<0,01	44,83±6,25 p<0,01
Амонійний коефіцієнт, од	1,69±0,11	2,84±0,12 p<0,05	2,98±0,13 p<0,05	3,28±0,12 p<0,05

Примітки: n – кількість тварин у групі; p – вірогідність розбіжності дослідної та контрольної груп тварин, КФ – клубочковий фільтрат

Зростання показника екскреції аміаку засвідчує про те, що має місце не просто ефективне очищення позаклітинної рідини, а активне виділення надлишкової кількості кислих продуктів (титровані кислоти і аміак) нирками. Такі зміни вказують на високу ефективність транспортних механізмів у нирках на 21-шу добу експериментального ЦД. Ймовірно, в організмі утворюється більше кислот і особливо аміаку, що викликає необхідність зростання виведення нирками цих сполук.

За результатами проведених досліджень на 31 добу експерименту рН сечі суттєво знижується, викликаючи закислення сечі. У вказаний проміжок цей показник є на 14% нижчим, ніж у інтактних тварин. Відбувається достовірне зростання екскреції іонів водню у чотири рази як при розрахунках діурезу за 2 години, так і при перерахунку на 100 мкл КФ - тут цей показник зростає на 326%. Екскреція титрованих кислот при перерахунку на 100 мкл КФ зростає у 2,5 рази. Залишається збільшеною також екскреція аміаку, як і на 21 добу. Амонійний коефіцієнт теж достовірно зростає. У експериментальній дослідній групі на 31 добу він збільшується на 91%, порівняно з показниками у групі контролю ($p < 0,05$) (табл.) та на 10% вищий, ніж у групі тварин з ЦД на 21 добу.

Кислотнорегулювальна функція нирок дослідних тварин загалом залишається доволі інтенсивною. У вказаний період спостереження усе ще ефективно відбуваються ті процеси, які її забезпечують, а саме: обмін іонів натрію на іони водню, в основному в ділянці дистальних каналців, а також виділення аміаку, який з'єднується з протоном з утворенням хлориду амонію в дистальному відділі нефрону. Оскільки ці процеси збережені, то, ймовірно, кінцеві відділи нефрону свої властивості ще зберігають. З іншого боку, стійка гіперглікемія і надалі підтримується тими значними змінами, які відбуваються в метаболізмі і, перш за все, в глюконеогенезі, про активацію якого засвідчує посилення виділення аміаку.

Висновки

За результатами проведеної серії досліджень не можна стверджувати, що активована кислотнорегулювальна функція повною мірою справляється з виведенням надлишкових продуктів обміну. Але виведення кислот активних, титрованих, аміаку як в цілому, так і в перерахунку на одиницю діючого нефрону зростає, і це, ймовірно, вказує на те, що в організмі у цей період наростають прояви метаболічного ацидозу, оскільки нирки не можуть виводити настільки активно кислоти з організму, якщо нема їхнього надлишку.

Перспективи подальших досліджень

Беручи до уваги отримані дані, актуальним буде подальше з'ясування змін показників кислотнорегулювальної функції нирок в динаміці експериментального цукрового діабету.

Список літератури

1. Байрашева ВК. Моделирование сахарного диабета и диабетической нефропатии в эксперименте. Современные проблемы науки и образования [Интернет]. 2015 [цитировано 2017 Сен ISSN 1727-4338 <https://www.bsmu.edu.ua>

11];4. Доступно: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=21024>

2. Вонз ЛЗ. Нові перспективи у лікуванні хворих з діабетичною нефропатією. Вісник наукових досліджень. 2016;2:25-7.

3. Диабетическая нефропатия: эпидемиология, патогенез, основные терапевтические направления. Здоров'я України [Интернет]. 2016 [цитировано 2017 Сен 12]22;48-9. Доступно: http://health-ua.com/wp-content/uploads/2016/12/ilovepdf_48-491.pdf

4. Лобода ОМ, Дудар Ю. Механізми розвитку та прогресування діабетичної нефропатії. Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. 2010;9-10:46-50.

5. Дядык АИ, Багрий АЭ, Дядык ЕА, Щукина ЕВ, Холопов ЛС, Яровая НФ, и др. Диабетическая нефропатия (обзор литературы). Сообщение 1. Український журнал нефрології та діалізу. 2010;4:61-7.

6. Дядык АИ, Багрий АЭ, Дядык ЕА, Щукина ЕВ, Холопов ЛС, Яровая НФ, и др. Диабетическая нефропатия (обзор литературы). Сообщение 2. Український журнал нефрології та діалізу. 2011;1:51-8.

7. Сфімов АС, Скробонська НА, Цимбал ТС. Патогенетичні маркери у розвитку діабетичної нефропатії у хворих на цукровий діабет типу 1, їх значення у ранній діагностиці та оптимізації лікування. Ендокринологія. 2014;19(4):295-6.

8. Шущая ЖВ, Шахматова ЕИ, Кузнецова АА, Наточин ЮВ. Роль почек в регуляции осмоляльности и концентрации катионов в сыворотке крови при гипергликемии. Физиология человека. 2008;34(5):73-9.

9. Наточин ЮВ, Кузнецова АА. Инкреторная функция почки. Успехи физиологических наук. 2010;41(3):28-43.

10. Hakim FA, Pflueger A. Role of oxidative stress in diabetic kidney disease. Med Sci Monit. 2010;16(2):RA37-48.

11. Hamza AH, Al-Bishri WM, Damiati LA, Ahmed HH. Mesenchymal stem cells: a future experimental exploration for recession of diabetic nephropathy. Renal failure. 2017;39(1):67-76. doi: 10.1080/0886022X.2016.1244080.

12. Premaratne E, Verma S, Ekinici EI, Theverkalam G, Jerums G, MacIsaac RJ. The impact of hyperfiltration on the diabetic kidney. Diabetes Metab. 2015;41(1):5-17. doi: 10.1016/j.diabet.2014.10.003.

References

1. Bayrasheva VK. Modelirovanie sakharnogo diabeta i diabeticeskoy nefropatii v eksperimente [Modeling of diabetes mellitus and diabetic nephropathy in an experiment]. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya [Internet]. 2015 [tsitirovano 2017 Sen 11];4. Dostupno: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=21024> (in Russian).

2. Vonz LZ. Novi perspektyvy u likuvanni khvorykh z diabetichnoiu nefropatiieiu [New perspectives in the treatment of patients with diabetic nephropathy]. Visnyk naukovykh doslidzhen'. 2016;2:25-7. (in Ukrainian)

3. Diabeticeskaya nefropatiya: epidemiologiya, patogenez, osnovnye terapevticheskie napravleniya [Diabetic nephropathy: epidemiology, pathogenesis, main therapeutic directions]. Zdorov'ia Ukrainy [Internet]. 2016 [tsitirovano 2017 Sen 12]22;48-9. Dostupno: http://health-ua.com/wp-content/uploads/2016/12/ilovepdf_48-491.pdf (in Russian).

4. Loboda OM, Dudar IO. Mekhanizmy rozvytku ta prohresuvannia diabetichnoi nefropatii [Mechanisms of development and progression of diabetic nephropathy]. Klinichna imunolohiia. Alerholohiia. Infektolohiia. 2010;9-10:46-50. (in Ukrainian)

5. Dyadyk AI, Bagriy AE, Dyadyk EA, Shchukina EV, Kholopov LS, Yarovaya NF, i dr. Diabeticeskaya nefropatiya (obzor literatury). Soobshchenie 1 [Diabetic nephropathy (literature review). Message 1]. Ukrain'skyi zhurnal nefrolohii ta dializu. 2010;4:61-7. (in Russian).

6. Dyadyk AI, Bagriy AE, Dyadyk EA, Shchukina EV, Kholopov LS, Yarovaya NF, i dr. Diabeticeskaya nefropatiya (obzor literatury). Soobshchenie 2 [Diabetic nephropathy (literature review). Message 2]. Ukrain'skyi zhurnal nefrolohii ta dializu. 2011;1:51-8. (in Russian).

7. Yefimov AS, Skrobons'ka NA, Tsymbal TS. Patohenetychni markery u rozvytku diabetichnoi nefropatii u khvorykh na tsukrovyy diabet typu 1, yikh znachennia u rannii diahnostytsi ta

Клінічна та експериментальна патологія. 2017. Т.16, №4 (62)

optymizatsii likuvannia [Pathogenetic markers for the development of diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes mellitus, their importance in early diagnosis and optimization of treatment]. Endokrynolohiia. 2014;19(4):295-6. (in Ukrainian)

8. Shutskaia ZhV, Shakhmatova EI, Kuznetsova AA, Natochin YuV. Rol' pochek v reguliatsii osmolyal'nosti i konsentratsii kationov v syvorotke krovi pri giperglikemii [The role of the kidney in the regulation of osmolality and cation concentration in the blood serum for hyperglycemia]. Fiziologiya cheloveka. 2008;34(5):73-9. (in Russian).

9. Natochin YuV, Kuznetsova AA. Inkretornaya funktsiya pochki [The endocrine function of the kidney]. Uspekhi fiziolo-

gicheskikh nauk. 2010;41(3):28-43. (in Russian).

10. Hakim FA, Pflueger A. Role of oxidative stress in diabetic kidney disease. Med Sci Monit. 2010;16(2):RA37-48

11. Hamza AH, Al-Bishri WM, Damiati LA, Ahmed HH. Mesenchymal stem cells: a future experimental exploration for recession of diabetic nephropathy. Renal failure. 2017;39(1):67-76. doi: 10.1080/0886022X.2016.1244080.

12. Premaratne E, Verma S, Ekinci EI, Theverkalam G, Jerums G, MacIsaac RJ. The impact of hyperfiltration on the diabetic kidney. Diabetes Metab. 2015;41(1):5-17. doi: 10.1016/j.diabet.2014.10.003.

Відомості про авторів:

Грицюк Мар'яна Іванівна - к.мед.н., доцент, завідувач кафедри соціальної медицини та організації охорони здоров'я Вищого державного навчального закладу України "Буковинський державний медичний університет"

Сведения об авторах:

Грицюк Марьяна Ивановна - к.м.н., доцент, заведующий кафедрой социальной медицины и организации здравоохранения Высшего государственного учебного заведения Украины "Буковинский государственный медицинский университет",

Information about the authors:

Grytsiuk Maryana Ivanivna - Ph.D., Associate Professor, Head of the Department of Social Medicine and Public Health of the Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University"

Стаття надійшла до редакції 16.11.2017

Рецензент – проф. Ю.С. Роговий

© М.І. Грицюк, 2017