

МОНООКСИГЕНАЗНАЯ ФЕРМЕНТНАЯ СИСТЕМА ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА ГЕПАТОЦИТОВ В ДИНАМИКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НЕФРОЛИТИАЗА

Х.Я.КАРИМОВ, Д.С.ШАКИРОВ, Н.М.ЮЛДАШЕВ

Второй Ташкентский государственный медицинский институт,
Ташкентский государственный институт усовершенствования врачей

Изучено функционально-метаболическое состояние монооксигеназной ферментной системы (МОФС) печени в динамике экспериментального нефролитиаза у крыс. Показано, что ранние сроки нефролитиаза характеризуются повышением метаболической активности МОФС, сменяющимся резким ее угнетением в более отдаленные сроки патологии. При этом наблюдается повышенная функциональная активность МОФС печени. Содержание среднемoleкулярных пептидов, характеризующее степень эндогенной интоксикации, оставалось повышенным во все сроки исследования.

Монооксигеназная ферментная система (МОФС) гепатоцитов печени играет важную роль при поддержании скорости и направления метаболических и синтетических процессов в клетке [5]. Она является важнейшей защитной системой, предохраняющей организм от вредного воздействия различных микромoleкул экзогенного и эндогенного происхождения. МОФС является важнейшим фактором, обеспечивающим химический гомеостаз в организме [7]. Поэтому угнетение функции МОФС в целом является неблагоприятным фактором, играющим отрицательную патогенетическую роль в течении ряда патологий. Ознакомление литературой показало отсутствие данных о функционально-метаболическом состоянии данной системы при нефролитиазе. Известно, что нефролитиаз довольно широко распространен в нашей Республике и составляет 25-45% всех урологических болезней [4]. Более того, данная болезнь, являясь результатом нарушения обменных процессов, протекает с явными признаками интоксикации (сдвиг лейкоцитарной формулы влево, токсическая зернистость нейтрофилов, ускорение РОЭ, увеличение числа эозинофилов и т.д.).

Учитывая вышеизложенное целью настоящего исследования явилась оценка функционально-метаболического состояния МОФС в динамике экспериментального нефролитиаза у крыс.

Материал и методы исследования. Эксперименты проведены на 65 белых крысах - самцах массой 200-250 г. Экспериментальный нефролитиаз вызывали по Kumar S. и др., 1991 г. [10]. О функциональном состоянии почек судили по клубочковой фильтрации, реабсорбции и степени очищения от мочевины. Содержание креатинина и мочевины в сыворотке крови и в моче определяли с помощью тест-наборов фирмы «Lachema» (Чехия). О метаболическом состоянии печени судили по гексеналовому тесту (100 мг/кг массы, внутривенно). Функциональную активность микросом оценивали по скорости N-деметилирования амидопирина [8] и p-гидроксилирования анилина [2], для чего микросомальную фракцию печени выделяли дифференциальным центрифугированием на ультрацентрифуге Lp 7-55 фирмы "Beckman" (США). Содержание цитохромов P-450 и b₅ определяли на спектрофотометре "Hitachi-330" (Япония) [12]. Определяли содержание среднемoleкулярных пептидов (СМП) [8], содержание белка по Лоури [11]. Все полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с применением критерия t Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследований показали, что уже на 1-е сутки нефролитиаза наблюдается снижение клубочковой фильтрации, реабсорбции и коэффициента очищения от мочевины в сравнении с нормальными показателями соответственно на 58,7, 12,3 и 43,6% (табл. 1). На 7-е сутки от нормы отличалась только реабсорбция (снижение на 13,5%). Показатели клубочковой фильтрации и коэффициента

очищения от мочевины в данный срок исследования практически нормализовались. И, наконец, на 14-е сутки исследования показатели клубочковой фильтрации и реабсорбции понизились соответственно на 35,5 и 14,5%, тогда как коэффициент очищения от мочевины, наоборот, повысился на 58,5%.

Таблица 1

Клубочковая фильтрация, реабсорбция и коэффициент очищения от мочевины у крыс с нефролитиазом в динамике

Количество суток	Клубочковая фильтрация, мл/мин	Реабсорбция,	Коэффициент очищения от мочевины, мл/мин
НОРМА	$0,0366 \pm 0,0035$	$89,4 \pm 0,68$	$0,0094 \pm 0,0014$
НЛ 1-е сут	$0,0151 \pm 0,0018^{**}$	$78,4 \pm 0,42^{*}$	$0,0053 \pm 0,0005^{*}$
НЛ 7-е сут	$0,0314 \pm 0,0050$	$77,3 \pm 2,40^{*}$	$0,0099 \pm 0,0011$
НЛ 14-е сут	$0,0236 \pm 0,0010^{*}$	$76,4 \pm 1,10^{*}$	$0,0149 \pm 0,0013^{*}$

Примечание: * - $P < 0,05$ по сравнению с нормальным показателем. НЛ - нефролитиаз

Следовательно, экспериментальный нефролитиаз у крыс сопровождается выраженными нарушениями функционального состояния почек.

Результаты исследований показали, что экспериментальный нефролитиаз у крыс протекает усилением метаболического состояния МОФС печени в ранние сроки патологического процесса. Так, длительность гексеналового сна на 1-е сутки нефролитиаза оказалась сниженной на 21,7% от нормального показателя. Однако уже на 7-е сутки патологического процесса данный показатель превышал норму на 123,7%. На 14-е сутки длительность гексеналового сна была повышена от нормы на 104,0%.

Таким образом, в ранние сроки нефролитиаза наблюдается повышение метаболической активности МОФС, а в более отдаленные сроки, наоборот, - ее угнетение.

Биотрансформация гексенала происходит с участием монооксигеназных ферментов [13], и в дальнейшем нами изучалось функциональное состояние МОФС печени животных с нефролитиазом.

Таблица 2

Содержание и активность компонентов МОС печени крыс в динамике нефролитиаза

Количество суток	P-450, нмоль/мг бел	b ₅ , нмоль/мг бел	АГ, нмоль/мг*мин	АД, нмоль/мг*мин
НОРМА	$0,54 \pm 0,03$	$0,56 \pm 0,04$	$0,27 \pm 0,03$	$0,98 \pm 0,05$
1-е СУТКИ	$0,82 \pm 0,04^{*}$	$0,69 \pm 0,03^{*}$	$0,29 \pm 0,01$	$1,63 \pm 0,07^{*}$
7-е СУТКИ	$0,63 \pm 0,07$	$0,60 \pm 0,08$	$0,72 \pm 0,09^{*}$	$1,35 \pm 0,09^{*}$
14-е СУТКИ	$0,63 \pm 0,041$	$0,48 \pm 0,04$	$1,15 \pm 0,19^{*}$	$1,52 \pm 0,04^{*}$

Примечание: АГ - анилингидроксилаза, АД - амидопирин - N -деметилаза, * - $P < 0,05$ по сравнению с нормой.

Результаты исследований показали, что 1-е сутки нефролитиаза характеризуется повышением содержания микросомальных цитохромов. Так, содержание цитохрома P-450 и b₅ превышало нормальное значение на 51,9 и 23,2% соответственно (табл. 2). При этом

активность компонентов МОФС оставалась неизменной, только отмечалось повышение активности амидопирин-N-деметилазы на 66,3% от нормы.

Повышение содержания цитохрома Р-450 на 16,7% от нормы к 7-м суткам эксперимента оказалось статистически незначимым. В содержании цитохрома b_5 также существенных изменений от нормы не наблюдали. Однако активность МОФС резко повышалась. Так, в данный срок исследования активность анилингидроксилазы превышала норму на 166,7%, а - амидопирин-N-деметилазы на 37,8%

На 14-е сутки патологического процесса в содержании микросомальных цитохромов существенных изменений от предыдущего срока не наблюдали, тогда как их активность повышалась (активность анилингидроксилазы на 325,9% и активность амидопирин-N-деметилазы - на 55,1% от нормы).

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о повышении функциональной активности МОФС печени при нефролитиазе.

Повышение функциональной активности МОФС печени может быть результатом повышения содержания токсичных продуктов. Учитывая это нами была исследована степень эндогенной интоксикации, изучено содержание среднемолекулярных пептидов как в сыворотке, так и в моче животных с экспериментальным нефролитиазом в динамике.

Результаты исследований показали, что на 1-е сутки нефролитиаза наблюдается статистически значимое повышение содержания в сыворотке крови и в моче. Так, содержание СМП в сыворотке крови превышало норму на 37,8%, а в моче - на 40,2% (табл. 3). На 7-е сутки содержание СМП в сыворотке крови все еще оставалось выше нормы на 31,1%, а в моче, наоборот, снижалось по сравнению с нормой на 39,2%. На 14-е сутки патологического процесса в содержании СМП сыворотки крови существенных изменений от предыдущего срока исследования не выявили. Сниженное содержание СМП в моче на 27,8% оказалось статистически незначимым.

Таблица 3

Содержание среднемолекулярных пептидов в сыворотке крови и моче крыс с нефролитиазом в динамике

	Сыворотка крови	Моча
НОРМА	$0,270 \pm 0,010$	$2,09 \pm 0,16$
НЛ 1 сут	$0,372 \pm 0,012^*$	$2,93 \pm 0,35^*$
НЛ 7 сут	$0,354 \pm 0,004^*$	$1,27 \pm 0,11^*$
НЛ 14 сут	$0,349 \pm 0,006^*$	$1,51 \pm 0,30$

Примечание: * - $P < 0,05$ по сравнению с нормальным показателем.

Следовательно, по результатам исследований можно сделать вывод о существенной интоксикации организма, сопровождающей экспериментальный нефролитиаз.

Анализ содержания СМП в сыворотке крови и в моче и параллельное повышение их уровня в позволяет говорить об их эффективной экскреции в ранние сроки исследования. В более отдаленные сроки (7-е сутки), вероятно, за счет повреждения почечных канальцев СМП, эффективная экскреция угнетается, что приводит к сохранности повышенного содержания СМП в сыворотке крови. По-видимому, именно повреждение почечных канальцев приводит к дальнейшему ухудшению функционального состояния почек.

Как компенсаторная реакция в ответ на возникновение интоксикации в организме усиливается метаболическая функция печени. При этом в ранние сроки наблюдается полное совпадение ее с функциональным состоянием МОФС гепатоцитов. Однако в более отдаленные сроки исследования корреляция между двумя показателями начинает исчезать.

Это, вероятно, является результатом, нарушения процессов микроциркуляции [9] и, вследствие этого, застойных явлений. Известно, что фармакокинетика лекарственных средств в определенной мере зависит от состояния кровообращения [1].

Таким образом, полученные результаты показали, что при экспериментальном нефролитиазе наблюдается интенсификация моноксигеназных реакций с одновременным развитием интоксикации и снижением метаболической активности печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альберт А. Избирательная токсичность. - М., "Медицина". 1989. 1. 399 с
2. Арчаков А.И., Карузина И.И., Тверитинов В.Н., Кокарева И.О. Гидроокислирование производных анилина и аминоантипирина (1-фенил-2,3-диметиламинопиризолон-5) в эндоплазматическом ретикулеуме печени // Биохимия. 1975. 40. В.1. 32-39.
3. Габриэлян Н.Н., Левицкий Э.Р., Щербанова О.И. Гипотеза средних молекул в практике клинической нефрологии // Тер. архив. 1983. N 6. С. 76-78.
4. Исмаилов С.И., Насыров А.А., Узбеков К. К. Значение изучения кальций-фосфорного обмена у детей с мочекаменной болезнью // "Актуальные вопросы уроандрологии". Мат. конгресса урологов Казахстана. - Алматы. - 1995. С. 65.
5. Каримов Х.Я., Карабанович А.К., Хакимов З.З. Патофизиологические аспекты моноксигеназной системы. - Ташкент. 1994. 212 с.
6. Малашина О. А., Коровина Н. А. Сравнительная характеристика экскреции азотистых компонентов фосфолипидов при заболеваниях почек с вторичной оксалурией у детей // Урол. и нефр. 1987. N 1. С. 22 - 26.
7. Наджимутдинов К.Н. Моноксигеназная система: состоя-проблемы и перспективы изучения // Узбекистон тиббиёт журнали. 1997. N 11-12. Б. 10-12.
8. Попов П. Определение на пирамидонова-N-деметилаза в черния дробь на пльхове // Эксперим. мед. и морфология. 1973. 12. N 3. С. 130-135.
9. Юрьева Э. А. Повреждение клеточных мембран при заболеваниях почек у детей. Автореф. дисс... д. м. н. - М., 1979.
10. Kumar S., Sigmon D., Miller T., Carpenter B., Khan S., Malhotra R., Scheld C., Menon M. A new model of nephrolithiasis involving tubular dysfunction injury // J. Urol. 1991. 146. P. 1384 - 1389.
11. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randal R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. chem. 1951. 193. N 1. P. 265-275.
12. Omura T., Sato R. The carbon-monoxide binding pigment of liver microsomes. J. evidence for its hemoprotein nature // J. Biol. Chem. 1964. 239. P. 2370-2378.
13. Stewart D.J., Inaba T. N-demethylation of amidopyrine In vivo and the isolated hepatocyte of the rat. //Biochem. Pharmacol. 1979. 28. N 4. - P. 461-464.

MONOOXYGENASE ENZYME SYSTEM OF HEPATOCYTES ENDOPLASMIC RETICULUM IN DYNAMICS OF EXPERIMENTAL NEPHROLITHIASIS

KH.YA.KARIMOV, D.S.SHAKIROV, N.M.YULDASHEV

Second Tashkent State Medical Institute, Tashkent State Institute of Advanced Medical Studies

Functional-metabolic status of monooxygenase enzyme term (MOES) of the live in dynamics of experimental nephrolithiasis in rats has been investigated. Earlier terms of nephrolithiasis exhibited to be characterized by an increase of MOES metabolic activity, changing with its sharp inhibition in more distant terms of pathology. At the same time an increased functional activity of hepatic MOES was observed. Content of average molecular peptides terminating a grade of endogen intoxication remained increased in all terms of investigations.