

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ
ім. І.Я.ГОРБАЧЕВСЬКОГО**

СОПЕЛЬ ОЛЬГА МИКОЛАЇВНА

УДК 616.61-099:582:284-008.6]-08

**РОЛЬ ПОРУШЕНЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ
ПРОЦЕСІВ ТА ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ В
ПАТОГЕНЕЗІ УРАЖЕННЯ НИРОК
ОТРУТОЮ БІЛДОЇ ПОГАНКИ ТА
ЇХ КОРЕКЦІЯ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

1
2

Тернопіль – 2004

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Тернопільській державній медичній академії ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **Бондаренко Юрій Іванович**,
Тернопільська державна медична академія ім. І.Я.Горбачевського
МОЗ України, професор кафедри патологічної фізіології.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор **Мисула Ігор Романович**, Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського, завідувач кафедри фізіотерапії, медичної реабілітації та курортології

доктор медичних наук, професор **Заморський Ігор Іванович**, Буковинська державна медична академія, завідувач кафедри фармакології

Провідна установа:

Одеський державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології.

Захист відбудеться 24 грудня 2004 р. о 14.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 58.601.01 у Тернопільській державній медичній академії ім. І. Я.Горбачевського МОЗ України (46001, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Тернопільської державної медичної академії ім. І.Я.Горбачевського МОЗ України (46001, м. Тернопіль, вул. Руська, 12).

Автореферат розісланий 22 листопада 2004 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

доктор медичних наук, професор

Я.Я.Боднар

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. В останні роки в Україні відмічено зростання випадків отруєнь грибами, які за своїми негативними наслідками посідають провідне місце серед всіх харчових отруєнь небактеріального походження (Циганенко О.І., Матасар І.Т., Григор`єва Л.І., 1997, Бойчук Б.Р., Локай А.І., 1996, Фартушный А.Ф., Сухин А.П., Фартушная Е.А., 2000). Щороку від цих отруєнь вмирають люди працездатного віку та діти. Дослідження, які проводились в різних токсикологічних центрах країн СНД свідчать, що летальність від отруєнь грибами у дітей переважає смертність від отруєнь лікарськими засобами і сурогатами алкоголю (Бабенко О.В., Авхименко М.М., Агапов В.И., 2002). У багатьох регіонах нашої країни і за кордоном це зумовлено збільшенням кількості випадків отруєнь блідою поганкою (Курапов Е.П., Минина К.З., Ивашенко О.В. и др., 2000, Яковлева Л.М., 1999, Aji D.Y., Caliskan S., Nayir A., 1995, Alves A., Gouvêla Ferreira, Paulo M. et al., 2001, Gonmori K, Yoshioka N., 2003). Токсини блідої поганки належать до надзвичайно сильних отрут, а, враховуючи відсутність специфічних антидотів до них, лікування цих отруєнь залишається важливою проблемою.

Загальна токсичність гриба залежить від сумарного вмісту і групового співвідношення токсинів у ньому. При цьому потрібно також враховувати техногенне і хімічне навантаження на навколишнє середовище, що змінює хімічний склад грибів, викликає трансформаційні процеси і робить неможливим використання навіть їстівних грибів (Лужников Е.А., 1996). Характер і час клінічних проявів, тяжкість перебігу отруєнь коливається у широких межах (Бойчук Б.Р., 1997, Циганенко О.І., Матасар І.Т., Григор`єва Л.І., 1997)

У клініці гострого отруєння токсинами блідої поганки домінують ознаки порушення функції печінки і нирок, проте ниркова недостатність різного ступеня тяжкості спостерігається у всіх хворих. При аманітиновій інтоксикації ушкоджуються капіляри клубочків і епітеліальних клітин звивистих каналців нефрона навіть при невеликій кількості отрути, яка ще не викликає пошкодження печінки (Leathem A.M., Purssell R.A., Chan V.R., Kroeger P.D., 1997). При цьому важливого значення в патогенезі аманіта-фаллоїдинового ушкодження нирок надають пригніченню РНК-полімерази II клітин, прямій інгібуючій дії на активність уже синтезованих ферментів та непрямому впливі на ензимні системи через субстрати (Бабенко О.В., Авхименко М.М., Агапов В.И., 2002, Локай Б. А., 2000).

На основі аналізу публікацій вітчизняних і зарубіжних спеціалістів виявилось, що патогенетичні механізми ушкодження структурних компонентів нирок при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації вивчені недостатньо. Враховуючи той факт, що функціональна здатність нирок забезпечується транспортними цитомембранними процесами, актуальним є з'ясування ролі вільнорадикальних, мембранодестабілізуючих та інтоксикаційних факторів у розвитку уражень

гломерулярних і тубулярних елементів нефрона, що дозволить розробити засоби, спрямовані на підвищення їх стійкості до шкідливої дії отрути.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема дисертації затверджена вченою радою Тернопільської державної медичної академії ім. І.Я. Горбачевського 26.04.2001 року (протокол № 11). Дисертаційна робота є складовою частиною комплексної планової наукової міжкафедральної теми “Порушення метаболічних процесів в організмі тварин, уражених солями кадмію, отрутою блідої поганки та некрозогенними ксенобіотиками і способи їх детоксикації” (кафедр медичної хімії та загальної гігієни і екології людини) Тернопільської державної медичної академії ім. І.Я. Горбачевського (№ державної реєстрації 0101U001311), у виконанні якої автором самостійно проведено дослідження токсичного ураження нирок отрутою блідої поганки та його корекції за допомогою антиоксидантів, що викладено в матеріалах дисертації.

Мета дослідження. З'ясувати роль порушень вільнорадикальних процесів та факторів ендогенної інтоксикації в патогенезі токсичного ураження нирок отрутою блідої поганки і визначити ефективність металокомплексу гістидинату міді і тіотриазоліну в їх корекції.

Задачі дослідження:

1. Вивчити в динаміці розвитку аманіта-фаллоїдинового ушкодження нирок зміни активності вільнорадикальних процесів і маркерів ендогенної інтоксикації.
2. Дослідити в динаміці порушення екскреторної, іонорегулюючої, кислотовидільної функцій нирок за умов токсичного впливу аманіта-фаллоїдинів.
3. Встановити характер і прослідкувати на мікроскопічному та субмікроскопічному рівнях динаміку структурних ушкоджень нирок, які розвиваються в результаті дії отрути блідої поганки.
4. З'ясувати ефективність фармакологічної корекції структурно-функціональних порушень в нирках, активності вільнорадикальних процесів та показників ендогенної інтоксикації за допомогою антиоксиданта тіотриазоліну при токсичному впливі аманіта-фаллоїдинів.
5. Дослідити вплив металокомплексу гістидинату міді на структурно-функціональні зміни в нирках та активність вільнорадикальних процесів і рівень ендогенної інтоксикації в умовах аманіта-фаллоїдинового токсикозу.

Об'єкт дослідження: аманіта-фаллоїдиновий токсикоз.

Предмет дослідження: структурні і функціонально-детоксуючі компоненти нефрона, показники активності вільнорадикального окиснення, маркери ендогенної інтоксикації при аманіта-фаллоїдиновому отруєнні.

Методи дослідження: морфологічні (гістологічні та електронно мікроскопічні) – вивчення мікроструктури ушкодження елементів нирки; функціональні – дослідження екскреторної, іонорегулюючої, кислотовидільної функції нирок; біохімічні – дослідження вмісту продуктів

перекисного окиснення ліпідів, ступеня окиснювальної модифікації білків плазми крові (за вмістом альдегідо- та кетонпохідних білків нейтрального та основного характеру), інтенсивності утворення оксиду азоту (за вмістом нітрит аніону), ендогенної інтоксикації (за вмістом молекул середньої маси та еритроцитарним індексом інтоксикації), функціонального стану антиоксидантної системи (за активністю супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, рівнем церулоплазміну та SH-груп).

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше проведений за умов токсичного впливу аманіта-фаллоїдинів комплексний аналіз структурної організації компонентів нирки, основних функціональних параметрів, що характеризують їх екскреторну, іонорегулюючу і кислотовидільну здатність, активності вільнорадикального окиснення ліпідів і білків, а також антиоксидантної системи та рівня ендогенної інтоксикації. Встановлено патогенетичний зв'язок між рівнем продуктів пероксидації ліпідів, окисненомодифікованих білків, показниками ендогенної інтоксикації і розвитком дистрофічно-некротичного ураження гломерулярно-тубулярного апарата нирки при дії даної отрути. Вперше доведено, що аманіта-фаллоїдини пригнічують ферменти антиоксидантної системи, виводять із стаціонарного рівня вільнорадикальні процеси в клітинах з подальшим підсиленням окисної модифікації білків, утворенням токсичних продуктів пероксидації ліпідів. Вперше встановлено, що аманіта-фаллоїдини пригнічують утворення оксиду азоту в нирках, сприяючи розвитку в них ішемії. Вперше доведена ефективність гістидинату міді і тіотриазоліну при експериментальному ураженні нирок аманіта-фаллоїдиною отрутою. Показано, що дані препарати здатні стабілізувати вільнорадикальні процеси, поліпшувати функціональний стан системи антиоксидантного захисту, знижувати ступінь ендогенної інтоксикації та захищати гломерулярні і тубулярні структурні елементи нирки від ураження, що призводить до нормалізації фільтраційних, іонорегулюючих і кислотовидільних процесів.

Практичне значення одержаних результатів. Результати проведених досліджень розширюють і поглиблюють існуючі знання про механізми токсичного впливу аманіта-фаллоїдиною отрути блідої поганки на організм. Металокомплекс гістидинату міді та тіотриазолін, враховуючи їхню антиоксидантну дію, можуть бути рекомендовані для подальшого вивчення і можливого використання в наукових дослідженнях з метою попередження структурних, функціональних і метаболічних порушень в нирках при токсичному ураженні їх грибною отрутою.

Результати дослідження впроваджені у науковий та навчальний процеси на кафедрах патологічної фізіології, медичної хімії, фармакології, гістології з ембріологією, загальної гігієни і екології Тернопільської державної медичної академії ім. І.Я. Горбачевського, на кафедрах патологічної фізіології Буковинської державної медичної академії, Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця, Вінницького національного медичного університету ім.М.І.Пирогова, Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького,

Луганського державного медичного університету, Івано-Франківської державної медичної академії. За результатами досліджень отримано одне позитивне рішення про видачу деклараційного патенту на винахід “Спосіб визначення токсичної дії отрути блідої поганки”.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведені літературний і патентний пошуки за темою дисертації, результати проаналізовані і узагальнені в огляді літератури, сформульовано мету та визначено завдання для її досягнення, вибрано напрямки і методи дослідження, проведені морфологічні, функціональні і біохімічні дослідження, статистична обробка і науковий аналіз одержаних даних. Здобувачем особисто написано всі розділи дисертації, проведено аналіз та узагальнення результатів дослідження, сформульовано головні положення та висновки. Лабораторні дослідження виконані на базі центральної науково-дослідної лабораторії ТДМА (керівник – с.н.с. Лісничук Н.Є.) за консультативної допомоги співробітників лабораторії, за що автор висловлює щире подяку. Лабораторія сертифікована (атестат акредитації серія ЦНДЛ № 001488 від 3.10.2003р.)

Апробація результатів дисертації. Результати проведених досліджень та основні положення дисертації оприлюднені на III Національному конгресі анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів “Актуальні питання морфології” (Київ, 2002), Всеукраїнській науково-практичній конференції ”Довкілля і здоров’я” (Тернопіль, 2003), VII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2003), Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених “Актуальні проблеми клінічної, експериментальної, профілактичної медицини та стоматології”(Донецьк, 2003), XLVII підсумковій науково-практичній конференції “Здобутки клінічної і експериментальної медицини”, присвяченій 150-річчю з дня народження академіка І.Я. Горбачевського (Тернопіль, 2004), науковій конференції “III-тє читання ім. В.В.Підвисоцького” (Одеса, 2004), IV Національному конгресі патофізіологів України “Фундаментальні аспекти сучасної медицини” (Чернівці, 2004).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць, з них 4 – у фахових наукових виданнях, рекомендованих ВАК України, 7 – у матеріалах конференцій та конгресів, один деклараційний патент на винахід України.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 200 сторінках і складається із вступу, 8 розділів, висновків, рекомендацій щодо наукового і практичного використання здобутих результатів, списку використаних джерел літератури (всього – 259, із них 81 – іноземних) та додатків. Обсяг основного тексту дисертації викладений на 145 сторінках машинописного тексту, робота ілюстрована 51 таблицями та 23 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Експериментальні дослідження проведено на 274 нелінійних статевозрілих білих щурах-самцях масою 0,160-0,200 кг. Для вивчення впливу аманіта-фаллоїдинового токсину на нирки щурів попередньо було встановлено токсичність блідої поганки (екстракту гриба), ступінь токсичності оцінювали за летальністю отруєних тварин. Досліджено лікувальну ефективність тіотриазоліну та гістидинату міді, дію яких оцінювали за смертністю та тривалістю життя отруєних тварин. Вивчено механізм дії токсинів блідої поганки на нирки та кров, а також проведено корекцію виявлених змін тіотриазоліном і гістидинатом міді.

Отруєння щурів здійснювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням екстракту блідої поганки, отриманого за методом Н. Wieland, R. Hallermayer (1941). Зібрану в лісах Тернопільської області, бліду поганку очищали у день збору від домішок, потім під проточною водою гриби промивали та гомогенізували в електроподрібнювачі. До гомогенату додавали метанол у ваговому співвідношенні 1:30 (гриби : метанол), кип'ятили 30 хв, фільтрували за допомогою водоструменевої помпи. В послідуєчому метанол випаровували до отримання маслянистої краплі, яку суспензували ізотонічним розчином натрію хлориду з таким розрахунком, щоб доза токсину, що вводиться, містилась в 1 мл. Хроматографічним дослідженням підтверджували відсутність метанолу в робочому розчині екстракту.

При розрахунках летальних доз виходили із сухої маси грибів. Для цього частину грибів з кожного збору сушили до постійної маси (вміст води в грибах коливався від 93 % до 97 % від сирої маси). Токсичність отрути блідої поганки визначали за методом Кербера (М.Л. Біленький, 1963). Корекції порушень виявлених метаболічних змін проводили за допомогою препарату тіотриазоліну і металокомплексу гістидинату міді.

Тіотриазолін (хімічна назва – морфоліній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат; емпірична формула $C_5H_{17}N_3O_2S-C_4H_9NO$) вводили в дозі 100 мг/кг маси тіла, внутрішньом'язово, один раз на добу, починаючи з першої доби експерименту і до кінця періоду спостережень. Металокомплекс гістидинату міді вводили внутрішньошлунково в дозі 0,94 мг/кг (біотична доза міді в організмі) (Кубант Р.М., 2001) за аналогічною до тіотриазоліну схемою. Металокомплекс синтезовано на кафедрі медичної хімії Тернопільської державної медичної академії з гістидину та гідроксиду міді, які брали в еквімолярних концентраціях.

Піддослідні тварини були поділені на такі групи: 1-ша група - контроль; 2-га група – уражені отрутою блідої поганки в дозі ЛД₅₀; 3-тя група - тварини, які після введення екстракту блідої поганки в дозі ЛД₅₀ одержували тіотриазолін; 4-та група – тварини, які після введення екстракту блідої поганки в дозі ЛД₅₀, одержували гістидинат міді.

Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації їх під тіопенталовим наркозом з наступним вилученням нирок та забором крові. Дослідження проводили на 6, 24 та 72 год з

моменту введення екстракту блідої поганки. Експерименти на тваринах проводили у відповідності з правилами Європейської конвенції про гуманітарне відношення до лабораторних тварин.

Для гістологічних досліджень препарати фарбували гематоксилином-еозином і документували за допомогою мікроскопа МБД-6, для електронномікроскопічних досліджень - ультратонкі зрізи нирок забарвлювали 1 % водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю, згідно методу Рейнольдса, та фотодокументували в електронному мікроскопі ЕМВ-100ЛМ.

Функціональний стан нирок у піддослідних щурів оцінювали за умов водного навантаження. Для вивчення індукованого діурезу водопровідну воду в кількості 5% від маси тіла за допомогою металевого зонду вводили щурам внутрішньошлунково з наступним збором сечі впродовж 2-х годин. Діяльність судинно-клубочкового апарату, проксимального і дистального каналцевих відділів нефрона оцінювали кліренс-методом .

1

Екскреторну функцію нирок вивчали за показниками діурезу, швидкістю клубочкової фільтрації, концентрацією креатиніну в плазмі крові та сечі, екскрецією білка. Іонорегулюючу функцію нирок оцінювали за показниками ниркового транспорту натрію і калію. Вивчали концентрацію в сечі та екскрецію електролітів, абсолютну і відносну реабсорбцію іонів натрію, концентраційний індекс катіону, фільтраційний заряд натрію, проксимальний і дистальний транспорт натрію та кліренс безнатрієвої води. Кислотовидільну функцію нирок оцінювали за змінами рН сечі, виділення титрованих кислот, аміаку. Концентрацію іонів натрію і калію в сечі та плазмі крові визначали методом полуменевої фотометрії на “ФПЛ-1”, креатиніну – за реакцією з пікриною кислотою (С.І.Рябов, Ю.В.Наточин,1977) з реєстрацією показників екстинції на фотоколориметрі “КФК-2” і спектрофотометрі “СФ-46” (С.І.Рябов, Ю.В.Наточин,1997), білка у сечі – сульфациловим методом (А.І.Міхєєва, І.А. Богодарова,1969), дослідження концентрації в сечі титрованих кислот і аміаку проводили титриметрично (С.І.Рябов, Ю.В.Наточин,1997). Для стандартизації показників функціонального стану нирок абсолютні їх величини перераховували на 0,1 кг маси тіла або на 100 мкл клубочкового фільтрату.

Вміст дієнових кон'югатів (ДК) визначали за методом В.Б.Гаврилова, М.І.Мишкорудної (1983), малонового діальдегіду (МДА) - І.Д. Стальної, Т.Г. Гаріашвілі (1977). Визначення активності супероксиддисмутази (СОД) досліджували методом С. Чеварі (1985), каталази (КТ) – спектрофотометрично за методом М.А.Королюк та співав. (1984), глутатіонпероксидази (ГП) за методом Мецишина (1987), вміст SH-груп за методом Elmana G.L (1959). Ступінь окиснювальної модифікації білків (ОМБ) визначали за методом І.Ф.Мецишина (1998). Інтенсивність утворення NO оцінювали за кількістю в гомогенаті нирок і сироватці крові його метаболіту нітрит-аніону (NO₂⁻) (Green L.C. et al., 1959), ступінь ендогенної інтоксикації визначали за методом

А.В.Тогарбаєва (1988), та рівнем молекул середньої маси (МСМ) в плазмі крові, який визначали за методикою В.О.Оськіна (1987).

Статистичну обробку отриманих результатів досліджень із визначенням середньої арифметичної величини (М) та середньоквадратичного відхилення (m), критерію Стьюдента (t), показника достовірності (P), коефіцієнта кореляції (r) проводили на персональному комп'ютері "Pentium III". Результати досліджень нагромаджені в базі даних і оброблені статистично в "Excel - 2002".

Результати дослідження та їх обговорення.

Результати проведених нами досліджень свідчать про значні зміни процесів вільнорадикального окиснення, ендогенної інтоксикації та структурно-функціонального стану нирок під впливом отрути блідої поганки.

Інтоксикація аманіта-фаллоїдиновим токсином супроводжувалася вираженою інтенсифікацією процесів ліпопероксидації. Максимальні зміни вмісту дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду як в нирках, так і в крові щурів спостерігалися на 24 год після введення отрути блідої поганки. При цьому концентрація ДК у нирках зростала в 3,2 рази, а МДА - в 3,7 рази порівнянно з інтактними тваринами ($P < 0,001$).

Відомо, що у організмі постійно утворюються активні форми кисню (АФК), які здатні започатковувати вільнорадикальні реакції, пошкоджуючи при цьому клітинні мембрани (Дубинина Е.Е., Шугалей І.В., 1993). Під дією різних несприятливих факторів їх рівень змінюється і вони можуть спричинювати окиснювальну деструкцію не тільки ліпідів, а й білків. Наші дослідження показали, що при отруєнні блідою поганкою ступінь окисненомодифікованих білків зростає, свідченням цього є підвищення вмісту альдегідо- та кетоніпохідних білків як основного, так і нейтрального характеру у плазмі крові уражених тварин. Так, рівень альдегідо- і кетоніпохідних білків нейтрального характеру (ОМБ₃₇₀) в 1,4 рази збільшився порівняно з контролем вже на 6-у год експерименту, в 1,44 рази - на 24-у год і в 1,36 рази - на 72-у годину. Вміст альдегідо- і кетоніпохідних білків основного характеру (ОМБ₄₃₀) підвищився порівняно з нормою на 6-у год в 1,17 рази, на 24-у год - в 1,21 рази, на 72-у год - в 1,18 рази.

Поряд з тим, нами виявлено різке зниження активності СОД у нирках тварин, уражених отрутою блідої поганки, яка становила на 6 год 48,3 %, на 24 год – 15,5%, на 72 год - 22,4 %, у порівнянні з контрольними тваринами. Аналогічна спрямованість змін даного показника спостерігалася і в крові отруєних щурів. Про тісний взаємозв'язок між вмістом АФК і активністю СОД свідчать коефіцієнти кореляції ($r = -0,71$ та $r = -0,74$), отримані нами при аналізі показників ОМБ нейтрального та основного характеру і активності СОД на 24 год, коли найбільший вміст досліджуваних білків співпадав з найнижчою активністю ферменту. Таку ж зворотню залежність виявлено між інтенсивністю ПОЛ, а саме, вмістом МДА, та активністю супероксиддисмутази ($r = -$

0,74). Зниження активності СОД можна пояснити ще і тим, що отрута блідої поганки безпосередньо пригнічує активність цього ферменту, внаслідок чого активуються процеси ПОЛ, утворюється пероксид водню, який виступає також інгібітором ферменту. При цьому активність каталази становила лише 43,2 % від норми, хоча значне зниження активності цього ферменту відмічалось і на 6 год, і на 72 год отруєння (відповідно 48,0 % та 46,6 % від рівня інтактних). Так як під дією отрути блідої поганки, згідно даних (Бойчук Б.Р., 1998), може бути дегрануляція ендоплазматичної сітки та зменшення кількості рибосом, які відповідають за утворення ферменту, то це може бути однією з причин зниження активності КТ в нирках при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації. Крім цього, як і інші металопротеїни, фермент може піддаватися окиснювальній модифікації АФК. Якщо порівняти показники ОМБ та активність КТ, (для альдегідо- та кетоніоходних основного характеру $r=-0,77$), то можна виявити між ними зворотну залежність, що може свідчити про важливу роль цього процесу в зниженні ферментативної активності каталази.

Під впливом отрути блідої поганки в нирках та крові уражених тварин знижувалась активність ферментного компоненту глутатіонової системи - глутатіонпероксидази і неферментного – сульфгідрильних груп. Найбільш значні зміни ми спостерігали на 24 год після введення аманіта-фаллоїдинів. При цьому вміст SH-груп у нирках зменшувався в 1,4 рази, а в крові - в 1,7 рази. Активність ГП знижувалась у нирках у 2,5 рази, а в крові – у 4,1 рази. Головну причину пригнічення активності ГП за токсичного ураження організму дослідники бачать у деструктивному порушенні мембран ендоплазматичної сітки і рибосом, що призводить до пригнічення синтезу ферменту.

Отже, наведені дані, свідчать, що у патогенезі ураження нирок аманіта-фаллоїдиновими токсинами важливу роль відіграють зміни з боку антиоксидантної системи.

В сироватці крові уражених блідою поганкою тварин виявлено підвищення вмісту нітрит-аніону. При цьому найбільші зміни спостерігалися через 24 год після введення щурам отрути (у 4,9 рази більше, ніж в контролі). До кінця експерименту відмічалось збільшення NO_2^- у 2,5 рази. Збільшення вмісту метаболіту оксиду азоту в крові тварин під дією аманіта-фаллоїдинового токсину може бути зумовлено активацією NO – синтазної системи. У гомогенаті нирок уражених щурів відмічалось зниження вмісту нітрит-аніону порівнянно з контролем на 48,7 % (6 год), на 83,9 % (24 год), на 75,8 %. (72 год).

Наші дослідження свідчать про розвиток під впливом аманіта-фаллоїдинових токсинів синдрому ендогенної інтоксикації у тварин. В отруєних щурів вміст молекул середньої маси значно збільшувався протягом усього експерименту, що вказує на посилення катаболічних процесів. Максимальні значення обох складових МСМ відмічено на 24-у год досліджень. Одночасно із збільшенням у крові тварин, отруєних блідою поганкою, вмісту молекул середньої

маси зростав і сумарний токсичний вплив на мембрани еритроцитів, який проявлявся в значному підвищенні еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІ) у всі періоди спостереження (табл.1). Оскільки, еритроцитарні мембрани розглядають як прототип плазматичних мембран всіх клітин організму, то підвищення їх проникності, можна вважати загальним проявом токсичності для мембран клітин нирок у тому числі (табл.1).

Таблиця 1

Динаміка показників ендogenousної інтоксикації в сироватці крові щурів, уражених отрутою блідої поганки ($M \pm m$; n = 6)

Показник	Групи тварин			
	контрольні	уражені, терміни після отруєння, год		
		6	24	72
СМ ₁ , ум.од.	0,256±0,015	0,565±0,047 P<0,001	0,726±0,069 P<0,001	0,614±0,058 P<0,001
СМ ₂ , ум.од.	0,139±0,007	0,352±0,016 P<0,001	0,527±0,051 P<0,001	0,434±0,039 P<0,001
ЕІ, %	35,40±0,81	70,70±3,99 P<0,001	82,43±4,38 P<0,001	73,65±3,42 P<0,001

Примітка: P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками

Ураження щурів отрутою блідої поганки супроводжувалися глибокими змінами функціонального стану нирок (табл.2). Порушення екскреторної функції нирок проявлялося в істотному зниженні діурезу, гальмуванні швидкості клубочкової фільтрації, ретенційній азотемії, протеїнурії. На 6 год після введення аманіта-фаллоїдинового токсину рівень форсованого діурезу зменшився в 1,7 рази, на 24 год – у 2,7 рази, на 72 год – у 2,4 рази (P<0,001). Значне зниження клубочкової фільтрації відбувалося, очевидно, як за рахунок гемодинамічних порушень в нирці, так і органічних змін, викликаних прямою дією аманіта-фаллоїдинів, що підтверджується проведеними нами морфологічними дослідженнями. Концентрація креатиніну в плазмі крові при цьому збільшилась у 2,1 рази. Екскреція білка зростає у 7,0 разів через 6 год після введення отрути блідої поганки, у 13,7 рази – через 24 год, у 8,6 рази – через 72 год, що вказує на значне пошкодження гломерулярного фільтру та проксимального відділу нефрона.

Концентрація іонів натрію в сечі максимально зростала на 42,3 % за рахунок високої екскреції, яка у 5,37 рази перевищувала контрольні дані. Це приводило до порушення натрієвого гомеостазу. Внаслідок значного пошкодження гломерулярного фільтру та реакції нирок на гіпонатріємію різко знижувався фільтраційний заряд іонів натрію (у 6 разів). Незважаючи на низьке фільтраційне завантаження нефронів, при дії отрути блідої поганки спостерігалось різке зниження абсолютної

реабсорбції іонів натрію (на 83,43 %). Суттєво зменшувалась стандартизована за об'ємом клубочкової фільтрації проксимальна реабсорбція іонів натрію, тоді як дистальна реабсорбція цього катіону збільшувалась в 1,8 рази. Таким чином, мало місце порушення механізмів каналцево-каналцевого балансу. Свій патогенетичний вплив на проксимальний відділ нефрона аманіта-фаллоїдиновий токсин, очевидно, здійснює за рахунок прямої блокади $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ -ази та сукцинатдегідрогенази (Власик Л.І, 2000).

Виявлені зміни біохімічних показників при отруєнні токсином блідої поганки поєднувалися з виразними структурними змінами в епітеліоцитах проксимальних звивистих каналців, а саме руйнуванням мікрворсинок на апікальній поверхні клітин та зниженням активного транспорту речовин через базальну поверхню клітин. Про останнє свідчило зменшення тут числа і глибини інвагінації плазмолемми та пошкодження мітохондрій, що могло призвести до погіршення енергетичного забезпечення активного транспорту.

Кислотовидільна функція нирок характеризувалася зниженням екскреції титрованих кислот та аміаку. Отже, пригнічення ацидо- і амоніогенезу, яке ми виявили, вказує на порушення отрутою блідої поганки секреторних процесів проксимальних і дистальних звивистих каналців. При цьому протягом усього експерименту спостерігалось збільшення амонійного коефіцієнту (на 58,2 % на 24 год і на 125 % на 72 год), що свідчить про переважання в структурі ниркового кислотовиділення процесів амоніогенезу. Екскреція іонів водню зменшувалась.

Таким чином, результати наших досліджень показали, що нефротоксичний ефект аманіта-фаллоїдинового токсину проявляється на рівні клубочків, проксимальних та дистальних каналців, де він активує механізми тубуло-гломерулярного зворотнього зв'язку і викликає розвиток ретенційної азотемії. Крім того, має місце порушення механізмів каналцево-каналцевого балансу.

Таблиця 2

Характеристика змін функціонального стану нирок у щурів за умов дії отрути блідої поганки ($M \pm m$; n = 6)

Показник	Групи тварин			
	контрольні	уражені, терміни після отруєння, год		
		6	24	72
Діурез мл/год	1,93±0,09	1,14±0,10 P<0,001	0,71±0,04 P<0,001	0,79±0,05 P<0,001
Екскреція калію, мкмоль/год	17,81±1,68	28,67±2,77 P<0,01	26,14±1,26 P<0,05	21,22±1,61 P>0,05

Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	52,37±2,54	79,59±4,92 P<0,05	108,25±6,83 P<0,001	92,33±4,28 P<0,001
Екскреція креатиніну, мкмоль/год	1,26±0,04	0,70±0,07 P<0,001	0,38±0,02 P<0,001	0,43±0,04 P<0,05
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/год	24,37±1,60	9,06±1,26 P<0,001	3,59±0,31 P<0,001	4,73±0,49 P<0,001
Екскреція білка, мг/100мл КФ	0,177±0,018	1,235±0,120 p<0,001	2,429±0,106 P<0,001	1,523±0,123 P<0,001
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	1,04±0,16	2,16 ±0,10 P<0,001	2,26 ±0,10 P<0,001	2,52 ±0,11 P<0,001
Екскреція іонів натрію мкмоль/100мл КФ	0,008±0,001	0,028±0,002 P<0,001	0,045±0,003 P<0,001	0,043±0,003 P<0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100мл КФ	13,00±0,14	11,40±0,26 P<0,01	10,18±0,13 P<0,001	9,85±0,13 P<0,001
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100мл КФ	1,12±0,05	1,70±0,14 P<0,05	2,53±0,18 P<0,001	1,99±0,09 P<0,001

Примітка: P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками.

Для корекції виявлених порушень вільнорадикальних процесів та ендогенної інтоксикації, викликаних введенням екстракту блідої поганки, ми обрали два препарати, які є водорозчинними антиоксидантами. Саме ця їх властивість дозволяла очікувати антиоксидантний ефект не лише на рівні внутрішньосудинного та інтерстиціального просторів, але й внутрішньоклітинного. Згідно отриманих нами результатів досліджень, обидва препарати здатні коригувати порушення процесів вільнорадикального окиснення та морфофункціонального стану нирок при їх ураженні отрутою блідої поганки.

При введенні тіотриазоліну та гістидинату міді щурам, ураженим аманіта-фаллоїдиновим токсином, нами виявлено зниження інтенсивності реакцій вільнорадикального окиснення, про що свідчило зниження у крові та гомогенаті нирок вмісту проміжного (ДК) та прикінцевого (МДА) продуктів ПОЛ. При цьому тіотриазолін більше знижував концентрацію ДК, а металокомплекс більше впливав на рівень МДА. Введення тіотриазоліну та гістидинату міді тваринам, отруєним екстрактом блідої поганки, сприяло значній нормалізації показників антиоксидантного захисту (значуще зростала активність СОД, нормалізувалась активність каталази, глутатіотпероксидази та вміст сульфгідрильних груп в нирках та в крові щурів).

Відновлення під впливом тіотриазоліну активності антиоксидних ферментів і вмісту SH-груп, можливо, зумовлено його здатністю відновлювати функції мітохондріальних мембран, що сприяє

посиленому утворенню АТФ, необхідної для біосинтезу білків, вмісту SH-груп. Механізм антиоксидантної активності тіотриазоліну реалізується нормалізуючим впливом на мікросомальні монооксидази, ферменти кон'югації та ферментні фактори антиоксидантного захисту організму (Дроговоз С.М., Сальникова С.І., 2001). Металокомплекс гістидинату міді більше, ніж тіотриазолін нормалізував активність СОД, вміст SH-груп та церулоплазміну. Такий позитивний вплив металокомплексу, на нашу думку, пов'язаний з вираженими антиоксидантними властивостями препарату.

Тіотриазолін та гістидинат міді мали здатність інгібувати активовані процеси вільнорадикального окиснення не лише ліпідів, але й білків, про що у наших дослідженнях свідчило зниження в плазмі крові лікованих тварин рівня окисненомодифікованих білків, порівняно з нелікованими. Антиоксидантна активність тіотриазоліну реалізується шляхом взаємодії електронної хмари п'ятичленного циклу з вільними радикалами та утворення неактивних продуктів або продуктів, швидкість рекомбінації яких набагато менша від швидкості перебігу ланцюгових вільнорадикальних реакцій (Білоус І.І., Мещишен І.Ф., 2003). Кожна система, яка утворює пероксид водню і відновлює Fe^{3+} в Fe^{2+} або Cu^{2+} в Cu^{+} , може викликати вибірккову окиснювальну модифікацію білків, які мають металозв'язувальну ділянку (Кубант Р.М., 2001). Тому ефективність застосованого металокомплексу щодо нормалізації окиснювальної модифікації білків в уражених тварин, можна пов'язати із здатністю міді брати участь в регуляції окисно-відновних процесів за рахунок зміни валентності. Зокрема, мідь у складі цитохромоксидази має відношення до відновлення кисню в дихальному ланцюгу, і, як наслідок цього, під впливом гістидинату міді відбувається гальмування вільнорадикального і підсилення енергозабезпечувального окиснення в мітохондріях.

Згідно отриманих нами даних, під впливом гістидинату міді та тіотриазоліну вміст стабільного метаболіту оксиду азоту – нітрит-аніону (NO_2^-) в сироватці крові отруєних щурів достовірно знижувався порівняно з нелікованими тваринами. У гомогенаті нирок на 72 год експерименту вміст нітрит-аніону в лікованих тіотриазоліном щурів збільшився в 1,5 рази, а при застосуванні металокомплексу - у 2,3 рази, порівняно з нелікованими, хоча повної нормалізації показника не відбувалося. Згідно даних Bankir L., Kriz W., Goligorsky M. et al., (1998), у результаті активації NO цитозольної гуанілатциклази гладенькомязових клітин судин та подальшої її дії на циклічний гуанілатмонофосфат досягається вазодилатація, що мабуть і відбувалося під впливом використаних нами середників в отруєних блідою поганкою тварин.

Крім того, введення як тіотриазоліну, так і гістидинату міді, суттєво знижувало вміст ланцюгових (CM_1) та ароматичних амінокислот (CM_2) у середньомолекулярних пептидах та продуктах їх розпаду в організмі лікованих тварин, що вказує на зниження під впливом даних антиоксидантів катаболічних процесів, викликаних аманіта-фаллоїдиновим токсином (табл.3).

Зниження ступеня ендогенної інтоксикації під впливом тіотриазоліну відбувається за рахунок мембраностабілізуючої здатності препарату. Застосування металокомплексу також суттєво понижувало ЕП в отруєних щурів в усі періоди експерименту. Таким чином, гістидинат міді зменшував вираженість токсичного синдрому.

Таблиця 3

Вплив тіотриазоліну та гістидинату міді на зміни показників ендогенної інтоксикації в сироватці крові щурів, уражених отрутою білої поганки ($M \pm m$; $n = 6$)

Показники	Групи тварин		Терміни після отруєння, год		
			6	24	72
СМ ₁ , ум.од.	контрольні		0,256±0,015		
	уражені		0,565±0,047 P<0,001	0,726±0,069 P<0,001	0,614±0,058 P<0,001
	ліковані	тіотриазолін	0,467±0,021 P<0,001, P ₁ <0,01	0,396±0,013 P<0,001, P ₁ <0,001	0,316±0,015 P<0,05, P ₁ <0,001
		гістидинат Cu	0,348±0,009 P<0,01, P ₁ <0,001	0,336±0,01 P<0,01, P ₁ <0,001	0,292±0,009 P ₁ <0,001
СМ ₂ , ум.од.	контрольні		0,139±0,007		
	уражені		0,352±0,016 P<0,001	0,527±0,051 P<0,001	0,434±0,039 P<0,001
	ліковані	тіотриазолін	0,218±0,003 P<0,001, P ₁ <0,001	0,293±0,02 P<0,001, P ₁ <0,01	0,195±0,012 P<0,01, P ₁ <0,001
		гістидинат Cu	0,206±0,015 P<0,01, P ₁ <0,001	0,264±0,011 P<0,001, P ₁ <0,01	0,161±0,006 P<0,05, P ₁ <0,001
ЕП, %	контрольні		35,40±0,81		
	уражені		70,70±3,99 P<0,001	82,43±4,38 P<0,001	73,65±3,42 P<0,001
	ліковані	тіотриазолін	53,60±2,49 P<0,001, P ₁ <0,01	66,70±2,99 P<0,001, P ₁ <0,01	40,00±2,30 P ₁ <0,001
		гістидинат Cu	48,80±3,03 P<0,01, P ₁ <0,001	57,90±3,40 P<0,001, P ₁ <0,01	37,60±2,81 P ₁ <0,001

Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контролем

2. P₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими

Під впливом тіотриазоліну підвищувався діурез в 1,9 рази порівняно з групою нелікованих тварин за рахунок зростання (у 3 рази) швидкості клубочкової фільтрації. Наближалася до норми

концентрація креатиніну в плазмі крові, екскреція іонів калію, екскреція білка, стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату, знижувалась у 3 рази.

Тіотриазолін проявляв коригуючий вплив на іонорегулюючу функцію нирок. Екскреція іонів натрію знижувалася в 3,3 рази, порівняно з групою контрольних тварин, що вказувало на відновлення процесів реабсорбції цього катіону в каналцях нефрона. Підвищувалася на 13,3 % концентрація іонів натрію в плазмі крові. Внаслідок зростання процесу фільтрації в клубочках фільтраційний заряд іонів натрію збільшувався в 3,4 рази і в 3,4 рази зростала абсолютна реабсорбція іонів натрію, що вказувало на покращення процесу каналцево-каналцевого балансу. Значно активувався проксимальний транспорт цього катіону і дещо менше – дистальний. Кислотовидільна функція нирок повністю не відновлювалася після введення тіотриазоліну. Хоча величина рН сечі знижувалась і наближалась до норми, екскреція аміаку і амонійний коефіцієнт залишалися підвищеними, а рівень екскреції титрованих кислот зниженим.

Отже, тіотриазолін позитивно впливає на відновлення екскреторної та іонорегулюючої функцій, хоча не забезпечує повної корекції порушених функцій нирок. Отримані нами результати досліджень співпадають з даними літератури (Мерзляк С.В., 1999, Піняжко О.Р., Кайдашев І.П., Стець О.В., 1997, Стець О.В., Піняжко О.Р. 1998) про захисну дію тіотриазоліну при токсичних ураженнях нирок.

Таким чином, введення тіотриазоліну тваринам на фоні аманіта-фаллоїдинової інтоксикації значною мірою перешкоджає розвитку патологічного процесу в нирках, відновлює функціональні властивості, проявляє антиоксидантну, мембраностабілізуючу, антицитолітичну дії.

Застосування гістидинату міді дало позитивні результати при дослідженні функціонального стану нирок тварин, уражених аманіта-фаллоїдиновим токсином. Зокрема, значно відновлювалася екскреторна функція нирок. Це проявлялося підвищенням рівня діурезу в 1,8 рази порівняно з групою нелікованих тварин за рахунок зростання у 3,5 рази швидкості клубочкової фільтрації. Під впливом гістидинату міді в отруєних щурів зменшилась на 40 % концентрація креатиніну в плазмі крові, а в сечі – збільшилась на 20,5 %. Екскреція білка зменшилась в 4,6 рази. Щоправда після проведеної корекції вона залишалася вищою від контрольних величин в 1,9 рази, що вказувало на неповне відновлення функції ниркових клубочків.

Гістидинат міді проявляв дещо більший коригуючий вплив на іонорегулюючу функцію нирок, ніж тіотриазолін. Екскреція іонів натрію знижувалася в 4,3 рази, порівняно з групою нелікованих тварин, що вказувало на відновлення процесів реабсорбції цього катіону в каналцях нефрона. Під дією металокомплексу в отруєних щурів концентрація іонів натрію в плазмі підвищилася на 16 %. Внаслідок зростання процесу фільтрації в клубочках фільтраційний заряд іонів натрію збільшувався в 4,1 рази, в 4,6 рази активувався проксимальний і в 2,1 рази дистальний транспорт цього катіону. Металокомплекс гістидинату міді дещо менше впливав на

кислотовидільну функцію нирок в порівнянні з тіотриазоліном. Екскреція титрованих кислот при цьому підвищувалась у 2,3 рази, а екскреція аміаку зростала в 1,6 рази. Зростала екскреція іонів водню, а амонійний коефіцієнт зменшувався на 28,4 %.

Нами вперше виявлено, що гістидинат міді має позитивний коригуючий вплив на функцію нирок при отруєнні блідою поганкою. Отже, застосування амінокислот та їх металокомплексів є перспективним методом терапії екзотоксикозів (Гонський Я.І., Гранківська С.С., Михалків М.М., 2002, Гонський Я.І., Кубант Р.М., 2001).

Проведені нами гістологічні та електронномікроскопічні дослідження показали, що тіотриазолін та гістидинат міді здійснюють стабілізуючий вплив на плазматичні та внутрішньоклітинні мембрани гломерулярного та каналцевого відділів нефрона. Покращується структурна організація компонентів нефрогематичного бар'єру (ендотелію та подоцитів, базальної мембрани), а також епітеліоцитів тубулярного апарату.

Таким чином, отримані нами результати свідчать, що аманіта-фаллоїдинові токсини викликає порушення екскреторної, іонорегулюючої і кислотовидільної функцій нирки з розвитком дистрофічно-некротичного ураження гломерулярно-тубулярного апарату. Отрута блідої поганки пригнічує ферменти антиоксидантної системи, виводить із стаціонарного рівня вільнорадикальні процеси в клітинах з подальшим підсиленням окисної модифікації білків і утворенням токсичних продуктів пероксидації ліпідів та ще більшою інактивацією ферментів. Отрута, ймовірно, блокує в нирках NO-синтазну систему, утворення оксиду азоту, сприяючи розвитку в них ішемії.

Використання тіотриазоліну та гістидинату міді з метою корекції виявлених порушень сприяє певній нормалізації виявлених змін в організмі уражених тварин. На основі одержаних результатів можна стверджувати, що обидва запропоновані нами середники можуть бути рекомендовані для подальшого вивчення і можливого використання з метою попередження структурних, функціональних і метаболічних порушень в нирках при токсичному ураженні їх грибною отрутою, що супроводжується активацією вільнорадикальних та мембранодеструктивних процесів.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової задачі, яка полягає у з'ясуванні ролі вільнорадикальних процесів і факторів ендогенної інтоксикації в розвитку токсичного ураження нирок отрутою блідої поганки. Отримані експериментальні дані свідчать про доцільність використання при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації антиоксидантних та мембраностабілізуючих засобів здатних підвищувати стійкість клубочково-тубулярного апарату до дії отрути.

У результаті вирішення наукового завдання зроблено наступні наукові та прикладні висновки:

1. Отрута блідої поганки дестабілізує процеси вільнорадикального окиснення в організмі тварин, внаслідок чого в нирках підвищується вміст продуктів пероксидації ліпідів (дієнових кон'югатів – у 4 рази ($P < 0,001$), і малонового діальдегіду – у 2,8 рази, $P < 0,001$) та ступінь окисненомодифікованих білків (в 1,4 рази, $P < 0,01$). Максимальна активність процесів спостерігається на 24 годину токсичного впливу отрути.

2. Активація процесів вільнорадикального окиснення при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації розвивається внаслідок пригнічення в нирках ферментів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази (15,5 % від норми), каталази (43,2 % від норми), глутатіонпероксидази (39,9 % від норми), зниження вмісту SH-груп (на 60 %).

3. В міру розвитку аманіта-фаллоїдинової інтоксикації в організмі тварин значно зростають показники ендогенної інтоксикації, що проявляється підвищенням вмісту в крові та нирках молекул середньої маси, (CM_1 – у 2,8 рази, CM_2 – у 3,8 рази) які відображають вміси ланцюгових та ароматичних амінокислот у середньо молекулярних пептидах та продуктах їх розпаду, підвищенням еритроцитарного індекса інтоксикації, як показника сумарного токсичного впливу на мембрани.

4. Токсини блідої поганки пригнічують утворення в нирках (на 83,9 %, $P < 0,001$) вмісту метаболіту оксиду азоту – нітрит аніону (NO_2^-), що сприяє розвитку ішемії і зниженню фільтраційної здатності. Поряд з цим відбувається підвищення в крові (у 4,9 рази, $P < 0,001$) вмісту NO_2^- , що може сприяти зниженню судинного тонуусу і погіршенню мікроциркуляції.

5. Ушкодження отрутою блідої поганки нирок на рівні клубочків, проксимальних і дистальних канальців та активація тубуло-гломерулярного зворотнього зв'язку призводить до зниження швидкості клубочкової фільтрації і підвищення концентрації в плазмі крові креатиніну. Найбільш виражений нефротоксичний ефект аманіта-фаллоїдинового токсину з порушенням екскреторної, іонорегулюючої та кислотовидільної функцій нирок розвивається на 24 годину інтоксикації.

6. Аманіта-фаллоїдини блідої поганки викликають дистрофічно-некротичне ураження гломерулярно-тубулярного апарату нирок щурів, яке виявляється на 6 годину і максимально проявляється на 24-72 години інтоксикації. Отрута дестабілізує клітинні та внутрішньоклітинні мембрани клубочково-канальцевого апарату нирок.

7. Антиоксиданти тіотриазолін і гістидинат міді сприяють значній нормалізації процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і білків, вмісту нітрит-аніону (NO_2^-) в нирках та крові, знижують вираженість ендогенної інтоксикації.

8. Під впливом тіотриазоліну та металокомплексу гістидинату міді покращуються і наближуються до контрольних величин показники фільтраційної, екскреторної, іонорегулюючої і кислотовидільної функції нирок. Тварини краще переносять критичний 24 год період інтоксикації. В результаті підвищується діурез, зростає швидкість клубочкової фільтрації, концентраційна

здатність сечі, знижується екскреція іонів натрію, білка і підвищується проксимальна їх реабсорбція, покращується каналцевий транспорт натрію, екскреція титрованих кислот, аміаку.

9. Застосування при ураженні тварин отрутою блідої поганки тіотриазоліну, гістидинату міді сприяє збереженню всіх структурних компонентів фільтраційного бар'єру каналцевого апарату нефронів у щурів. Більш виражений лікувальний ефект проявляє гістидинат міді, який помітно покращує структурну організацію компонентів нефрогематичного бар'єру (ендотелію- та подоцитів, базальної мембрани), а також епітеліоцитів тубулярного апарату (особливо виразно – проксимальних каналців). У всіх зазначених елементах нефронів краще зберігаються клітинні та внутрішньоклітинні мембрани.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО НАУКОВОГО І ПРАКТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ ЗДОБУТИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

1. Враховуючи виражену антиоксидантну активність металокомплексу гістидинату міді, вважати доцільним його подальше вивчення з метою визначення можливості корекції біохімічних порушень при активації вільнорадикальних та мембранодеструктивних процесів.

2. Дослідження показників вмісту окисненомодифікованих білків та метаболіту оксиду азоту – нітрит-аніону можна вважати додатковим діагностичним критерієм для оцінки тяжкості перебігу токсичного ураження нирок аманіта-фаллоїдинами.

3. Використовувати результати проведених досліджень в навчальному процесі при викладанні патологічної фізіології, фармакології, патологічної анатомії і гістології, токсикології.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Сопель О.М. Порушення процесів перекисного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації білків у нирках та крові при отруєнні блідою поганкою // Медична хімія. - 2004. - Т. 6, № 2. - С. 77-80.
2. Сопель О.М. Вплив тіотриазоліну на процеси перекисного окислення ліпідів, білків та стан антиоксидантної системи в крові і нирках при аманіта-фаллоїдиновому отруєнні // Науковий вісник Ужгородського університету; серія "Медицина". - 2004. - Вип. 23. - С. 32-36.
3. Сопель О.М. Вплив тіотриазоліну на зміни вмісту в крові і нирках оксиду азоту при отруєнні блідою поганкою // Вісник наукових досліджень - 2004. - № 2 (35). - С. 25-26.
4. Сопель О.М. Характеристика нефротоксичного впливу аманіта-фаллоїдинового токсину // Клінічна та експериментальна патологія. - 2004. - Т. 3, № 2. – С. 448-449.
5. Деклараційний патент на винахід 68998 А, Україна, А61В10/00, А61К31/38, G09В23/28. Спосіб визначення цитотоксичної дії отрути блідої поганки / О.М.Сопель, Ю.І.Бондаренко, В.В.Дем'яненко № 20031110631; Заявл. 25.11.03; Опубл. 16.08.04. Бюл. № 8 – 3 с.

- (Дисертантом самостійно здійснено патентний пошук, розроблено схему експерименту, проведено експериментальні дослідження, підготовлено матеріали до друку).
6. Сопель О.М., Бойчук Б.Р. Морфо-функціональні зміни нирок при аманіта-фаллоїдиновому отруєнні. // Наукові праці III Національного конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів “Актуальні питання морфології”. – Київ, 2002.- С. 297-298. (Дисертантом самостійно здійснено експериментальні дослідження, статистична обробка даних, підготовлено матеріали до друку).
 7. Бойчук Б.Р, Кондратюк В.А., Сопель О.М. Отруєння шапинковими грибами – екологічна небезпека сьогодення // Екологічний вісник - 2002. - № 3-4. - С. 15. (Дисертантом самостійно здійснено літературний огляд, статистична обробка даних, підготовлено матеріали до друку).
 8. Сопель О.М., Бондаренко Ю.І. Корекція тіотриазоліном ендогенної інтоксикації при аманіта-фаллоїдиновому ураженні // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції ”Довкілля і здоров’я”. –Тернопіль: Укрмедкнига, 2003. - С.129-130. (Дисертантом самостійно здійснено експериментальні дослідження, статистична обробка даних, підготовлено матеріали до друку).
 9. Сопель О.М. Вплив тіотриазоліну на функціональний стан нирок при отруєнні блідою поганкою. // Матеріали VII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2003 – С.211.
 10. Сопель О.М. Вплив отрути блідої поганки на функціональний стан нирок // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених "Актуальні проблеми клінічної, експериментальної, профілактичної медицини та стоматології". - Донецьк, 2003. - С.153.
 11. Бондаренко Ю.І., Сопель О.М. Вплив гістидинату міді на показники ендогенної інтоксикації при отруєнні блідою поганкою // Тези доповідей наукової конференції “III-тє читання ім. В.В.Підвисоцького”.- Одеса, 2004 - С. 22-23. (Дисертантом самостійно здійснено експериментальні дослідження, статистична обробка даних, підготовлено матеріали до друку).
 12. Гонський Я.І., Сопель О.М. Вплив металокомплексу гістидинату міді на активність вільнорадикальних процесів у крові і нирках щурів при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. - 2004. -№ 1(3). - С. 26-28. (Дисертантом самостійно здійснено експериментальні дослідження, статистична обробка даних, підготовлено матеріали до друку).

АНОТАЦІЯ

Сопель О.М. Роль порушень вільнорадикальних процесів та ендогенної інтоксикації у патогенезі ураження нирок отрутою блідої поганки та їх корекція. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Тернопільська державна медична академія ім. І.Я.Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2004.

Дисертацію присвячено вивченню в нирках і крові процесів вільнорадикального окиснення, антиоксидантної системи, системи оксиду азоту, маркерів ендогенної інтоксикації при дії на організм токсинів блідої поганки, а також корекції виявлених змін з допомогою антиоксиданта тіотриазоліну та металокомплексу гістидинату міді.

В роботі проведено експериментальне та теоретичне обґрунтування впливу отрути блідої поганки на порушення екскреторної, іонорегулюючої та кислотовидільної функцій нирок. Вперше встановлено патогенетичний зв'язок між рівнем продуктів пероксидації ліпідів, окисненомодифікованих білків, активністю ферментів антиоксидантної системи, показниками ендогенної інтоксикації і розвитком дистрофічно-некротичного ураження гломерулярно-тубулярного апарату нирок при дії отрути блідої поганки. Встановлено, що аманіта-фаллоїдини пригнічують утворення оксиду азоту в нирках, сприяючи розвитку в них ішемії.

Виявлено ефективне використання гістидинату міді і тіотриазоліну при експериментальному ураженні нирок аманіта-фаллоїдиною отрутою. Показано, що дані препарати здатні стабілізувати вільнорадикальні процеси, покращувати функціональний стан системи антиоксидантного захисту, знижувати ступінь ендогенної інтоксикації та захищати гломерулярні і тубулярні структурні елементи нирки від ураження, що призводить до нормалізації фільтраційних, іонорегулюючих і кислотовидільних процесів.

Ключові слова: нирки, аманіта-фаллоїдинові токсини, вільнорадикальне окиснення, ендогенна інтоксикація, окисненомодифіковані білки, тіотриазолін, гістидинат міді, бліда поганка.

АННОТАЦИЯ

Сопель О.Н. Роль нарушений свободнорадикальных процессов и эндогенной интоксикации в патогенезе поражения почек ядом бледной поганки и их коррекция. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Тернопольская государственная медицинская академия им. И.Я.Горбачевского МЗО Украины, Тернополь, 2004.

Работа посвящена изучению в почках и крови свободнорадикальных процессов, антиоксидантной системы, системы окиси азота, маркеров эндогенной интоксикации в условиях

воздействия токсинов бледной поганки на организм, а также коррекции нарушений их с помощью антиоксиданта тиотриазолина и металлокомплекса гистидината меди.

В результате экспериментальных исследований на белых крысах установлено, что после введения экстракта бледной поганки в дозе LD₅₀ в гомогенате почек и плазме на 6-е, 24-е, 72-е сутки значительно увеличивается концентрация продуктов перекисного окисления липидов – диеновых конъюгатов и малонового диальдегида. Вместе с тем, в эти же сроки резко угнетается активность ферментов антиоксидантной системы – супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, снижается содержание глутатиона, но увеличивается в плазме крови концентрация церулоплазмينا. В этих условиях в плазме крови увеличивается содержание альдегидо- и кетонпроизводных белков нейтрального и основного характера, что свидетельствует об усилении окислительной модификации белков. При сопоставлении показателей перекисного окисления липидов с показателями окислительной модификации белков наблюдается однонаправленность изменений, свидетельствующая о взаимосвязи двух процессов в патогенезе патологических изменений. Усматривается, что основной первопричиной установленных сдвигов является угнетение аманита-фаллоидинами активности ферментов первой линии антиоксидантной защиты. Воздействуя, по-разному, на ферменты NO-синтазной системы, аманита-фаллоидины повышали содержание в крови метаболита окиси азота – нитрит-аниона (NO₂⁻), в то же время в почках они существенно его снижали. Отражением усиления катаболических процессов и нарастания уровня эндогенной интоксикации при отравлении бледной поганкой явилось увеличение концентрации в крови молекул средней массы, особенно ароматических аминокислот в среднемoleкулярных пептидах, а увеличение эритроцитарного индекса интоксикации – общим проявлением повышенной проницаемости клеточных мембран.

Нарушение экскреторной, ионорегулирующей и кислотовыделительной функций почек при аманита-фаллоидиновой интоксикации характеризовались значительным снижением диуреза, скорости клубочковой фильтрации, экскреции креатинина и увеличением экскреции ионов натрия, калия, белков. При этом наблюдалось нарушение проксимальной и дистальной реабсорбции ионов натрия. Нарушение кислотовыделительной функций почек проявлялось снижением ацидо- и аммионогенеза. В конечном итоге возникает дистрофически-некротическое поражение гломерулярно-тубулярного аппарата почек с повреждением фильтрационного барьера, проксимальных и дистальных канальцев, которое максимально проявляется на 24-72 часы интоксикации. При этом происходит дестабилизация клеточных и внутриклеточных мембранных комплексов канальцевого аппарата почек.

Введение животным на фоне аманита-фаллоидиновой интоксикации антиоксиданта тиотриазолина и металлокомплекса гистидината меди способствует нормализации процессов свободнорадикального окисления липидов и белков, содержания нитрит-аниона в почках и крови.

активации ферментов антиоксидантной защиты, снижению уровня эндогенной интоксикации. При этом улучшаются показатели фильтрационной, экскреторной, ионорегулирующей и кислотовыделительной функции почек. В результате повышается экскреция натрия, белка, улучшается канальцевый транспорт натрия, экскреция титрованных кислот, аммиака. Антиоксиданты способствуют сохранению всех структурных компонентов фильтрационного барьера, канальцевого аппарата нефронов. Более выраженный лечебный эффект проявляет гистидинат меди, который заметно улучшает структурную организацию эндотелиоцитов и подоцитов, базальной мембраны, эпителиоцитов тубулярного аппарата, лучше сохраняет клеточные мембраны.

Ключевые слова: свободнорадикальное окисление, аманита-фаллоидины, эндогенная интоксикация, окислительная модификация белков, почки, бледная поганка.

ANNOTATION

Sopel O. M. The role of disturbances of free radical processes and endogenic intoxication in the pathogenesis of kidney damage amanita-phalloides poison and their correction. – Manuscript.

Thesis for obtaining the scientific degree of Candidate of Medical Science in speciality 14.03.04 – Pathological Physiology, I.Ya.Horbachevsky Ternopil State Medical Academy MH of Ukraine, Ternopil, 2004.

The dissertation is devoted to the studying of the free radical processes, antioxidant system, nitric oxide system, endogenic intoxication markers in the blood and kidneys under the influence of amanita-phalloides poison and the correction of the detected biochemical changes by means of antioxidant thiotriazolinum and metallic complex cuprohistidinate.

The experimental and theoretical substantiation of the influence of amanita-phalloides poison on the disturbance of excretory, ion regulating and acidexcreting functions of the kidney has been performed. It was first time that the pathogenic correlation between the level of lipid peroxidation products, oxidemodificative proteins level and antioxidant enzymes system activity, endogenic intoxication indices and the development of dystrophy-necrotic damage of glomerulo-tubular system of the kidney under the influence of amanita-phalloides poison has been determined.

The effectiveness of use of thiotriazolinum and cuprohistidinate for experimental amanita-phalloides poisoning treatment was found. It has been demonstrated that these drugs have the ability to stabilize free radical processes, improve the functional condition of antioxidant protection system, decrease the endogenic intoxication level and protect glomerular and tubular kidney structures of from damage, which lead to normalization of filtration, ion regulation and acidexcretion processes.

Key words: kidneys, amanita-phalloides toxin, free radical oxidation, endogenic intoxication, thiotriazolinum, metallic complex cuprohistidinate.