

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

На правах рукопису

СОПЕЛЬ ОЛЬГА МИКОЛАЇВНА

УДК 616.61-099:582:284-008.6]-08

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

14.03.04 – патологічна фізіологія

ДИСЕРТАЦІЯ

на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Науковий керівник
Бондаренко Юрій Іванович
доктор медичних наук,
професор

Тернопіль – 2004

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень.....	6
ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ТОКСИЧНОСТІ І МЕХАНІЗМІВ ДІЇ ОТРУТИ БЛІДОЇ ПОГАНКИ (огляд літератури)	13
1.1. Поширеність отруєння шапинковими грибами	13
1.2. Хімічний склад та механізми дії отрути блідої поганки.....	14
1.3. Сучасні погляди на нефротоксичність отрути блідої поганки..	17
1.4. Роль порушень перекисного окиснення ліпідів, окисненомодифікованих білків та антиоксидантного захисту при ураженні нирок.....	19
1.5. Роль оксиду азоту в патогенезі ураження нирок.....	27
1.6. Методи корекції токсичного ураження нирок.....	31
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	34
2.1. Характеристика піддослідних тварин, токсину блідої поганки та апробованих препаратів.....	34
2.2. Методи визначення активності процесів вільнорадикального окиснення та функціонального стану антиоксидантної системи.....	36
2.2.1. Визначення вмісту малонового діальдегіду.....	36
2.2.2. Визначення вмісту дієнових кон'югатів.....	36
2.2.3. Визначення активності супероксиддисмутази.....	37
2.2.4. Визначення активності каталази.....	37
2.2.5. Визначення активності глутатіонпероксидази.....	38
2.2.6. Визначення вмісту SH-груп.....	38
2.2.7. Визначення вмісту церулоплазміну.....	38
2.2.8. Визначення ступеня окиснювальної модифікації білків.....	38

2.2.9.	Визначення інтенсивності утворення оксиду азоту.....	39
2.3.	Визначення ступеня ендогенної інтоксикації.....	39
2.4.	Методи дослідження морфофункціонального стану нирок.....	39
РОЗДІЛ 3. ТОКСИЧНІСТЬ ОТРУТИ БЛІДОЇ ПОГАНКИ ТА		
	СКРИНІНГ ДОСЛІДЖУВАНИХ ПРЕПАРАТІВ.....	43
3.1.	Токсичність отрути блідої поганки.....	43
3.2.	Скринінг лікувального ефекту тіотриазоліну і гістидинату міді при отруєнні блідою поганкою.....	45
РОЗДІЛ 4. ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ		
	ПРОЦЕСІВ ТА ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ В КРОВІ ТА	
	НИРКАХ ТВАРИН, УРАЖЕНИХ ОТРУТОЮ БЛІДОЇ	
	ПОГАНКИ.....	47
4.1.	Зміни активності процесів перекисного окиснення ліпідів та стану антиоксидантної системи в крові і нирках тварин при отруєнні блідою поганкою.....	47
4.2.	Вплив отрути блідої поганки на процеси вільнорадикального окиснення білків плазми крові щурів.....	52
4.3.	Роль оксиду азоту в ураженні нирок отрутою блідої поганки.....	54
4.4.	Вплив отрути блідої поганки на стан ендогенної інтоксикації в отруєних щурів.....	55
РОЗДІЛ 5 ДИНАМІКА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ І СТРУКТУРНИХ		
	ПОРУШЕНЬ В ПРОЦЕСІ РОЗВИТКУ ТОКСИЧНОГО	
	УРАЖЕННЯ НИРОК АМАНІТА-ФАЛЛОЇДИНОВИМИ	
	ТОКСИНАМИ.....	59
5.1.	Функціональні зміни в нирках при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації.....	59
5.2.	Морфологічні зміни в нирках при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації.....	70

РОЗДІЛ 6	ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ НА ПОРУШЕННЯ ВІЛЬНО-РАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ, РОЗВИТОК ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНО-СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В НИРКАХ ТВАРИН, ОТРУЄНИХ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ.....	80
6.1.	Корекція тіотриазоліном змін показників перекисного окиснення ліпідів та стану антиоксидантної системи у тварин при отруєнні блідою поганкою.....	80
6.2.	Вплив тіотриазоліну на процеси вільнорадикального окиснення білків плазми крові при дії аманіта-фаллоїдинового токсину.....	87
6.3.	Вплив тіотриазоліну на рівень метаболітів NO в плазмі крові і нирках уражених отрутою блідої поганки щурів.....	88
6.4.	Корекція тіотриазоліном показників ендogenous інтоксикації в щурів за умов дії аманіта-фаллоїдинів.....	90
6.5.	Вплив тіотриазоліну на функціональний стан нирок щурів, уражених отрутою блідої поганки.....	92
6.6.	Вплив тіотриазоліну та морфологічні зміни в нирках щурів, уражених отрутою блідої поганки.....	104
РОЗДІЛ 7.	ВПЛИВ МЕТАЛОКОМПЛЕКСУ ГІСТИДИНАТУ МІДІ НА ПОРУШЕННЯ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ, РОЗВИТОК ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНО-СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В НИРКАХ ТВАРИН, ОТРУЄНИХ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ.....	109
7.1.	Вплив гістидинату міді на активність процесів перекисного окиснення ліпідів та стану антиоксидантної системи у тварин при отруєнні блідою поганкою.....	109
7.2.	Вплив гістидинату міді на процеси вільнорадикального окиснення білків плазми крові щурів при дії аманіта-фаллоїдинів.....	116

7.3	Вплив гістидинату міді на рівень метаболітів NO в плазмі крові і нирках уражених отрутою блідої поганки щурів.....	118
7.4.	Корекція гістидинатом міді показників ендогенної інтоксикації в щурів за умов дії аманіта-фаллоїдинів.....	120
7.5	Вплив гістидинату міді на функціональний стан нирок щурів, уражених отрутою блідої поганки.....	122
7.6	Вплив гістидинату міді на морфологічні зміни в нирках щурів, уражених аманіта-фаллоїдинами.....	134
РОЗДІЛ 8. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ		141
ВИСНОВКИ.....		159
РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО НАУКОВОГО ТА ПРАКТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ ЗДОБУТИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....		162
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....		163
ДОДАТКИ.....		189

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АОС – антиоксидантна система
АФК – активні форми кисню
ВРО – вільнорадикальне окиснення
ВР – вільні радикали
ГП - глутатіонпероксидаза
ДК– дієнові кон'югати
ЕІ – ендогенна інтоксикація
ЕІІ – еритроцитарний індекс інтоксикації
КТ- каталаза
МДА – малоновий діальдегід
МСМ – молекули середньої маси
NO – оксид азоту
ОМБ – окиснювальна модифікація білків
ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів
СОД – супероксиддисмутаза
ум.од. – умовні одиниці
ЦП- церулоплазмін

ВСТУП

В останні роки в Україні відмічено зростання випадків отруєнь грибами, які за своїми негативними наслідками посідають провідне місце серед усіх харчових отруєнь небактеріального походження [19, 158, 163]. 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 [6]. У багатьох регіонах нашої країни і за кордоном це зумовлено збільшенням кількості випадків отруєнь блідою поганкою [85, 178, 179, 181, 215]. Токсини блідої поганки належать до надзвичайно сильних отрут, а тому лікування отруєнь цими грибами 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 [92]. Характер і час клінічних проявів, тяжкість перебігу отруєнь коливається у широких межах [15, 163].

Актуальність теми. У клініці гострого отруєння токсинами блідої поганки домінують ознаки порушення функції печінки і нирок, але ниркова недостатність різного ступеня тяжкості спостерігається у всіх хворих [66, 178, 191, 206, 234, 241, 256]. При аманітиновій інтоксикації ушкоджуються капіляри клубочків і епітеліальних клітин звивистих каналців нефрона навіть при невеликій кількості отрути, яка ще не викликає пошкодження печінки [241]. 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 впливу на ензимні системи через субстрати [6, 90].

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 і 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. Відповідно до мети було поставлено такі основні завдання:

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-детоксикуючі компоненти нефрона, показники вільнорадикального окиснення, маркери ендогенної інтоксикації при аманіта-фаллоїдиновому отруєнні.

Методи дослідження. З метою реалізації завдань дослідження були використані такі методи: 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 кетоніпохідних 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, окиснено-модифікованих 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 впровадженні 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. Автором особисто написано всі розділи дисертації, проведено аналіз та узагальнення результатів дослідження, сформульовано головні положення та висновки.

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), IV Національному конгресі патофізіологів України “Фундаментальні аспекти сучасної медицини” (Чернівці, 2004). Дисертація пройшла апробацію 14 травня 2004 р. на спільному засіданні кафедр патологічної фізіології, загальної гігієни та екології, нормальної фізіології, фармакології, медичної хімії, патологічної анатомії, гістології, цитології і ембріології, фізіотерапії, медичної реабілітації та курортології, факультетської терапії з ендокринологією Тернопільської державної медичної академії ім. І.Я. Горбачевського.

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

РОЗДІЛ 1
ХАРАКТЕРИСТИКА ТОКСИЧНОСТІ І МЕХАНІЗМІВ ДІЇ
ОТРУТИ БЛІДОЇ ПОГАНКИ
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Поширеність отруєння шапинковими грибами

Серед 2500 різновидів грибів, що ростуть на території Європи [15, 160, 191], існує близько 200 видів потенційно отруйних [163, 172]. За даними МОЗ України кількість отруйних грибів, поширених на території нашої країни, становить близько 80 видів, особливо небезпечні з них – до 25-ти видів. Кількість їстівних грибів сягає 500 видів, проте широко відома населенню лише незначна їх частина – близько 100 видів. Однак незнання видів грибів, неправильне зберігання і технологія приготування призводять до тяжких, часом смертельних отруєнь [109, 159, 177]. Виділяють чотири групи отруйних грибів: гастроентеротропні, нейротропні, гепатонєфротропні і психотропні [17, 19, 95, 109, 127]. На основі аналізу клінічних спостережень в Україні найчастіші і найбільш небезпечні отруєння зумовлені вживанням грибів, що відносяться до третьої групи – гепатонєфротропних, а саме блідою поганкою, строчками звичайними та ін. Отруєння цими грибами характеризуються найбільш тяжким перебігом захворювання, розвитком гострої печінково-ниркової недостатності, високою летальністю, особливо серед дітей [6, 77].

Бліду поганку помилково вживають в їжу замість таких їстівних грибів, як печериця та сирійжка [13, 55, 172]. Згідно з літературними даними [12, 159, 160, 178, 179], смертельні отруєння блідою поганкою константують в 50-90 % випадків, на відміну від інших отруєнь неїстівними грибами – мухомором червоним (2-3%), строчками (24–33%) [6, 15].

В Європі щорічно реєструється близько 10000 отруєнь грибами, летальність складає від 1 до 6 %. Тільки в Німеччині щороку гине більше ста осіб від отруєнь блідою поганкою [91].

Статистичні дослідження, проведені в різних токсикологічних центрах Росії та країн СНД, показали, що на отруєння грибами дітей припадає найбільша кількість летальних випадків, у порівнянні навіть з отруєннями ліками та сурогатами алкоголю [6, 96, 177]. Так, у Донецьку летальність при отруєнні грибами в 2002-2003 роках становила 8,5-1,5 %, а в Харкові в 2000 році – 4,5 %.

Щорічно на території України реєструються випадки гострих отруєнь грибами, з найбільшою частотою в липні - вересні. За тяжкістю клінічного перебігу ці отруєння займають провідне місце серед усіх небактеріальних харчових отруєнь [19, 246].

Ситуація, що склалася останнім часом в Україні через отруєння населення дикорослими грибами, залишається загрозливою. Зокрема, згідно офіційних даних МОЗ України, у 2000 році отруїлося 2235 осіб, в тому числі 750 дітей. Для 111 наших громадян, включаючи 27 дітей, ці “дари природи” виявилися смертельними. У 2002 році кількість випадків отруєння неїстівними грибами становила 1397 осіб, в тому числі 293 дитини, з них летальні – 108, у дітей – 29. У більшості трагічних випадків причиною нещастя є помилкове вживання отруйних грибів, зокрема блідої поганки замість їстівних.

Отруйність грибів зумовлюється наявністю в них токсичних речовин. Висвітленню даного питання присвячений наступний розділ огляду літератури.

1.2. Хімічний склад та механізм дії отрути блідої поганки

Бліда поганка, яка належить до пластинчатих грибів - абсолютно смертельний гриб [193]. Токсичність блідої поганки (зеленої, білої та жовтої) зумовлена наявністю в ній отруйних речовин: швидкодіючих – фаллотоксинів (фаллоїдин, фаллоїн, профаллоїн, фаллізин, фаллацин, фаллісацин, фаллін), та повільнодіючих, але в 20 разів більш отруйних, ніж перші – аманітатоксинів (альфа-, бета-, гама-, епсилон-аланітини, амалін, аманулін, аманулінова кислота і промануліїн). Грибні нуклеополімерази – циклопептиди - є похідними індолу з

молекулярною масою близько 1000 [12, 15, 90]. О.В. Бабенко і співавт. [6] серед основних токсинів блідої поганки називають аманітини, фаллоїдини та гемолізін.

Фаллотоксини – це група токсинів, які мають подібний хімічний склад і будову, але вони відрізняються лише боковими ланцюгами і є дериватами лейцину, що у гама-положенні містять гідроксильну групу-ОН. За даними Г.Могоша [108] лише фаллін – теплонестійка речовина, що руйнується при температурі 70 °С. Тому при кулінарній обробці гриба цей токсин втрачає свою гемолітичну дію. Кількісно і якісно найбільш важливим токсином із всієї цієї групи є фаллоїдин.

Вчені вважають [15], що токсична дія фаллотоксинів залежить від наявності атома S, який зв'язує індольне кільце із зовнішнім кільцем. При розриві сірчаного містка чи одного з пептидних кілець фаллоїдинів зникає їх токсичність. Але скорочення бокового ланцюга до кетогрупи зберігає токсичність фаллоїдинів.

Експериментально встановлено, що фаллоїдин з крові в тканини проникає за допомогою переносника [253], акумулюється переважно в гепатоцитах, спричинюючи зменшення вмісту холестерину і збільшення концентрації фосфоліпідів плазматичних оболонок, пошкоджує внутрішньоцитоплазматичні органели. У людей фаллоїдин викликає шлунково-кишкові розлади та уражує клітини печінки [6]. При електронно-мікроскопічному дослідженні гепатоцитів щурів, отруєних фаллоїдином, виявлено вогнища некрозу цитоплазми, зумовлені звільненням гідролаз через оболонку аутолітичних вакуолей, набуханням ендоплазматичного ретикулуму, руйнуванням лізосом і пошкодженням мікросом [18]. Встановлено, що фаллоїдини пригнічують окислювальне фосфорилування, синтез глікогену, викликають падіння рівня АТФ [6], а фаллолізін має гемолітичну дію [66].

Згідно з даними [246, 253, 257], фаллоїдин стабілізує агреговану форму актину, тобто порушує рівновагу глобулярного G- актину і фібрилярного F- актину, і тим самим незворотно руйнує гепатоцити.

За хімічною будовою аманітатоксини – біциклічні октапептиди. Вся група включає 8 токсинів. Вони мають спільну основу, що містить індольне кільце в системі кільце з тіоловим містком (група O=S-), а бокові ланцюги є дериватами ізoleyцину. Першим і найбільш токсичним із всієї групи є альфа-аманітин, летальна доза якого для людини становить 0,1 мг/кг [6].

Наявність гідроксильної групи-OH на дериватах ізoleyцину є дуже важливою для прояву токсичного ефекту аманітатоксинів. За винятком амануліну, аманулінової кислоти та проамануліну, які не містять групи-OH у своїй будові, всі інші представники цієї групи відносяться до категорії сильнодіючих отрут [257].

Аманітатоксини найбільше пошкоджують клітини з високою швидкістю білкового синтезу – клітини печінки та нирок. Ці токсини діють на ядерні субстанції, знижують синтез РНК та ДНК шляхом інгібування ядерно-цитоплазматичної РНК-полімерази II, в результаті чого розвивається аутоліз клітин [6, 90]. За даними різних авторів [191, 234, 241, 249, 256] при аманітиновій інтоксикації, крім печінки, уражуються нирки. Згідно з даними літератури [249], після внутрішньоочеревинного введення мишам альфа-аманітину спостерігав ранні зміни в ядрцях нефроцитів, а на 3-й день інтоксикації – некроз епітеліальних клітин звивистих каналців. На його думку, через низьку молекулярну масу, аманітини мають більш високу концентрацію у клітинах звивистих каналців, ніж у будь-якій іншій частині нефрона. Тому навіть невелика кількість отрути, яка ще не викликає пошкодження печінки, спричиняє утворення некрозів у нирках. Іншими авторами також встановлено вибіркочу пошкоджувальну дію альфа-аманітину на проксимальний відділ ниркових каналців [66].

За даними літератури [6, 15], в 100 г свіжої тканини блідої поганки (5 г сухих) міститься 10 мг фаллоїдину, 8 мг альфа-аманітину, 5 мг бета-аманітину, 0,5 мг гама-аманітину. Вважається, що такої кількості гриба достатньо, щоб спричинити смертельне отруєння у 10 людей.

Токсини білої поганки зараховано до надзвичайно токсичних отрут. Вони термостабільні, стійкі до висушування і дії ферментів шлунково-кишкового тракту, швидко всмоктуються в ШКТ [159]. Стійкість токсинів білої поганки зумовлює тривалий термін знаходження їх в організмі. Виділення отруйних речовин гриба з людського організму, згідно з літературними даними [96,159], продовжується протягом 60-70 годин.

1.3. Сучасні погляди на нефротоксичність отрути білої поганки

Одним із органів, що забезпечує гомеостаз організму є нирки. Тому дія різноманітних токсичних речовин, які здатні викликати важкі гемодинамічні порушення, призводить до ураження нирок [92]. За даними [96, 172], до нефротоксичних речовин, які найбільш часто в клінічній практиці викликають токсичну нефропатію, відносять нефротоксини, гемолітичні речовини та гепатотоксини, до яких належать і токсини білої поганки.

Як правило, отруєння аманіта-фаллоїдиновими токсинами наступають при попаданні їх з їжею в шлунково-кишковий тракт. Проте, встановлено токсичну дію цих речовин і при попаданні їх на кон'юнктиву ока [45].

За класифікацією А.І. Локая біла поганка зарахована до отруйних грибів гепато-нефротропної дії. Клінічна картина отруєння білою поганкою має двояку симптоматику – прояви гастроентероколіту [238], а також зміни з боку печінки та нирок [178, 206, 241], що зумовлено вибірковою дією токсинів переважно на гепатоцити і проксимальний відділ ниркових каналців. Токсична дія фаллоїдинів проявляється через 6-8 годин, а аманітинів – через 24-48 год після попадання їх в організм. О.В. Бабенко та ін. [6] наводять дані про те, що токсична дія фаллотоксинів, проявляється через 6-40 год, а аманітатоксинів – через 24-72 год.

Порушення функції нирок при отруєнні білою поганкою має двофазний перебіг. У першій фазі зниження функціональної здатності нирок є наслідком дегідратації організму та важкого порушення водно-електролітного обміну. У

хворих на 1-2 добу захворювання розвивається функціональна олігурія чи анурія. Друга фаза зниження функції нирок пояснюється прямою пошкоджуючою дією токсинів блідої поганки на клубочки і каналці [12, 66, 178].

При отруєнні блідою поганкою порушення функції нирок різного ступеня тяжкості спостерігається у всіх хворих. Гостра ниркова недостатність зустрічається у 20-25 % випадків і часто [123, 134] залежить від важкості ураження печінки, патології нирок в анамнезі. У сечі хворих має місце стійка протеїнурія, виявляють лейкоцити, зернисті і гіалінові циліндри, клітини ниркового епітелію, інколи еритроцити [66], уробілін, жовчні пігменти [169]. В крові виявляють підвищення вмісту залишкового азоту, сечовини, креатиніну [10].

У доступній нам літературі ми не знайшли повної оцінки функціонального стану нирок при аманіта-фаллоїдиновому отруєнні.

Морфологічні зміни внутрішніх органів і тканин виявлені при дослідженні трупів людей, що померли в результаті отруєння блідою поганкою, відзначаються особливостями токсичної дії фаллотоксинів та аманітотоксинів. Нирки збільшені, набряклі, гіперемовані, на розрізі тьмяні, з жовтуватим відтінком. При мікроскопічному дослідженні внутрішніх органів спостерігаються дистрофічні і некробіологічні зміни, порушення кровообігу. В нирках множинні дрібні крововиливи, епітелій звивистих каналців набряклий, в стані білкової (зернистої) і жирової дистрофії. В клубочках – накопичення білкових мас [177].

Є ряд публікацій, котрі вказують, що нефротичний синдром спостерігається у всіх хворих, які отруїлись блідою поганкою [109, 178]. Олігурія спостерігалась у 2/3 хворих, анурія – в 1/3 хворих. Спочатку зміни в сечі проявлялись альбумінурією, лейкоцитурією, циліндрурією, гематурією, рівень азоту при цьому залишався в межах норми. Пізніше спостерігалось швидке наростання азотемії, що поєднувалось з олігурією чи анурією. При гістологічному дослідженні у хворих виявлявся некротичний нефроз [22, 209].

За даними інших авторів [93, 95, 172, 169], в патогенезі токсичного ураження нирок при гострих отруєннях гепатотоксичними речовинами, в тому числі грибними токсинами, має значення нефротоксичний ефект амінокислот, які в нормі дезамінуються печінкою, а при масивних пошкодженнях її паренхіми у великих кількостях виводяться нирками. Тому патоморфологічні зміни мали картину дифузного нефрозу.

Таким чином, дані щодо виявлених змін у нирках при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації розрізнені, тому потребують подальшого вивчення.

1.4. Роль продуктів перекисного окиснення ліпідів, окисненомодифікованих білків та порушень системи антиоксидантного захисту при ураженні нирок

Перекисне окиснення ліпідів, є нормальним фізіологічним процесом [49, 52, 165], разом з тим його розглядають і як універсальний механізм пошкодження біомембран за різноманітних патологічних станів [34, 42, 49, 149, 150, 152, 174].

У літературі наводиться декілька основних напрямків молекулярних процесів, що призводять до активації ліпопереокислення та утворення вільних радикалів, які ушкоджують біологічно важливі білки та нуклеїнові кислоти, в тому числі ядерну генетичну ДНК. До них зараховано: а) генерацію під впливом ксенобіотиків активних форм кисню (синглетного кисню, аніон-радикала, гідроксильного радикала); б) утворення за рахунок дії цитохрому P-450 вільнорадикальних форм ксенобіотиків типу $R\cdot$, $RO\cdot$; в) внутрішньоклітинне накопичення утвореної на електронтранспортних ланцюгах мітохондрій та ендоплазматичного ретикулуму прооксидантної форми заліза (Fe^{2+}); г) зниження внутрішньоклітинного вмісту низькомолекулярних антиоксидантів (α -токоферолу, аскорбінової кислоти, глутатіону, селену); д) зниження активності компонентів ферментної антиоксидантної системи (СОД, каталази, глутатіонпероксидази). У ряді робіт

[49, 65] робиться акцент на те, що визначальним процесом, який може призвести до загибелі клітини є активація вільнорадикальних процесів у структурах ядерного хроматину.

Оптимальний субстрат процесу ПОЛ – фосфоліпіди біомембран, а точніше, ненасичені (полієнові) жирні кислоти (лінолієва, ліноленова, арахідонова), а безпосередньою мішенню атаки окислювальних радикалів є подвійні зв'язки в їх молекулах. Від вмісту їх залежить стан, рухливість мембран, виконання ними важливих фізіологічних функцій (диференційна проникність, активний транспорт іонів і метаболітів, захисна і опорна функції, участь в передачі збудження). Пошкодження цих компонентів мембран в процесі ПОЛ негативним чином відображається на всіх цих функціях і істотно їх змінює. Неперервність ліпідного бішару мембрани визначає її тотальну гідрофобність, неможливість проникнення через мембрану води, гідрофільних субстратів і метаболітів, іонів, кисню. Наявність вбудованих в мембрану білків передбачає виконання ними різноманітних біологічних функцій, перш за все ферментативних. Рецепторні білки взаємодіють з гормонами і іншими біологічно активними речовинами і передають їх сигнали всередину клітини. Інтегральні білки мембран, каналотворювачі білки здійснюють активний регулюючий транспорт іонів (K^+ , Na^+ , Ca^{2+}), кисню, метаболітів, приймають участь у формуванні заряду мембран, їх поляризації. Поява гідрофільних продуктів окиснення ліпідів внаслідок активації процесів ПОЛ порушує неперервність ліпідного бішару мембран в гідрофобних ділянках, створює умови для пасивного транспорту іонів і метаболітів, і тим самим, в залежності від активності окиснювальних реакцій, порушує координацію і специфічність мембранних процесів [7]. Ще більш важливе значення має вплив активних продуктів ПОЛ на мембранні білки, їх структуру і функції. Зумовлені окиснювальним стресом конформаційні модифікації білків мембран проявляються зміні активності мембранозв'язаних ферментів, ефективності реалізації функцій білків-каналотворювачів, інтегральних білків, зниженні регуляторного впливу гормонів, медіаторів. Окиснена модифікація білків є

раннім індикатором пошкодження органів і тканин, виявлена при запальних процесах, атеросклерозі, ішемії серця, неврологічних захворюваннях, катарактогенезі [63, 105, 128]. Згідно даних літератури, у біологічних системах постійно утворюються продукти одноелектронного відновленого кисню (супероксидний аніон-радикал, пероксид водню, гідроксильний радикал), так звані активні форми кисню [63]. Під дією різних несприятливих факторів на організм їх рівень змінюється і вони можуть спричинювати окиснювальну деструкцію не тільки ліпідів, а й білків. У доступній нам літературі ми не знайшли даних щодо вивчення подібних процесів при отруєнні блідою поганкою.

Мембранопошкоджуюча дія ліпопероксидації і подальші порушення клітинного метаболізму є провідною ланкою патогенезу майже усіх токсичних ефектів, в тому числі і нефротоксичного [49]. Роль активації процесів ліпопероксидації при токсичному ураженні нирок описано в оглядах [34, 35, 56, 57]. На сьогоднішній день можна вважати доказаним те, що активація процесів ПОЛ і структурно-функціональні зміни в клітинних біомембранах відіграють значну роль в патогенезі хронічного гломерулонефриту [1, 119]. Доказано, що моноцити і макрофаги, які мігрують до ендотеліальних клітин клубочків у відповідь на вплив імунних комплексів, а також активовані тромбоцити, здатні продукувати АФК, котрі разом з лізосомальними протеазами і синтезом простагландинів спричинюють пошкодження базальної мембрани клубочка [186, 203]. Важливу роль відіграють вільнорадикальні процеси в механізмах ураження нирок при фракційному опроміненні [56, 37], інтоксикації цезієм [34], ацетиланізолом [35], за умов поєднаної дії на організм солей важких металів та малих доз радіації [57].

Посилення ПОЛ в нирках під впливом ксенобіотиків значною мірою визначає ступінь пригнічення в цьому органі транспортних АТФаз та інших пов'язаних з мембранами ферментів, що є однією із важливих ланок порушення ниркової діяльності і зниження каналцевого транспорту зокрема [98]. У праці [34] наводяться дані про те, що під впливом цезію йодиду виникає активація

процесів ПОЛ в кірковій речовині нирок, яка сприяє пригніченню транспорту натрію в проксимальному відділі нефрона у молодих та старих щурів.

Дослідження ліпопероксидації при свинцево-стронцієвій інтоксикації продемонструвало залежність змін від тривалості експозиції, а значне збільшення вмісту малонового діальдегіду (МДА) спостерігалось не лише в печінці, селезінці, але й у нирках [176].

Порівняльний аналіз порушень ліпідного обміну при різних стадіях хронічної ниркової недостатності у дорослих свідчить про прогресування процесів пероксидації і порушення у фосфоліпідному бішарі мембран еритроцитів, а також збільшення в сечі малонового діальдегіду, основних мембранних фосфоліпідів і їх цитотоксичних лізоформ [119].

При нефролітазі, внаслідок компресії тканин і судин конкрементами і приєднання піелонефриту, може збільшуватись продукування МДА, особливо в клітинах і мікросомах кіркового шару, за рахунок ініціації аскорбат-зв'язаного ПОЛ, що свідчить про виснаження ендogenous антиоксидантів в пошкодженому органі [44].

Крім того, збільшення вмісту продуктів ПОЛ можна розглядати як важливий фактор ендogenous інтоксикації [42, 174].

Інтенсивність вільнорадикального окиснення визначається, з одного боку, швидкістю утворення ініціаторів переокиснення – вільних радикалів, а з іншого – функціональним станом антиоксидантної системи (АОС). До ферментативної АОС зараховано ферменти (супероксиддисмутаза, каталаза, церулоплазмін, глутатіонредуктаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонтрансфераза), котрі перешкоджають вільнорадикальному окисненню або нейтралізують вже утворені вільні радикали чи ліпоперекиси [54, 136]. До неферментативної антиоксидантної системи включена чисельна група ендogenous сполук (біоантиоксидантів), котрі при взаємодії з вільними радикалами або гідроперекисами здатні переривати процес ПОЛ.

Ряд дослідників виділяють три основні ланки системи антиоксидантного захисту. Перша з них спрямована на знешкодження та утилізацію активних

форм кисню. Її представляють СОД, каталаза і група пероксидаз, які діють за участю таких донаторів атомів водню, як НАДФН, аскорбінова кислота тощо. Друга ланка пов'язана з обміном глутатіону і активністю ферментів глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази. До третьої ланки відносять систему церулоплазмін-трансферин, котра регулює рівень іонів відновленої форми заліза (Fe^{2+}), який є потужним ініціатором вільнорадикального окиснення [119]. Зрив антиоксидантного захисту внаслідок будь-якого екзогенного впливу призводить до посилення ВРО і ПОЛ [49].

Початкові стадії процесу ВРО контролюються СОД, яка дезактивує супероксидний аніон-радикал і, відповідно, зменшує загальний токсичний ефект АФК [4,119].

Патологічні процеси, перебіг яких проходить з порушенням метаболізму активних форм кисню, спричиняють підвищення або зниження активності СОД. Дослідники пов'язують це з інтенсивністю процесу споживання O_2 , чим інтенсивніший цей процес, тим вищий рівень активності СОД, а також компенсаторною реакцією організму.

Однією з причин зниження активності СОД може бути порушення процесу утилізації перекислених сполук. Це відмічено у роботі [122], зокрема, при “ішемічній” та “гліцериновій” моделях гострої ниркової недостатності автори відмічали значну інактивацію СОД.

В роботі [16] встановлено, що отрута блідої поганки призводить до інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення ліпідів (підвищення вмісту малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів) та пригнічення антиоксидантного захисту організму (зниження активності супероксиддисмутази) у печінці.

У хворих з гідронефрозом, уретерогідронефрозом, аденомою передміхурової залози, коли має місце вторинний пієлонефрит в результаті обструкції сечовивідних шляхів і порушення уродинаміки, також виявлено наростання вмісту МДА і пригнічення активності СОД та швидкості відновлення НАД в організмі [72]. Вивчення показників системи ПОЛ-АОС

при гострому пієлонефриті показало, що величина екскреції МДА і рівень СОД в крові добре корелюють із ступенем активності запального процесу в нирках, що дозволило включити ці показники в комплекс лабораторної діагностики не тільки серозної і гнійної стадій, але й проміжної стадії захворювання, при якій достатньо медикаментозного лікування як альтернативи оперативному втручанню [119]. В роботі [64] встановлено, що зниження активності СОД і розвиток деструктивних процесів у біомембранах еритроцитів і ниркових клубочків відіграє значну роль у феномені гематурії, характерної для раннього періоду розвитку хронічного гломерулонефриту. Автори вважають, що в результаті порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в організмі вільні радикали викликають руйнування ліпідних компонентів мембран еритроцитів, ендотеліальних і мезангіальних клітин нирок, порушують цілісність базальної мембрани клубочків. Застосування вітаміну Е та унітіолу як антиоксидантів стабілізувало систему ПОЛ-АОС і зменшило еритроцитурію.

Даних щодо активності СОД в нирках при отруєнні блідою поганкою в доступній нам літературі виявити не вдалось.

Каталаза (КТ) – фермент, який розкладає пероксид водню, каталізуючи реакції двох типів – каталазну і пероксидазну.

КТ поширена в організмі людини і тварин, при цьому найбільша її кількість знаходиться в еритроцитах, печінці та нирках. У дітей при загостренні первинного пієлонефриту зменшується антиоксидантна і антиперекисна активність крові (СОД, КТ), це створює передумови для поглиблення процесу ліпопероксидації в мембранах епітеліальних клітин нефрона, що проявляється підвищеною екскрецією дієнових кон'югатів, мембранних фосфоліпідів і їх лізоформ із сечею. Деякі автори не виключають можливості компенсаторного підвищення СОД і КТ у відповідь на активацію ПОЛ у хворих в термінальній стадії хронічної ниркової недостатності [203]. Під впливом отрути блідої поганки, згідно даних [16], активність КТ в плазмі крові підвищується на початку експерименту та дещо знижується до кінця досліджень. В доступній

нам літературі ми не знайшли даних про визначення КТ в нирках при отруєнні аманіта-фаллоїдинами.

Крім КТ, в клітинах H_2O_2 швидко руйнується також глутатіонпероксидазою (ГП). Для клітини в цілому ГП значно важливіша. Це аргументується наступними факторами: а) КТ зосереджена в основному в пероксисомах, а ГП знешкоджує H_2O_2 у цитозолі і мітохондріях; б) спорідненість ГП до H_2O_2 вища, тому саме ГП захищає клітину від низьких концентрацій H_2O_2 ; в) недостатність або інгібування ГП (але не КТ) призводить до збільшення пероксидації і до ушкодження деяких клітин; г) в деяких тканинах (серце) КТ майже відсутня і тоді ГП відіграє головну роль у метаболізмі H_2O_2 [84].

Даних про рівень ГП в плазмі та нирках при отруєнні блідою поганкою в доступній нам літературі не виявлено.

Глутатіон – трипептид, який присутній у всіх клітинах тварин і людини. Головна фізіологічна роль GSH полягає в захисті та відновленні SH-груп ферментів при їх окисненні чи зв'язуванні. Існує група ферментів, для яких GSH виконує типово коферменті функції, тобто він є необхідним для перебігу реакцій, але не входить до складу кінцевих метаболітів. GSH розглядається як запасна і транспортна форма цистеїну. Він відіграє важливу роль у процесах реабсорбції амінокислот у кишечнику, нирках і транспорті їх в нейрони, приймає участь у механізмах передачі нервових імпульсів. Відновлений глутатіон визнається основною складовою редокс-буферу клітини, який підтримує в ній природне відновне середовище [84, 89].

SH-групи забезпечують ряд важливих функцій білків, зокрема, такі як функціонування мембранних структур, підтримання активності ферментів, взаємодію з гормонами, токсинами тощо, різноманітні види активного транспорту, поділ клітин [84, 117, 227]. Однією з найбільш важливих функцій відновленого глутатіону є його здатність безпосередньо реагувати з вільними радикалами (O_2^- , RO_2^- , R^\cdot), таким чином нейтралізуючи їх дію [88, 200].

Хронічна ниркова недостатність є, фактично, заключною стадією більшості ниркових захворювань. Завдячуючи багатьом дослідженням, можна вважати доказаним той факт, що порушення в системі ПОЛ-АОС відіграють значну роль в прогресуванні хронічної ниркової недостатності [44, 119, 132, 186]. Серед загальноприйнятих причин активації ПОЛ при хронічній нирковій недостатності на перший план виступає зниження резерву неферментних антиоксидантів – глутатіону [247], аскорбінової кислоти [259], α -токоферолу [199] і SH-груп [199]. Що стосується іншої, ферментативної лінії АОС, то ці порушення вивчені менше і переважно в термінальній стадії хронічної ниркової недостатності. Проте більшість дослідників виявили пригнічення СОД [119], ГП [120], ГР і ЦП [79, 118, 120, 186, 187], тобто тих ензимів та неензимів, котрі віддзеркалюють всі три ланки АОС. Даних про дослідження відновленого глутатіону в нирках при отруєнні блідою поганкою в доступних нам друкованих джерелах виявити не вдалось.

Церулоплазмін – мідьвмісний білок α_2 -глобулінової фракції крові людини і тварин. ЦП є типовим глікопротеїном, що синтезується в печінці. Це багатофункціональний білок, який є головним антиоксидантом сироватки крові, що приймає безпосередню участь в нейтралізації вільних радикалів, перекисних сполук, ароматичних амінів, гістаміну [112]. Згідно з даними деяких авторів, у разі зменшення показників ЦП і трансферину в крові можна прогнозувати такі наслідки, як порушення обміну заліза, зниження процесів кровотворення, розвиток анемії, що є характерним для хронічної ниркової недостатності [36]. Є повідомлення про важливість вивчення ферментів АОС у реципієнтів для трансплантації нирки з двох міркувань – для контролю за життєздатністю і функціональним станом ниркового трансплантата [199]. При задовільній функції ниркового алотрансплантата активність СОД, КТ, ЦП і вміст трансферину в крові змінюються позитивно порівняно із станом до операції, на відміну від випадків з незадовільною функцією органа, постішемичною гострою нирковою недостатністю або реакцією відторгнення трансплантата.

В дослідженнях Б. Бойчука [15], при визначенні в плазмі крові тварин з аманіта-фаллоїдиновим гепатитом концентрації ЦП, виявлено достовірне наростання його вмісту. Аналіз кореляції між рівнями ДК у печінці і ЦП в плазмі крові також показав, що активація вільнорадикальних процесів викликає підвищення активності даного глікопротеїну.

Таким чином, активація процесів вільнорадикального окиснення і порушення функціонування системи антиоксидного захисту є важливим моментом у патогенезі токсичних нефропатій. Дані літератури з цього приводу розрізнені і в багатьох випадках суперечливі, що не дозволяє скласти уявлення про цілісну картину дисбалансу між активністю ПОЛ і функціонуванням антиоксидної системи організму при токсичному ураженні нирок.

1.5. Роль оксиду азоту в патогенезі ураження нирок.

У літературі останніх років досить широко обговорюється роль оксиду азоту (NO) в регуляції клітинного і тканинного метаболізму [87]. Оксид азоту розглядається як важливий фізіологічний регулятор метаболічних процесів та систем організму. Але у високих концентраціях і взаємодії з активними формами кисню NO викликає утворення переоксинітритів – високотоксичних сполук з прямою нефротоксичною дією та змінює активність ферментних систем – вторинне ураження гломерулярного апарату нирок [245]. Неконтрольована зміна внутрішньоклітинних метаболічних процесів проявляється також окисненням протеїнів мембран, білково-ліпідних комплексів клітинних рецепторів, дезоксирибонуклеїнових кислот з індукцією апоптозу клітин [155] і порушенням сприйняття регулюючих сигналів. Поряд з цим пригнічення синтезу NO веде до розвитку ниркової вазоконстрикції, до зниження клубочкової фільтрації, підвищення каналцевої реабсорбції води з розвитком ниркової недостатності [155].

Активне вивчення ролі оксиду азоту у формуванні різного виду нефропатій [87, 225], спричинене тим, що дана сполука, постійно синтезуючись

майже у всіх відділах нирок, бере активну участь в регуляції ниркових функцій, водно-сольового обміну. Згідно з літературними даними [245], NO, який синтезується клітинами *macula densa*, має велике значення в регуляції тонууса аферентної артеріоли, синтезу реніна, тубулогломерулярного механізму зворотнього зв'язку, ультрафільтраційного коефіцієнту скоротливої здатності подоцитів. Окрім того, гломерулярний мезангіум, який останнім часом розглядається, як головний регулятор швидкості клубочкової фільтрації, має здатність сам синтезувати NO, а за певних умов і у великих кількостях. Вченими [155] встановлено, що найбільш активно оксид азоту бере участь в :

- а) регуляції ниркової геодинаміки;
- б) модуляції транспорту рідини і електролітів;
- в) корекції функції нирок у відповідь на пошкодження.

Тому можна передбачити, що зміни у продукції NO нирками можуть мати суттєве патогенетичне значення у розвитку ряду ниркових захворювань, викликаних запальним чи токсичним ураженням нирок.

Так, згідно з даними [155] встановлено, що гострий гломерулонефрит супроводжується збільшенням синтезу NO в клубочках. Це було виявлено на таких моделях гломерулонефриту, як нефротоксичний нефрит, активний Neumann і anti-Thy-1-нефрит. Високий рівень NO при цих моделях був зумовлений активізацією індукцибельної NO-синтетази [196]. Ці дані дозволяють зарахувати оксид азоту до медіаторів, які сприяють розвитку тканинного пошкодження – великі кількості NO можуть безпосередньо проявляти цитостатичний чи цитотоксичний ефект, зумовлений його реакцією з сульфгідрильними групами заліза і ДНК. Окрім того, NO може вступати в реакцію з супероксидними аніонами, що утворюють високореактивні радикали – пероксинітри, які активують перекисне окиснення ліпідів і можуть проявляти пошкоджуючу дію на білки [194]. Пероксинітри можуть стимулювати посттрансляційні зміни в тирозинових залишках білків [185, 242], а також здатні збільшувати ішемію і викликати пошкодження епітеліальних клітин каналців при гострій нирковій недостатності в експерименті [254]. В літературі наводяться дані про те, що підвищення рівня NO сприяє

пошкоджуючій дії продуктів ПОЛ, і навіть незначне збільшення оксиду азоту в організмі суттєво посилює пошкоджуючий ефект продуктів вільно радикального окислення при невідкладних станах [174, 242].

Згідно з даними авторів [185, 214], роль NO при пошкодженні нирок змінюється в залежності від ізоформи NO, що виділяються, типу секретуючих клітин і тривалості дії. Оксид азоту, що синтезується ендотелієм, має судиннорозширюючу дію і його здатність інгібувати тромбоцитарну активність дає можливість зменшити пошкодження нирок при гломерулонефриті [196]. Проте NO, що генерується мезанхімальними і канальцевими епітеліальними клітинами, може посилювати пошкодження частково у зв'язку з здатністю цих клітин стимулювати експресію iNO-синтетази у відповідь на запальні стимули [211].

T.Peresleni і співавт. [239] встановили, що окислювальний стрес в епітеліальних клітинах приводить до збільшення iNO-синтетази, підвищує виділення NO і вироблення нітритів, зменшує життєздатність клітини. Помірну генерацію NO було виявлено в експериментальних моделях гострої ниркової недостатності з розвитком оксидантного стресу в клітинах нирок [122].

Довготривале інгібування синтезу NO веде до розвитку гіперволемії, підвищенню концентрації натрію в крові, зменшенню клубочкової фільтрації, розвитку вазоконстрикції, збільшенню канальцевої реабсорбції води, що може сприяти розвитку ниркової недостатності [97].

В експериментальній роботі [229] вивчали вплив NO на стан клітинної проникності епітеліальних клітин опосуми. Встановлено, що NO зменшує клітинну проникність епітелію проксимальних канальців для аденозинтрифосфата. Як вважають автори роботи, даний механізм може відігравати головну роль в процесах попередження ішемічного пошкодження ниркової тканини. Разом з тим, в інших експериментальних роботах [197] наведено дані про відсутність впливу i-NOS на процеси прогресування анти-GBM гломерулонефриту у мишей.

Згідно з даними S. Duan і співавт. [213] вміст і-NOS в біоптатах хворих хронічним гломерулонефритом з сечовим синдромом незначно підвищено в порівнянні зі здоровими, тоді як при гломерулонефриті з нефротичним синдромом розвивається гіперфункція і- NOS.

Вченими виявлено високу концентрацію метаболітів NO в крові та сечі при вовчаковому нефриті [213, 215, 250, 255]. Згідно з даними [68] зниження функції нирок у хворих на системний червоний вівчак супроводжувалось збільшенням продуктів обміну NO як у крові, так і в сечі. Хоча у таких хворих був відсутній кореляційний зв'язок показників нітритів/нітратів із тяжкістю ураження нирок.

У той час, П. Голіков та співавт. [42], вважають, що оксид азоту у високих концентраціях може бути фактором ендогенної інтоксикації, що відіграє важливу роль в перебігу критичних станів.

Підвищену гіперпродукцію NO в клітинах нирок виявлено при різних моделях гострої ниркової недостатності [122, 228]. Відмічено збільшення синтезу NO₂ і NO₃ в клітинах ниркової тканини. При цьому максимальний вміст стабільних метаболітів NO констатувався на другу добу експерименту і співпав зі значною інактивациєю СОД.

Згідно з даними [42, 174], зміни показників NO слід розглядати з позиції загального адаптаційного синдрому, в розвитку й перебігу якого основну роль відіграє підтримання рівноваги між стресреалізуючими і стреслімітуючими системами. Зростання вмісту метаболітів азоту при патогенетичних станах можна пов'язати з експресією NO-синтетази (і-NOS) у відповідь на дію активних форм кисню чи ендотоксинів мікроорганізмів. Ці процеси можуть посилювати ПОЛ мембран, необхідне для активації клітинного метаболізму в гострій фазі адаптації організму до стресових факторів.

Що стосується ролі NO в патогенезі ураження нирок отрутою блідої поганки, то вона зовсім не з'ясована.

1.6. Методи корекції токсичного ураження нирок

Лікування токсичного ураження нирок включає патогенетичні та симптоматичні методи.

Важливим компонентом патогенетичного лікування на токсикогенній стадії гострих отруєнь є антидотна терапія. На жаль, проти аманіта-фаллоїдинового токсину прямих антидотів поки не існує. Однак Є.О. Лужніков у принципах лікування екзотоксичних уражень печінки та нирок до специфічної антидотної терапії у токсикогенну стадію відносить антиоксиданти [95]. Це лікарські засоби, що мають різноманітну хімічну будову, але відрізняються здатністю гальмувати вільнорадикальні процеси. Ефективність застосування антидотів при ураженнях нирок доведено в роботах [32, 42, 57, 148].

Згідно з даними літератури [27, 28, 29, 31], одним з нових антиоксидантів є тіотриазолін. Під його впливом В.А. Слишков і співавт. [137] спостерігали нормалізацію показників активності цитолітичного процесу, стану реакції переокислення ліпідів та жовчоутворюючої функції печінки при її токсичних ураженнях тетрахлоретаном, фенілгідразинном, тетрацикліном. Для тіотриазоліну встановлено мембраностабілізуючу, протиокислювальну, гепатопротекторну, протиішемічну, протизапальну дії [27, 29, 60, 61, 137]. Останнім часом з'явилися повідомлення про ефективне застосування препарату при захворюваннях серцево-судинних, гепато-біліарної систем [3, 5, 8, 14, 28, 31, 131, 156]. Згідно з даними [39] тіотриазолін має здатність поліпшувати вазоділатуючу функцію ендотелію.

В літературі є повідомлення про ефективне застосування тіотриазоліну при токсичних ураженнях нирок [102,126,148]. Так, згідно з даними [126], препарат проявляє певну захисну дію в умовах гострої етиленгліколевої інтоксикації, але його фармакотерапевтична ефективність була дозозалежною. Тіотриазолін, що вводився тваринам в дозі 50 мг/кг виявляв незначний вплив на функціональну здатність нирок, що в основному полягало в гемореологічній дії,

оскільки відбувалися процеси відновлення фільтрації. Введення препарату в дозі 250 мг/кг викликало більш виражені ознаки саногенезу. При цьому відновлювалась реабсорбція натрію та калію. Інші дослідження, проведені вченими [39], вказують на те, що тривале введення щурам тіотриазоліну в дозі 100 мг/кг підвищує виділення з сечею іонів натрію внаслідок збільшення швидкості клубочкової фільтрації та зменшення процесів реабсорбції в дистальному відділі нефрона. Стимуляція натрійурезу під впливом препарату супроводжувалась збільшенням натрійуретичної активності плазми крові і зростанням в ній натрійуретичних пептидів (НУП).

Згідно з дослідженнями Стець О.В. та Піняжко О.Г. [126] введення тіотриазоліну тваринам на фоні інтоксикації етиленгліколом значною мірою перешкоджає розвитку патологічного процесу в нирках, відновлює функціональні властивості, попереджає випадіння кристалів оксалату кальцію в просвіт каналців. На думку авторів захисна дія препарату пов'язана з попередженням деструкції мембран нефрона та звивистих каналців під впливом інтоксикації.

В останні десятиріччя ведеться активний пошук нових сполук з антиоксидантними властивостями. Аналіз наукової літератури, міжнародних фармакопей та реєстрів лікарських засобів засвідчує підвищення уваги до дослідження металів змінної валентності та металовмісних комплексів [51]. Часто компонентний склад таких препаратів обмежується йонними сполуками мікроелементів – простими солями та оксидами. Шляхом до підвищення біодоступності та нешкідливості металовмісних препаратів може бути заміна йонних сполук мікроелементів їх комплексами з органічними лігандами. Заслужують уваги застосування в медицині металокомплексів α -карнозину [32,102]. Дипептид α -карнозин може утворювати стабільні комплекси з деякими біологічно важливими іонами металів, такими як цинк та мідь. Було показано, що комплекс Cu(II) -карнозин володіє антиоксидною активністю, яка відмічалась і в системах комплексів карнозину з Co(II) і Zn(II) [100].

Згідно з літературними даними амінокислоти беруть участь у вільнорадикальних процесах [152]. У ці процеси активно включаються сірковмісні та ароматичні амінокислоти - гістидин, триптофан, фенілаланін, тирозин, пролін. Гістидин є не тільки пасткою вільних радикалів, а й хелатором. В плазмі крові він утворює комплекс з міддю, який бере участь в дисмутації O_2^- [63].

У роботах останніх років [46, 47, 81, 82] було показано ефективність застосування металокомплексів гістидинату цинку та міді при токсичних ураженнях печінки ксенобіотиками.

Таким чином, повідомлення про антиоксидантні властивості деяких металокомплексів обумовлюють доцільність використання їх як фармакологічних агентів, у тому числі за умов токсичного впливу аманіта-фаллоїдинів.

Проведений огляд літератури свідчить, що дані про вплив отрути блідої поганки на нирки малочисленні і суперечливі. Роль вільних радикалів та стан антиоксидантної системи у патогенезі ураження нирок аманіта-фаллоїдинами не вивчався. На основі великої кількості публікацій вітчизняних і зарубіжних вчених можна вважати, що проблема корекції порушених метаболічних процесів при токсичних ураженнях нирок ще не вирішена. У літературі відсутні дані про вплив аманіта-фаллоїдинового токсину на зміни вмісту активних форм кисню та NO. Це зумовило доцільність вивчення стану вільнорадикальних процесів та ендогенної інтоксикації при дії отрути блідої поганки на нирки, пошук препаратів для нормалізації структурно-функціональних та біохімічних змін, що відбуваються під їх впливом.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Характеристика піддослідних тварин, токсину блідої поганки та апробованих препаратів

Експериментальні дослідження проводились на 274 нелінійних білих щурах-самцях масою 0,160-0,200 кг. Тварин утримували в умовах віварію на гіпонатрієвому раціоні харчування. 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 цих фармакологічних препаратів 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 H.Wieland, R. Hallermayer [258]. 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 хлористого натрію з таким розрахунком, щоб доза токсину, що вводиться, містилась у 1 мл. Хроматографічним дослідженням підтверджували відсутність метанолу в робочому розчині екстракту.

При розрахунках летальних доз виходили з сухої маси грибів. Для цього частину грибів з кожного збору сушили до постійної маси (вміст води у грибах

коливався від 93% до 97% від сирої маси). Токсичність отрути блідої поганки визначали за методом Кербера [9].

Корекції порушень виявлених метаболічних змін проводили за допомогою препаратів тіотриазоліну і антиоксиданта гістидинату міді. Тіотриазолін (хімічна назва – морфоліній 3-метил-1,2,4-триазолін-5-тіоацетат; емпірична формула $C_5H_{17}N_3O_2S-C_4H_9NO$) виробництва фірми “Галичфарм” у вигляді 2,5 % розчину вводили у дозі 100 мг/кг маси тіла, внутрішньом'язово, один раз на добу, починаючи з першої доби експерименту і до кінця періоду спостережень.

Антиоксидант гістидинат міді вводили внутрішньошлунково у дозі 0,94 мг/кг (біотична доза міді в організмі) за аналогічною для тіотриазоліну схемою. Металокомплекс синтезовано на кафедрі медичної хімії Тернопільської державної медичної академії з гістидину та гідроксиду міді, які брали в еквімолярних концентраціях [47,82].

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 після введення екстракту блідої поганки в дозі ЛД₅₀, які одержували гістидинат міді. Контрольній групі тварин вводили відповідний об'єм ізотонічного розчину.

Матеріалами дослідження були цільна кров, плазма крові, сироватка крові, гомогенат нирки.

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 [205].

2.2. Методи визначення активності процесів вільнорадикального окиснення та функціонального стану антиоксидантної системи

Стан пероксидного окиснення ліпідів оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду в крові та гомогенаті нирок. Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю супероксиддисмутази, каталази, глутатіопероксидази, вмістом SH-груп в крові та гомогенаті нирок, церулоплазміну в плазмі крові. Визначали ступінь окиснювальної модифікації білків (ОМБ) в плазмі крові та вміст метаболіту оксиду азоту в крові та гомогенаті нирок.

2.2.1. Визначення вмісту малонового діальдегіду

Визначення вмісту малонового діальдегіду проводили за методом І.Д. Стальної, Т.Г. Гаріашвілі [147]. Принцип методу полягає у здатності малонового діальдегіду при взаємодії з тіобарбітуровою кислотою в кислому середовищі утворювати забарвлений комплекс, інтенсивність якого адекватна вмісту МДА. Вміст МДА визначали в плазмі і в 10 % гомогенаті нирки.

Розрахунок проводили, враховуючи коефіцієнт молярної екстинкції для МДА, який дорівнює $1,56 \times 10^5$ моль⁻¹ × см⁻¹.

Вміст МДА виражали в мкмоль/л у плазмі крові та мкмоль/кг в гомогенаті нирок.

2.2.2. Визначення вмісту дієнових кон'югатів

Концентрацію дієнових кон'югатів (ДК) визначали за методом В.Б.Гаврилова, М.І.Мішкорудної [38], який ґрунтується на тому, що екстраговані гептан-ізопропіловою сумішшю гідроперекиси мають максимум поглинання при $\lambda = 232$ н.

Розрахунок вмісту ДК проводили за формулами і виражали в умовних одиницях.

$$C = 10 \times E \times V_1 : V_2 \text{ ум. од./мл (для плазми)}$$

або $C = E \times V_1 : V_2$ ум. од./ мл гомогенату (для нирок),

де E - оптична щільність гептанового шару проби, V_1 - кінцевий об'єм гептанового екстракту (4 мл), V_2 - об'єм досліджуваного матеріалу (2 мл).

2.2.3. Визначення активності супероксиддисмутази

Активність СОД визначали за відомим методом С. Чеварі [164] в модифікації О. Дубініної [62]. Принцип методу полягає в здатності СОД конкурувати з нітротетразолієм синім за супероксидні аніони. В результаті реакції нітротетразолій відновлюється з утворенням гідрозинтетразолію. В присутності СОД відсоток відновлення нітротетразолію синього зменшується.

Відсоток інгібування розраховували за формулою:

$$\% = (E_k - E_d) / E_k \times 100,$$

де E_k - екстинкція контрольної проби, E_d - екстинкція дослідної проби.

Кількість ферменту, яка здатна інгібувати відновлення нітротетразолію синього на 50 %, приймали за 1 ум. од. активності.

2.2.4. Визначення активності каталази

Активність каталази визначали за методикою М.А.Королюк та співавт. [103]. Принцип методу ґрунтується на здатності пероксиду водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при 410 нм проти контролю, в яку замість пероксиду водню додавали 2 мл води.

Активності каталази розраховували за формулою:

$$A = (E_x - E_d) / (V \times t \times k),$$

де A - Активність каталази, E_x і E_d - екстинкція холостої і дослідної проби,

V - об'єм проби, t - час інкубації (с), k - коефіцієнт молярної екстинкції для пероксиду водню, який дорівнює $22,2 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

2.2.5. Визначення активності глутатіонпероксидази

Активність ГП визначали за методом, описаним в роботі [80]. Принцип методу базується на здатності ферменту розщеплювати пероксид водню за допомогою відновленого глутатіону. Активність глутатіонпероксидази розраховували за різницею між кількістю відновленого глутатіону в контрольній (без H_2O_2) і дослідній пробах і виражали в ммоль ГSH/ хв x л (кг)).

2.2.6. Визначення вмісту SH-груп

Суть методу полягає в тому, що при взаємодії 2- нітробензойної кислоти (реактив Елмана) з вільними SH-групами відновленого глутатіону відбувається утворення тіонітрофенільного аніону, кількість якого прямопропорційна вмісту SH-груп [204]. Концентрацію відновленого глутатіону розраховували, виходячи з коефіцієнту молярної екстинкції для тіонітрофенільного аніону, який дорівнює $11400 M^{-1} cm^{-1}$.

2.2.7. Визначення вмісту церулоплазміну

Рівень церулоплазміну визначали за методом [76]. Принцип методу базується на тому, що окиснення *p*-фенілендіаміну здійснюється в присутності церулоплазміну і приводить до утворення забарвлених продуктів. Інтенсивність пропорційна вмісту церулоплазміну.

Розрахунок робили за формулою:

мг/л церулоплазміну = $E \times 87,5 \times 10$, де E – оптична густина.

2.2.8. Визначення ступеня окиснювальної модифікації білків

У процесі окиснювальної модифікації білків плазми утворюються альдегідні і кетонні групи. Останні взаємодіють з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів, що мають характерний спектр поглинання. Альдегідо- і кетонпохідні нейтрального характеру реєструються при 370 нм, а основного -при 430 нм [104]. Паралельно проводили визначення в плазмі крові білка біуретовим методом.

Вміст фенілгідразонів розраховували, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції ($2,1 \times 10^4$ моль⁻¹ × см⁻¹), за формулою:

$$\text{ммоль/г білка} = 10^3 E : 21 \times C,$$

де C – вміст білка в 0,2 мл плазми крові.

2.2.9. Визначення інтенсивності утворення оксиду азоту.

Інтенсивність утворення NO оцінювали за кількістю в гомогенаті нирок і сироватці крові його метаболіту нітрит-аніону (NO₂⁻) [218]. Визначення вмісту нітрит-аніону ґрунтується на реакції Грісса, згідно якої нітрити з сульфаніловою кислотою і альфа-нафтіламіном в ацетатному середовищі утворюють азобарвник.

Вміст нітрит-аніону розраховували за формулою:

$$X = E_{546} \times 0,067 \times 10^{-3},$$

де X - вміст нітрит-аніону, E₅₆₄ - екстинція дослідної проби, 0,067x 10⁻³ - коефіцієнт молярної екстинції.

Величину нітрит-аніону оцінювали у мкмоль/л (кг).

2.3. Визначення ступеня ендогенної інтоксикації

Ступінь ендогенної інтоксикації оцінювали за еритроцитарним індексом інтоксикації, який визначали за методом А.В.Тогарбаєва [154], та рівнем молекул середньої маси (МСМ) в плазмі крові, який визначали за методикою [146].

2.4. Методи дослідження морфофункціонального стану нирок

Після декапітації щурів швидко вилучали нирки. Одну нирку використовували для морфологічних, другу - для біохімічних досліджень. Морфологічні методи дослідження дають можливість вивчати структуру тканин в нормі, а також характер і глибину морфологічних змін, послідовність

розвитку компенсаторно-приспосувальних, дистрофічних, некробіотичних та відновних процесів при отруєннях та їх особливості за умов корекції.

Для гістологічного дослідження шматочки нирок фіксували в 10 % нейтральному формаліні з наступною заливкою в парафін. Отримані на санному мікротомі зрізи фарбували гематоксиліном-еозином, досліджували в світлооптичному мікроскопі і документували за допомогою мікроскопа МБД-6. Особливу увагу звертали на кіркові нефрони (передусім на їх ниркові тільця, проксимальні та дистальні звивисті канальці), оскільки саме вони беруть активну участь в процесі сечоутворення.

Матеріал для електронномікроскопічних досліджень фіксували в 2,5 % розчині глутаральдегіду з активною реакцією середовища рН 7,3-7,4, приготованому на фосфатному буфері Міллоніга [157]. Фіксований матеріал через 50-60 хв переносили в буферний розчин і промивали протягом 20-30 хв.

Постфіксацію шматочків нирок здійснювали 1% розчином чотириокису осмію у буфері Міллоніга протягом 60 хв, після чого проводили їх дегідратацію в спиртах і ацетоні та заливали в епоксидні смоли згідно загальноприйнятої методики [157].

Ультратонкі зрізи нирок, виготовлені на ультрамікротомі УМПТ-7, забарвлювали 1 % водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю згідно методу Рейнольдса та вивчали і фотодокументували в електронному мікроскопі ЕМВ-100ЛМ.

Функціональний стан нирок у піддослідних щурів оцінювали за умов водного навантаження. Для вивчення індукованого діурезу відстояну 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 канальцевих відділів нефрона оцінювали кліренс-методом [133, 171].

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.

Визначення концентрації креатиніну в плазмі крові та сечі проводили за кольоровою реакцією Яффе (метод Поппера). Принцип методу базується на здатності креатиніну реагувати з пікриновою кислотою в лужному середовищі з утворенням забарвлених сполук [133].

Білок у сечі визначали сульфациловим методом [106].

Концентрацію іонів калію та натрію в плазмі крові та сечі досліджували методом полум'яної фотометрії на "ФПЛ-1" [133].

Дослідження вмісту в сечі титрованих кислот і амаку проводили титрометрично [133].

Для стандартизації показників функціонального стану нирок абсолютні їх величини перераховували на 0,1 кг маси тіла або на 100 мкл клубочкового фільтрату.

Швидкість клубочкової фільтрації (C_{cr}) оцінювали за кліренсом ендогенного креатиніну, яку розраховували за формулою:

$$C_{cr} = V \times U_{cr} / P_{cr},$$

де U_{cr} і P_{cr} - концентрація креатиніну в сечі та плазмі крові відповідно, V - діурез.

Фільтраційну фракцію іонів натрію ($FFNa^+$) оцінювали за формулою:

$$FFNa^+ = C_{cr} \times PNa^+,$$

де PNa^+ - концентрація іонів натрію у плазмі крові.

Екскреторну фракцію креатиніну (E_{cr}) розраховували за формулою:

$$E_{cr} = U_{cr} \times V.$$

Екскреторні фракції білка, іонів натрію, калію оцінювали аналогічно.

Відносну реабсорбцію води (RH_2O %) розраховували за формулою:

$$RH_2O \% = \frac{C_{cr} - V}{C_{cr}} \times 100 \%$$

Абсолютну реабсорбцію іонів натрію ($RFNa^+$) розраховували за формулою:

$$RFNa^+ = C_{cr} \times PNa^+ - V \times UNa^+$$

Відносну реабсорбцію іонів натрію ($RFNa^+$ %) оцінювали за формулою:

$$RFNa^+ \% = \left(1 - \frac{V \times UNa^+}{C_{cr} \times PNa^+} \right) \times 100$$

Проксимальну та дистальну реабсорбцію іонів натрію (T^PNa^+ , T^dNa^+) розраховували за формулами:

$$T^PNa^+ = (C_{cr} - V) \times PNa^+,$$

$$T^dNa^+ = (PNa^+ - UNa^+) \times V.$$

Також оцінювали концентраційний індекс креатиніну (U_{cr}/P_{cr}) та концентраційний індекс іонів натрію (UNa^+ / PNa^+).

Кліренс безнатрієвої води ($C^{H_2O}Na^+$) за формулою:

$$C^{H_2O}Na^+ = V - (V \times UNa^+ / PNa^+).$$

Статистичну обробку отриманих результатів досліджень із визначенням середньої арифметичної величини (M) 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".

РОЗДІЛ 3

ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ ОТРУТИ БЛІДОЇ ПОГАНКИ ТА СКРИНІНГ ВИКОРИСТАНИХ ПРЕПАРАТІВ

3.1. Токсичність отрути блідої поганки

У токсикологічних дослідженнях використано 30 щурів-самців з масою 0,160-0,200 кг. Тваринам внутрішньоочеревинно вводили екстракт блідої поганки, спостереження проводили протягом 7-и діб. Про ступінь токсичності витяжки робили висновок за дозою екстракту, виживанням і тривалістю життя щурів, які загинули.

При визначенні гострої токсичності екстракту блідої поганки тварин було поділено на 5 груп по 6 щурів у кожній. На тваринах кожної групи досліджувалась одна доза грибного екстракту від найменшої (60 мг/кг), яка не спричиняла загибелі тварин, до максимальної (80 мг/кг), після введення якої гинули всі отруєні щури. Із 30 тварин, отруєних екстрактом блідої поганки, у найближчі 24 год від початку досліду загинуло 6 щурів (20 %) яким отруту блідої поганки вводили в дозі 80 мг/кг, протягом перших 2-х діб - 9 (30 %), на 3-ю добу - 1 тварина, якій бліду поганку вводили в дозі 65 мг/кг. Середня тривалість життя тварин, яким вводили екстракт блідої поганки, коливалась від 5,5 год (після введення 80 мг/кг) екстракту до 18 год (після введення 65 мг/кг). ЛД₅₀ склала 69,17 мг/кг. Розрахунок ЛД₅₀ проводили за формулою [9]:

$$ЛД_{50} = ЛД_{99} - \Sigma(z \cdot d)/m,$$

де ЛД₉₉ - доза екстракту, яка викликала смерть у всієї групи тварин, d - інтервал між кожними двома суміжними дозами, z - середнє арифметичне числа тварин, у яких спостерігався ефект під впливом двох суміжних доз отрути, m - число тварин у кожній групі (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Вивчення гострої токсичності екстракту білої поганки за методом Кербера

Показник	Доза, мг/кг				
	60	65	70	75	80
Вижило	6	4	3	1	0
Загинуло	0	2	3	5	6
z	1	2,5	4	5,5	
d	5	5	5	5	
z·d	5	12,5	20	27,5	

На підставі розрахунків отримані такі дані:

$$\Sigma(z \cdot d) = 5 + 12,5 + 20 + 27,5 = 65.$$

$$LD_{99} = 80 \text{ мг/кг}; m = 6;$$

$$LD_{50} = 80 - 65/6 = 80 - 10,17 = 69,17 \text{ мг/кг}.$$

Протягом перших 20-30 хв після внутрішньоочеревинного введення екстракту білої поганки в дозі LD_{50} щури ставали збудженими, потім збудження змінювалося пригніченням. В середньому через годину після отруєння у тварин виникало часте сечопускання. Всі піддослідні тварини були малорухомими. Протягом перших 2-х діб досліду більшість щурів відмовлялася від води та їжі, у деяких з них спостерігалася спрага. Багато тварин ставали неохайними, кал був напіврідкої консистенції. За 1-2 год до загибелі у більшості щурів розвивався судомний стан, дихання ставало частим і поверхневим.

У тварин, які вижили, з 3-5-ї доби після отруєння стан покращувався і через 7 діб від початку досліду за зовнішнім виглядом вони не відрізнялися від інтактних щурів.

3.2. Скринінг лікувального ефекту тіотриазоліну та гістидинату міді при отруєнні блідою поганкою

Експерименти проводились на 30 щурах-самцях масою 0,160-0,200 кг. У серії дослідів вивчали профіль лікувальної ефективності тіотриазоліну та гістидинату міді при внутрішньоочеревинному введенні екстракту блідої поганки в дозі ЛД₉₉. Лікування починали через 30 хв після отруєння, при цьому тіотриазолін вводили внутрішньом'язово, а гістидинат міді внутрішньошлунково один раз на добу впродовж 3-х днів.

З даних таблиці 3.2 виходить, що після внутрішньоочеревинного введення отрути блідої поганки загибель всіх піддослідних тварин наставала у середньому через 4,9 год.

Таблиця 3.2

Лікувальна ефективність тіотриазоліну і гістидинату міді при отруєнні щурів блідою поганкою у дозі ЛД₉₉ (M±m)

Група щурів	Препарат, мг/кг в добу	Число щурів	Середня тривалість життя, год
1-а	Отрута, ЛД ₉₉	0/7	4,9±0,8
2-а	Отрута + тіотриазолін; 100 мг/кг	4/7	12,3±1,2
3-я	Отрута + тіотриазолін; 250 мг/кг	3/7	9,5±2,4
4-а	Отрута + гістидинат міді; 0,94 мг/кг	4/7	12,8±2,7

Примітки:

1. Чисельник – число тварин, які вижили.
2. Знаменник – число тварин у досліді.

При застосуванні тіотриазоліну в дозі 100 мг/кг відсоток летальності знизився до 43 %, а тривалість життя отруєних щурів збільшилася на 7,4 год.

При введенні тіотриазоліну в дозі 250 мг/кг летальність отруєних щурів знизилась до 57 %, а тривалість життя підвищилась - на 4,6 год.

Використання з лікувальною метою гістидинату міді в дозі 0,94 мг/кг призвело до зниження летальності на 43 % і підвищення тривалості життя тварин, що загинули на на 7,9 год.

Таким чином, високу лікувальну ефективність, як свідчать дані виживання і середньої тривалості життя загиблих від отрути блідої поганки щурів, мають тіотриазолін у дозі 100 мг/кг та гістидинат міді у дозі 0,94 мг/кг.

У наступних розділах буде досліджено вплив тіотриазоліну та гістидинату міді на активність вільнорадикальних процесів, ступінь ендогенної інтоксикації та структурно-функціональні зміни в нирках щурів, отруєних екстрактом блідої поганки.

РОЗДІЛ 4

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ЕНДОГЕННІ ІНТОКСИКАЦІЇ В КРОВІ ТА НИРКАХ ТВАРИН, УРАЖЕНИХ ОТРУТОЮ БЛІДОЇ ПОГАНКИ

Вплив природної отрути блідої поганки, що складається з відомих сьогодні 15 токсинів, на стан окиснювальної модифікації білків, утворення оксиду азоту, стан пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту нирок не вивчався. Ми не зустріли також повідомлень про особливості перебігу ендогенної інтоксикації, детоксуючих процесів та вільнорадикального окиснення в нирках за умов дії вищевказаних токсинів.

4.1. Зміни активності процесів перекисного окиснення ліпідів та стану антиоксидантної системи в крові і нирках тварин при отруєнні блідою поганкою

Незважаючи на численні дослідження вітчизняних та закордонних вчених, проблема біохімічних змін в організмі при токсичному ураженні нирок залишається все ще недостатньо вивченою. Порушення перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в нирках під впливом токсичних речовин значною мірою визначає ступінь пригнічення в цьому органі транспортних АТФаз та інших пов'язаних з мембранами ферментів, що є однією із важливих ланок порушення ниркової діяльності і зниження каналцевого транспорту.

Для оцінки стану перекисного окиснення ліпідів ми обрали показники, якими найчастіше керуються в експерименті та клініці – вміст малонового діальдегіду (МДА) і дієнових (ДК) кон'югатів.

Із отриманих нами даних, що наведені в таблиці 4.1, видно, що після введення щурам отрути блідої поганки досліджувані показники істотно змінювались в порівнянні з контрольними тваринами. Під впливом аманіта-

фаллоїдинів токсину інтенсивність ПОЛ зростала як у крові, так і в нирках. Підвищення концентрації дієнових кон'югатів (ДК) спостерігалось в усі терміни. Так, на 6 год концентрація їх в органі збільшилась у 2,9 рази. Максимальні зміни цього показника в нирках були зафіксовані на 24 год, що порівняно з інтактними щурами перевищувало у 3,2 рази, на 72 год – у 2,8 рази. Зміни концентрації ДК у крові спостерігалися такого ж спрямування, де на 6 год вони підвищились у 3,5 рази, на 24 – у 3,7 рази, на 72 – у 3,4 рази.

Так як дієнові кон'югати є проміжним продуктом перекисного окиснення ліпідів, тому ми вважали за доцільне провести дослідження вмісту стабільного вторинного продукту ліпопероксидації - малонового діальдегіду.

Введення щурам отрути блідої поганки зумовлювало істотне підвищення МДА в нирках та крові уражених тварин. На 6 год отруєння вміст МДА в нирках зріс у 3,7 рази, на 24 – у 4,0 рази, на 72 – у 3,5 рази порівняно з інтактними щурами. У крові спостерігалися подібні зміни – на 6 год вміст МДА підвищився у 2,7 рази, на 24 – у 2,8 рази, на 72 – у 2,5 рази.

Таблиця 4.1

Динаміка змін пероксидного окиснення ліпідів у нирках та крові щурів при отруєнні блідою поганкою (M±m)

Показник		Групи тварин			
		контрольні n=6	уражені, терміни після отруєння, год		
			6 n=6	24 n=6	72 n=6
ДК, ·10 ³ од/л(кг)	кров	0,92±0,08	3,25±0,22 P<0,001	3,40±0,16 P<0,001	3,17±0,32 P<0,001
	нирки	2,44±0,15	7,13±0,63 P<0,001	7,75±0,58 P<0,001	6,87±0,61 P<0,001
МДА, мкмоль/л(кг)	кров	1,74±0,21	4,63±0,23 P<0,001	4,89±0,15 P<0,001	4,37±0,16 P<0,001
	нирки	2,09±0,23	7,71±0,48 P<0,001	8,32±0,59 P<0,001	7,23±0,43 P<0,001

Примітки:
 1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками
 2. n – кількість спостережень

Таким чином, отрута блідої поганки призводить до інтенсифікації процесів перекисного окиснення ліпідів як в нирках, так і в крові. При цьому максимальна концентрація проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ в уражених тварин спостерігалась на 24 годину експерименту.

Вивчаючи процеси перекисного окиснення ліпідів, слід враховувати стан і динаміку змін антиоксидантної системи (АОС).

Для вивчення стану АОС ми використовували такі показники: активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, рівень церулоплазміну та SH-груп.

Проведені нами дослідження показали, що під впливом аманіта-фаллоїдинів активність ферментативної і неферментативної ланки антиоксидантної системи нирок значно пригнічувалась.

Із наведених у таблиці 4.2 даних видно, що активність СОД у нирках тварин, уражених отрутою блідої поганки, достовірно знижувалась і становила на 6 год 48,3 %, на 24 год – 15,5%, на 72 год - 22,4 %, у порівнянні з контрольними тваринами. Аналогічна тенденція даного показника спостерігалася у крові отруєних щурів. На 6 год отруєння активність СОД у них становила 48,6 %, на 24-год – 20,3 %, на 72 год – 32,4 % від рівня інтактних. Таке зниження активності СОД можна пояснити тим, що отрута блідої поганки безпосередньо пригнічує активність цього ферменту, внаслідок чого активуються процеси ПОЛ, утворюється пероксид водню, який виступає також інгібітором ферменту. В клітинах H_2O_2 швидко руйнується каталазою. Однак токсичне ураження організму призводило до зниження активності цього гемвмісного ферменту в крові. Так, на 6 год експерименту каталазна активність значно знижувалась і становила 33,7 % від норми. На 24 год вона продовжувала знижуватись і становила 27,2 % від рівня контрольних тварин, а під кінець спостереження активність її дещо підвищилась і становила 32,5 % від норми. В нирках активності цього ферменту в усі періоди експерименту також була зниженою. Найглибші зміни спостерігалися на 24 год після введення щурам отрути блідої поганки. При цьому активність каталази становила лише 43,2 %

від норми, хоча значне зниження активності цього ферменту відмічалось і на 6, і на 72 год отруєння (відповідно 48,0 % та 46,6 % від рівня інтактних).

Таблиця 4.2

Активність супероксиддисмутази та каталази в нирках та крові щурів при отруєнні блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник		Групи тварин			
		контрольні n=6	уражені, терміни після отруєння, год		
			6 n=6	24 n=6	72 n=6
СОД, ум.од./мл	кров	0,074±0,07	0,036±0,002 P<0,001	0,015±0,00 P<0,001	0,024±0,002 P<0,001
	нирки	0,58±0,03	0,28±0,03 P<0,001	0,09±0,01 P<0,001	0,13±0,01 P<0,001
Каталаза, мкат/кг	кров	1,69±0,06	0,57±0,03 P<0,001	0,46±0,03 P<0,001	0,55±0,02 P<0,001
	нирки	4,42±0,07	2,12±0,03 P<0,001	1,91±0,01 P<0,001	2,06±0,02 P<0,001
Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками 2. n – кількість спостережень					

Отримані результати стосовно стану глутатіонової системи наведені у таблиці 4.3. Під впливом отрути блідої поганки вміст SH-груп та активність ГП у нирках та крові тварин суттєво знижувались порівняно з нормою. Вже на 6-у год отруєння активність ГП в нирках становила 52,9 % від рівня інтактних тварин і далі продовжувала знижуватись на 24-у год (39,9 %), а на 72 год становила 45,6 %. Вміст SH-груп у нирках отруєних тварин знижувався дещо менше і становив на 6-у год 76,3 %, на 24-у – 72,9 % і на 72-у – 71,3 % від рівня контрольних тварин.

Щодо активності ГП у крові уражених щурів, то, як і в нирках, вона максимально зменшилась на 24-у годину досліду (24,1 % від рівня інтактних), дещо менше на 6-у (37,9 % від норми) і до кінця спостереження становила 34,5 %. Що стосується змін вмісту SH-груп, то в цей період спостерігалось

поступове зниження їх вмісту в крові від початку до кінця дослідю (60,3, 57,5, і 55,7 % від рівня інтактних відповідно на 6-у, 24-у і 72-у год).

Таблиця 4.3

Активність глутатіонпероксидази та вмісту SH-груп крові та нирках щурів при отруєнні блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник		Групи тварин			
		контрольні n=6	уражені, терміни після отруєння, год		
			6 n=6	24 n=6	72 n=6
ГП, ммоль ГSH/хв л(кг)	кров	0,58±0,003	0,22±0,03 P<0,001	0,14±0,01 P<0,001	0,20±0,01 P<0,001
	нирки	26,65±0,46	14,12±0,37 P<0,001	10,67±0,46 P<0,001	12,17±0,48 P<0,001
SH-групи, ммоль/л(кг)	кров	2,19±0,08	1,32±0,05 P<0,001	1,26±0,05 P<0,001	1,22±0,04 P<0,001
	нирки	3,17±0,08	2,42±0,07 P<0,001	2,31±0,05 P<0,001	2,26±0,04 P<0,001

Примітки:
 1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками
 2. n – кількість спостережень

Зміни даних показників можна пояснити тим, що аманіта-фаллоїдинові токсини викликають активацію процесів перекисного окиснення внаслідок зниження ферментних і неферментних антиоксидантів, а також витрачення їх на нейтралізацію вільнорадикальних продуктів ПОЛ.

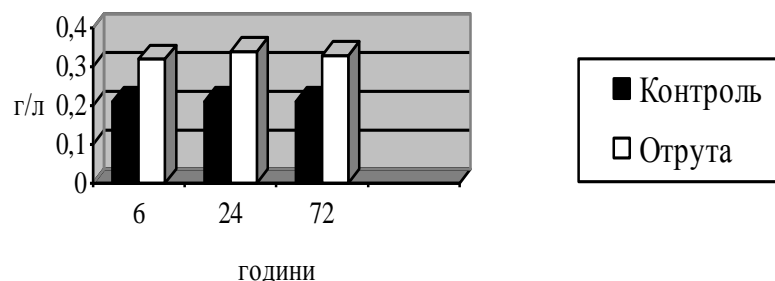


Рис. 4.1. Вміст церулоплазміну в плазмі крові тварин, уражених отрутою блідої поганки

Введення щурам отрути блідої поганки зумовлювало підвищення концентрації церулоплазміну в плазмі крові тварин вже на 6-у год експерименту на 52,4 %, 24-у год - на 61,9 % та 72-у год - на 57,1 % відносно інтактних щурів (рис.4.1). Таке збільшення вмісту металопротеїну можна розцінювати як реакцію на підвищення в плазмі концентрації продуктів ліпопероксидації або зниження його руйнування.

4.2. Вплив отрути блідої поганки на процеси вільнорадикального окиснення білків плазми крові щурів

У біологічних системах постійно утворюються продукти одноелектронного відновлення кисню (супероксидний аніон-радикал, пероксид водню, гідроксильний радикал) – так звані активні форми кисню. Під дією різних несприятливих факторів їх рівень в організмі змінюється і вони можуть спричинювати окиснювальну деструкцію не тільки ліпідів, а й білків. Зважаючи на це, нам важливо було дослідити процеси окиснювальної модифікації білків (ОМБ) в уражених отрутою блідої поганки щурів у різні періоди експерименту.

Про ступінь ОМБ судили за вмістом альдегідо- та кетоніохідних білків нейтрального та основного характеру.

Згідно з отриманими нами даних, що наведені в таблиці 4.4, при дії отрути блідої поганки в плазмі крові уражених тварин вміст окиснених білків зростає. Так, рівень альдегідо- і кетоніохідних нейтрального характеру (ОМБ₃₇₀) у 1,40 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. В цей час вміст альдегідо- і кетоніохідних основного характеру (ОМБ₄₃₀) підвищився порівняно з нормою на 6-у год в 1,17 рази, на 24-у - в 1,21 рази, на 72-у - в 1,18 рази. Однією з причин зростання концентрації окисненомодифікованих білків у плазмі крові тварин, отруєних токсином блідої поганки, може бути зниження активності системи антиоксидантного захисту, особливо ферментів першого ряду, які здатні знешкоджувати активні форми кисню, котрі і є безпосередньою

причиною пероксидного окиснення білків.

Таблиця 4.4

Динаміка вмісту альдегідо- та кетонпохідних нейтрального (ОМБ_{370НМ}) і основного (ОМБ_{430НМ}) характеру (моль/кг білка) в плазмі крові тварин за умов дії отрути блідої поганки ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин			
	контрольні n=6	уражені, терміни після отруєння, год		
		6 n=6	24 n=6	72 n=6
ОМБ ₃₇₀	1,52±0,05	2,16±0,06 P<0,01	2,19±0,06 P<0,01	2,06±0,07 P<0,01
ОМБ ₄₃₀	1,26±0,03	1,48±0,06 P<0,01	1,53±0,05 P<0,01	1,49±0,05 P<0,01
Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками 2. n – кількість спостережень				

При співставленні показників вільнорадикального окиснення ліпідів з показниками окиснювальної модифікації білків (рис. 4.1) спостерігалася

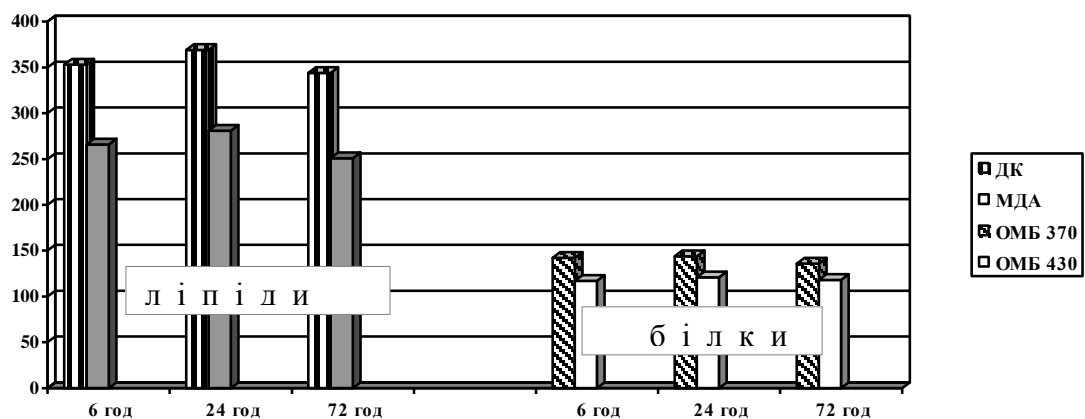


Рис 4.2. Динаміка змін вільнорадикального окиснення ліпідів та білків плазми крові щурів уражених отрутою блідої поганки (за 100 % прийнято показники ПОЛ та ОМБ в інтактних тварин)

однакова спрямованість змін: максимальній активності вільнорадикального окиснення ліпідів на 24-ту годину експерименту отруєних щурів відповідав найвищий вміст окиснених білків. При цьому відмічалася пряма відповідність підвищення вмісту ДК і ОМБ₃₇₀ та МДА і ОМБ₄₃₀ в усі терміни спостереження. Це свідчить про залежність перебігу патологічного процесу від вільнорадикального окиснення ліпідів та ОМБ, що може бути підставою для вибору адекватних методів корекції.

4.3. Роль оксиду азоту в патогенезі ураження нирок отрутою блідої поганки.

Ще одним активним кисневим метаболітом, який відіграє важливу роль у функціонуванні клітин, є оксид азоту (NO). Він є біологічним медіатором, регулюючим численні фізіологічні та патологічні процеси. Взаємодіючи з активними формами кисню (супероксид радикалом) NO утворює токсичні сполуки – пероксинітрити, які, згідно даних літератури, здатні збільшувати ішемію і викликати пошкодження епітеліальних клітин каналців нефронів при гострій нирковій недостатності [122, 228]. Також пероксинітрити індукують пошкодження ДНК і мутації, інгібують функцію ферментів.

Тому метою наших наступних досліджень було прослідкувати зміни вмісту метаболіту NO в процесі ураження нирок отрутою блідої поганки. Про інтенсивність продукції NO робили висновок за кількістю його метаболіту – нітрит-аніону (NO_2^-) в крові та гомогенаті нирок .

У результаті проведених досліджень (табл.4.5), нами виявлено підвищення вмісту нітрит-аніону в сироватці крові уражених тварин. Через 6 год після введення щурам отрути блідої поганки спостерігалось підвищення досліджуваного показника в 1,52 рази, через 24 години – у 4,87 рази порівняно з інтактними тваринами. До кінця експерименту (72 год) відмічалось збільшення вмісту NO_2^- у – 2,46 рази.

Можна припустити, що зростання концентрації метаболіту оксиду азоту в крові тварин під дією аманіта-фаллоїдинової отрути зумовлено активацією

NO – синтазної системи.

У гомогенаті нирок ми спостерігали іншу тенденцію змін вмісту оксиду азоту. На 6 год експерименту відмічалось зниження вмісту нітрит-аніону на 48,66 % порівняно з контролем. На 24 год після введення отрути блідої поганки спостерігалось різке зменшення цього показника (на 83,88 %). Через 72 год від початку досліду рівень NO_2^- знизився порівняно з інтактними тваринами на 75,82 %.

Таблиця 4.5

Вплив отрути блідої поганки на вміст NO_2^- в сироватці крові та в гомогенаті нирок уражених тварин ($M \pm m$)

Об'єкт дослідження	Групи тварин			
	контрольні n=6	уражені, терміни після отруєння, год		
		6 n=6	24 n=6	72 n=6
кров, ммоль/л	1,10±0,09	1,68±0,08 P<0,001	5,36±0,22 P<0,001	2,71±0,13 P<0,001
нирки, ммоль/л	3,35±0,19	1,72±0,10 P<0,001	0,54±0,05 P<0,001	0,81±0,06 P<0,001
Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками 2. n – кількість спостережень				

4.4. Вплив отрути блідої поганки на стан ендогенної інтоксикації в отруєних щурів.

Як відомо з досліджень, проведених останніми роками, різні патологічні стани організму супроводжуються синдромом ендогенної інтоксикації. Під ендогенною інтоксикацією розуміють отруєння організму як кінцевими продуктами метаболізму, так і проміжними сполуками, які нагромаджуються в організмі в концентраціях вище фізіологічних норм за рахунок ушкодження детоксикуючої і видільної систем.

Для об'єктивної оцінки інтоксикаційного синдрому ми вирішили дослідити маркери ендogenous токсичного синдрому - молекули середньої маси (МСМ) та еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІ).

Як показали отримані нами результати досліджень (табл. 4.6), при дії отрути блідої поганки на організм щурів вміст молекул середньої маси у крові був підвищений в усі терміни експерименту, починаючи з 6-ої і до 72 год досліджень. Показники CM_1 та CM_2 , які відображають відповідно вміст ланцюгових та ароматичних амінокислот у середньомолекулярних пептидах та продуктах їх розпаду, у цих тварин були не на однаковому рівні. Вже на 6-у годину досліджень вміст CM_1 в крові уражених щурів зріс у 2,2 рази, на 24-у год – у 2,8 рази, на 72-у год – у 2,4 рази порівняно з інтактними тваринами. В ті ж години експерименту вміст CM_2 в крові отруєних щурів збільшився відповідно у 2,5; 3,8; 3,1 рази.

Таким чином, під впливом отрути блідої поганки відмічалось збільшення концентрації в крові як CM_2 , так і CM_1 . Максимальні значення обох складових МСМ відмічено на 24 год дослідження. Зростання кількості середніх молекул в організмі тварин після введення отрути блідої поганки вказує на посилення катаболічних процесів.

Одночасно із збільшенням у крові тварин, отруєних блідою поганкою, кількості МСМ зростав і сумарний токсичний вплив на мембрани еритроцитів, який проявлявся в достовірному підвищенні ЕІ у всі години експерименту. Так, вже на 6-у год він збільшився на 99,72 % порівняно з інтактними щурами. На 24-у год ЕІ був вищим від контролю на 132,01 %. До кінця дослідження даний показник дещо знизився, але залишався вищим від норми на 108,20%.

Як видно з результатів досліджень, ступінь деструкції мембран еритроцитів (ступінь поглинання барвника) протягом експерименту був найвищим на 24-у годину. Ці зміни, очевидно, викликані тим, що під впливом отрути блідої поганки та факторів ендogenous інтоксикації порушується проникність мембран еритроцитів.

Таблиця 4.6

Динаміка показників ендогенної інтоксикації в сироватці крові щурів,
уражених отрутою блідої поганки ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин			
	контрольні n = 6	уражені, години експерименту		
		6 n = 6	24 n = 6	72 n = 6
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
ЕП, %	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
Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками 2. n – кількість спостережень				

Таким чином, наведені в даному розділі результати досліджень, свідчать про те, що отрута блідої поганки викликає посилення процесів вільнорадикального окиснення не лише ліпідів, але й білків. При цьому активність ферментативної та неферментативної ланки антиоксидантної системи нирок значно знижується. Найбільше зростання нефротоксичного ефекту аманіта-фаллоїдинів спостерігається на 24 годину експерименту, що співпадає з піком розвитку синдрому ендогенної інтоксикації та пригніченням функції нирок.

Аналіз результатів дослідів, наведених у розділі 4, дозволяє зробити наступні узагальнення:

- Аманіта-фаллоїдинові токсини блідої поганки активують у щурів процеси перекисного окиснення ліпідів, свідченням чого є підвищення концентрації дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду до максимальних величин на 24 годину як у крові, так і в тканинах нирок.

- Отрута блідої поганки пригнічує активність ферментів антиоксидантної системи: супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази та вміст SH-груп в досліджуваних тканинах.
- Внаслідок активації вільнорадикальних процесів та пригнічення активності антиоксидантної системи під впливом токсинів блідої поганки в організмі тварин зростає вміст окисненомодифікованих білків, зокрема альдегідо- та кетоніохідних нейтрального і основного характеру у всі терміни спостереження.
- Отрута блідої поганки сприяє підвищенню в крові вмісту метаболіту NO – нітрит-аніону, про що свідчить підвищення концентрації його в крові на 24 год у 4,87 рази і зниженню в нирках на 83,8 %.
- В міру розвитку аманіта-фаллоїдинової інтоксикації в організмі тварин активуються катаболічні процеси, зростає рівень ендогенної інтоксикації, що проявляється підвищенням вмісту в крові і нирках молекул середньої маси, еритроцитарного індекса інтоксикації, як показника сумарного впливу на мембрани.

Матеріали розділу опубліковані в роботах [138, 142].

РОЗДІЛ 5

ДИНАМІКА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ І СТРУКТУРНИХ ПОРУШЕНЬ В ПРОЦЕСІ РОЗВИТКУ УРАЖЕННЯ НИРОК АМАНІТА-ФАЛЛОЇДИНОВИМИ ТОКСИНАМИ

Незважаючи на чисельні дослідження як вітчизняних, так і закордонних вчених, патогенетичні механізми порушень в організмі при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації залишаються все ще недостатньо вивченими. Враховуючи той факт, що в процесі розвитку інтоксикації змінюється відповідь організму на вплив отрути, ми вважали за необхідне дослідити динаміку змін інтенсивності цих процесів. Оскільки одним із органів-мішеней для токсинів блідої поганки є нирки, то про її нефротоксичність судили на підставі виявлених в них функціональних, біохімічних та морфологічних змін.

5.1. Функціональні зміни в нирках при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації

Як показали результати досліджень, ураження нирок отрутою блідої поганки супроводжується глибокими змінами їх функціонального стану. Через 6 годин після введення піддослідним тваринам отрути, блідої поганки діурез зменшився на 40,93 % порівняно з інтактними щурами, а швидкість клубочкової фільтрації знизилась в 2,68 рази (табл. 5.1). Концентрація креатиніну в плазмі підвищилась на 52 %, а в сечі - знизилась на 6,86 %, що призвело до зменшення концентраційного індексу в 1,61 рази. Концентрація іонів калію в сечі збільшилась в 2,72 рази. Реабсорбція води знизилась, а екскреція білка, стандартизована за об'ємом клубочкової фільтрації, зросла у 6,97 рази.

Концентрація іонів натрію в сечі тварин через 6 год після введення отрути блідої поганки (табл. 5.2) підвищилась у 2,08 рази, а стандартизована за об'ємом

Таблиця 5.1

Характеристика функціонального стану нирок у щурів за умов водного навантаження через 6 год після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин	
	контрольні n=6	уражені n=6
Діурез мл/год	1,93±0,09	1,14±0,10 P<0,001
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	9,22±0,80	25,06±0,75 P<0,001
Екскреція калію, мкмоль/год	17,81±1,68	28,67±2,77 P<0,01
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	52,37±2,54	79,59±4,92 P<0,05
Концентрація креатиніну в сечі, мкмоль/л	653,67±17,33	608,83±29,35 P>0,05
Концентраційний індекс креатиніну, од	12,61±0,61	7,82±0,58 P<0,01
Екскреція креатиніну, мкмоль/год	1,26±0,04	0,70±0,07 P<0,001
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/год	24,37±1,60	9,06±1,26 P<0,001
Реабсорбція води, %	91,98±0,37	86,84±1,02 P<0,01
Екскреція білка, мг/100мкл КФ	0,177±0,018	1,235±0,120 P<0,001
Примітки:		
1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками;		
2. n – кількість спостережень		

клубочкового фільтрату екскреція іонів натрію зросла в 3,50 рази, що призвело до розвитку гіпонатріємії (концентрація іонів натрію в плазмі крові зменшилась на 7,11 %). Причиною високої екскреції іонів натрію було пошкодження

Таблиця 5.2

Характеристика каналцевого транспорту іонів натрію у щурів
через 6 год після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин	
	контрольні n=6	уражені n=6
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	1,04±0,16	2,16 ±0,10 P<0,001
Екскреція іонів натрію мкмоль/100мкл КФ	0,008±0,001	0,028±0,002 P<0,001
Екскреція іонів натрію мкмоль/год	2,00±0,19	2,48±0,27 P>0,05
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	141,29±1,11	131,25±2,76 P<0,02
Фільтраційний заряд іонів натрію, ммоль/год	3,45±0,24	1,19±0,17 P<0,001
Концентраційний індекс натрію, од	0,007±0,001	0,016±0,001 P<0,001
Коефіцієнт співвідношення концентрацій іонів натрію та калію в сечі, од	0,11±0,01	0,08±0,01 P<0,05
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, ммоль/год/100г	3,44±0,24	1,19±0,17 P<0,001
Кліренс безнатрієвої води, мл/год	1,92±0,09	1,12±0,09 P<0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	13,00±0,14	11,40±0,26 P<0,01
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	1,12±0,05	1,70±0,14 P<0,05
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	3,17±0,23	1,04±0,16 P<0,001
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	271,09±12,13	147,97±13,91 P<0,001
Примітки:		
1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками;		
2. n – кількість спостережень.		

проксимального відділу нефрона. У 2,89 рази зменшився фільтраційний заряд іонів натрію. Та, не дивлячись на обмеження фільтраційного завантаження нефронів, абсолютна реабсорбція іонів натрію була нижчою за контрольні величини (табл. 5.2). Внаслідок збільшення концентрації іонів натрію в сечі зростав показник концентраційного індексу цього катіону в 2,28 рази та натрій-калієвий коефіцієнт – зменшувався в 1,37 рази. Кліренс безнатрієвої води був нижчим, ніж у контрольній групі тварин на 41,67 %. На 12,31 % знизилась стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату проксимальна реабсорбція іонів натрію, тоді як дистальний транспорт цього електроліту, стандартизований за об'ємом клубочкового фільтрату, зріс на 51,78 % (табл. 5.2).

Отрута блідої поганки через 6 годин після введення порушила також кислотовидільну функцію нирок. При цьому зменшилась екскреція титрованих кислот на 28,06 % (табл. 5.3). Слід зауважити, що рН сечі при цьому достовірних змін не зазнало.

Таблиця 5.3

Характеристика змін кислотовидільної функції нирок у щурів через 6 год після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин	
	контрольні n=6	уражені n=6
1	2	3
рН сечі	6,53±0,57	6,89±0,19 P>0,05
Екскреція титрованих кислот мкмоль/год	36,32±3,41	26,13±1,89 P<0,05
Екскреція аміаку, мкмоль/год	125,27±9,44	103,56±6,05 P>0,05
Екскреція іонів водню, нмоль/год	1,02±0,08	0,97±0,08 P>0,05
Продовження табл. 5.3		

1	2	3
Амонійний коефіцієнт, од	3,54±0,33	3,96±0,29 P>0,05
Примітки:		
1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками;		
2. n – кількість спостережень		

Таким чином, отрута блідої поганки порушує екскреторну функцію нирок з ураженням проксимального відділу нефрона та активацією механізмів тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку із зменшенням швидкості клубочкової фільтрації. Зміни ниркового кислотовиділення зумовлені переважно пригніченням каналцевого транспорту іонів натрію.

Через 24 години після введення отрути блідої поганки у піддослідних тварин відмічали значне зниження, у порівнянні з контрольною групою тварин, індукованого водного діурезу (на 63,22 %), в той час клубочкова фільтрація зменшилась на 85,27 % (табл. 5.4). Відмічалася також калійурична реакція: концентрація іонів калію в сечі зростала у 3,70 рази. При цьому екскреція іонів калію збільшилась на 46,77 %. Концентрація креатиніну в плазмі зросла у 2,07 рази, що призвело до зниження концентраційного індексу ендogenous креатиніну в 2,49 рази. А зниження концентрації креатиніну в сечі в 1,22 рази та зменшення діурезу спричинило падіння екскреції креатиніну в 3,32 рази. Знижувалась також інтенсивність каналцевого транспорту води. Отрута блідої поганки збільшувала стандартизовану за об'ємом клубочкового фільтрату екскрецію білка в 13,72 разів, що може вказувати на значне пошкодження гломерулярного фільтра та проксимального відділу нефрона.

Концентрація іонів натрію в плазмі крові на 24 год експерименту (табл. 5.5) зменшилась на 9,75 % порівняно з контролем, а концентрація іонів натрію в сечі тварин збільшилась у 2,17 рази. При цьому екскреції катіону, стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату, перевищувало контрольні показники в 5,62 рази. Внаслідок значного пошкодження

Таблиця 5.4

Характеристика функціонального стану нирок у щурів за умов водного навантаження через 24 год після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин	
	контрольні n=6	уражені n=6
Діурез мл/год	1,93±0,09	0,71±0,04 P<0,001
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	9,22±0,80	34,14±0,64 P<0,001
Екскреція калію, мкмоль/год	17,81±1,68	26,14±1,26 P<0,05
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	52,37±2,54	108,25±6,83 P<0,001
Концентрація креатиніну в сечі, мкмоль/л	653,67±17,33	537,33±12,10 P<0,01
Концентраційний індекс креатиніну, од	12,61±0,61	5,06±0,33 P<0,001
Екскреція креатиніну, мкмоль/год	1,26±0,04	0,38±0,02 P<0,001
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/год	24,37±1,37	3,59±0,31 P<0,001
Реабсорбція води, %	91,98±0,37	79,86±1,19 P<0,001
Екскреція білка, мг/100мкл КФ	0,177±0,018	2,429±0,106 P<0,001
Примітки:		
1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками;		
2. n – кількість спостережень		

гломерулярного фільтра та реакції нирок на гіпонатріємію різко знизився фільтраційний заряд іонів натрію – у 7,50 рази. При дії отрути блідої поганки відмічали різке зниження абсолютної реабсорбції іонів натрію – на 86,92 %. Пригнічення проксимального транспорту цього катіону призводило до

Таблиця 5.5

Характеристика змін каналцевого транспорту іонів натрію у щурів
через 24 год після отруєння блідою поганкою (M±m)

Показник	Групи тварин	
	контрольні n=6	уражені n=6
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	1,04±0,16	2,26 ±0,10 P<0,001
Екскреція іонів натрію мкмоль/100мкл КФ	0,008±0,001	0,045±0,003 P<0,001
Екскреція іонів натрію мкмоль/год	2,00±0,19	1,60±0,12 P>0,05
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	141,29±1,11	127,52±1,93 P<0,001
Фільтраційний заряд іонів натрію, ммоль/год	3,45±0,24	0,46±0,03 P<0,001
Концентраційний індекс натрію, од	0,007±0,001	0,018±0,001 P<0,001
Коефіцієнт співвідношення концентрацій іонів натрію та калію в сечі, од.	0,11±0,01	0,06±0,002 P<0,001
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год/100г	3,44±0,24	0,45±0,03 P<0,001
Кліренс безнатрієвої води, мл/год	1,92±0,09	0,70±0,04 P<0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	13,00±0,14	10,18±0,13 P<0,001
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	1,12±0,04	2,53±0,18 P<0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	3,17±0,23	0,36±0,03 P<0,001
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	271,09±12,13	88,50±4,23 P<0,001
Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками; 2. n – кількість спостережень.		

зростання його концентраційного індексу в 2,57 рази, а натрій-калієвий коефіцієнт зменшився на 45,46 %. Кліренс безнатрієвої води був нижчим, ніж у контрольній групі тварин на 63,55 %. Втрати іонів натрію з сечею супроводжувалися зниженням кліренсу безнатрієвої води, що свідчить про неадекватну реакцію нирок на регуляторні сигнали за умов водного навантаження. Стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату проксимальна реабсорбція іонів натрію знизилась на 21,69 %, тоді як дистальний транспорт цього електроліту зріс у 2,25 рази (табл. 5.5).

Через 24 год після отруєння блідою поганкою порушилась також кислотовидільна функція нирок: рН сечі підвищилась на 7,80 % (табл. 5.6). Екскреція титрованих кислот та аміаку зменшилась відповідно у 4,53 та 2,94 рази. При цьому амонійний коефіцієнт збільшився на 58,2 %. Екскреція іонів водню у 12,75 рази зменшилась.

Таблиця 5.6

Характеристика змін кислотовидільної функції нирок у щурів через 24 год після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин	
	контрольні n=6	уражені n=6
рН сечі	6,53±0,57	7,04±0,12 P<0,05
Екскреція титрованих кислот мкмоль/год	36,32±3,41	8,01±0,84 P<0,001
Екскреція аміаку, мкмоль/год	125,27±9,44	42,63±2,47 P<0,001
Екскреція іонів водню, нмоль/год	1,02±0,08	0,08±0,01 P<0,001
Амонійний коефіцієнт, од	3,54±0,33	5,60±0,65 P<0,05
Примітки:		
1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками;		
2. n – кількість спостережень		

Таким чином, на 24 год інтоксикації тварин отрутою блідої поганки спостерігається наростання нефротоксичного ефекту з порушенням екскреторної, іонорегулюючої і кислотовидільної функції нирок.

Зміни функціонального стану нирок внаслідок дії отрути блідої поганки на організм щурів спостерігалися і на 72 год експерименту (табл. 5.7). Порівняно з контрольною групою тварин діурез в уражених зменшився на 59,07 %,

Таблиця. 5.7

Характеристика функціонального стану нирок у щурів за умов водного навантаження через 72 год після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин	
	контрольні n=6	уражені n=6
Діурез мл/год	1,93±0,09	0,79±0,05 P<0,001
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	9,22±0,80	26,78±0,85 P<0,001
Екскреція калію, мкмоль/год	17,81±1,68	21,22±1,61
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	52,37±2,54	92,33±4,28 P<0,001
Концентрація креатиніну в сечі, мкмоль/л	653,67±17,33	540,83±16,45 P<0,01
Концентраційний індекс креатиніну, од	12,61±0,61	5,90±0,26 P<0,001
Екскреція креатиніну, мкмоль/год	1,26±0,04	0,43±0,04 P<0,05
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/год	24,37±1,60	4,73±0,49 P<0,001
Реабсорбція води, %	91,98±0,37	82,90±0,77 P<0,001
Екскреція білка, мг/100мкл КФ	0,177±0,018	1,523±0,123 P<0,001
Примітки:		
1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками;		
2. n – кількість спостережень		

а швидкість клубочкової фільтрації - на 80,59 %. Концентрація іонів калію в сечі зросла у 2,90 рази, а екскреція цього катіону - у 1,19 рази. Концентрація креатиніну в плазмі підвищилась лише на 76,30 %, а в сечі - знизилась на 17,26 %, що призвело до зменшення концентраційного індексу у 2,14 рази. Реабсорбція води зменшилась на 9,88 %, а екскреція білка, стандартизована за об'ємом клубочкової фільтрації, зросла у 8,60 рази.

На 72 годину після отруєння блідою поганкою зростала у 5,37 рази екскреція іонів натрію, стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату (табл. 5.8). Реакція нирок на гіпонатріємію (концентрація іонів натрію в плазмі була нижчою від контролю на 14,72 %), характеризувалась значним обмеженням фільтраційної фракції цього катіону – у 6 разів. Концентраційний індекс натрію збільшився в 3 рази за рахунок пригнічення проксимальної реабсорбції іонів натрію (на 23,15 %). При цьому дистальна реабсорбція іонів натрію, стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату, збільшувалась у 1,77 рази. Абсолютна реабсорбція цього катіону залишилась нижче норми на 83,48 %. Кліренс безнатрієвої води був нижчим за контрольні величини на 60 %.

Таблиця 5.8

Характеристика змін каналцевого транспорту іонів натрію у щурів через 72 год після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин	
	контрольні n=6	уражені n=6
1	2	3
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	1,04±0,16	2,52 ±0,11 P<0,001
Екскреція іонів натрію мкмоль/100мкл КФ	0,008±0,001	0,043±0,003 P<0,001
Екскреція іонів натрію мкмоль/год	2,00±0,19	1,99±0,16 P>0,05
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	141,29±1,11	120,49±1,51 P<0,001

Продовження табл.5.8		
1	2	3
Фільтраційний заряд іонів натрію, ммоль/год	3,45±0,24	0,57±0,05 P<0,001
Концентраційний індекс натрію, од	0,0073±0,0011	0,0212±0,0008 P<0,001
Коефіцієнт співвідношення концентрацій іонів натрію та калію в сечі, од.	0,11±0,01	0,18±0,01 P<0,01
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год/100г	3,45±0,24	0,57±0,05 P<0,001
Кліренс безнатрієвої води, мл/год	1,92±0,09	0,77±0,03 P<0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	13,00±0,14	9,85±0,13 P<0,001
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	1,12±0,05	1,99±0,09 P<0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	3,17±0,23	0,47±0,05 P<0,001
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	271,09±12,13	93,49±0,68 P<0,001
Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контрольними показниками; 2. n – кількість спостережень.		

Кислотовидільна функція нирок продовжувала порушуватись і на 72 годину після отруєння блідою поганкою (табл. 5.9). Амонійний коефіцієнт зростав на 125,0 % порівняно з контрольною групою тварин. Відмічалось також зниження екскреції титрованих кислот на 68,53 %, екскреції аміаку – на 27,48 %, екскреції іонів водню – на 90,50 %.

Таблиця 5.9

Характеристика змін кислотовидільної функції нирок у щурів
через 72 год після отруєння блідою поганкою (M±m)

Показник	Групи тварин	
	контрольні n=6	уражені n=6
pH сечі	6,53±0,57	7,09 ±0,06 P<0,05
Екскреція титрованих кислот мкмоль/год	36,47±2,42	11,54±0,88 P<0,001
Екскреція аміаку, мкмоль/год	125,27±9,44	90,84±9,92 P<0,05
Екскреція іонів водню, нмоль/год	1,02±0,08	0,10±0,01 P<0,001
Амонійний коефіцієнт, од	3,54±0,33	7,97±0,60 P<0,001
Примітки:		
1. P– достовірність різниці порівняно з контрольними показниками;		
2. n – кількість спостережень		

Отрута блідої поганки викликає пошкодження нирок на рівні проксимальних каналців, що призводить до зниження швидкості клубочкової фільтрації за рахунок активації тубуло-гломерулярного зворотнього зв'язку і викликало розвиток ретенційної азотемії із збільшенням концентрації креатиніну в плазмі крові; найбільше наростання нефротоксичного ефекту аманіта-фаллоїдинової отрути з порушенням екскреторної, іонорегулюючої і кислотовидільної функції нирок спостерігалось на 24 год інтоксикації тварин отрутою блідої поганки.

5.2. Морфологічні зміни в нирках при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації

На даному етапі дослідження було поставлено завдання з'ясувати характер і ступінь змін структурної організації нирок в процесі розвитку аманіта-фаллоїдинової інтоксикації у щурів.

Зокрема, через 6 годин після введення тваринам отрути блідої поганки в нирках виявлялися характерні зміни в нефронах та інтерстиції. Привертало увагу виражене малокрів'я судин кіркової та юкстамедулярної зон при вогнищевому повнокрів'ї судин, розташованих у ниркових пірамідах. Зберігалася типова будова нефронів, але капіляри ниркових тілець містили мало еритроцитів (запустівали), а в просвітах капсули Шумлянського-Боумена виявлялася набрякова рідина. Просвіти звивистих канальців нерівномірно розширювалися, цитоплазма епітеліоцитів мутніла. Спостерігався вихід формених елементів крові за межі судинного русла (рис. 5.1).

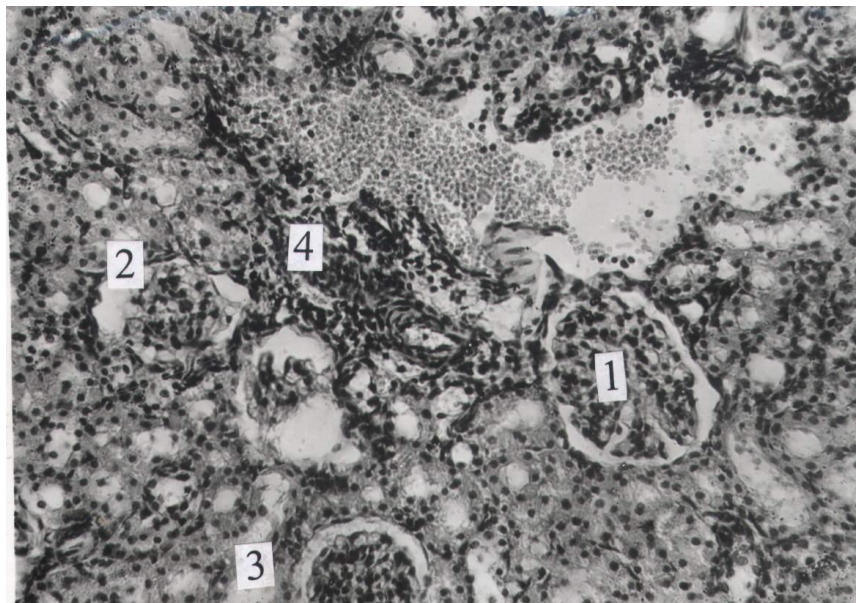


Рис. 5.1. Кіркова речовина нирки щура через 6 год після введення отрути блідої поганки. Малокрів'я кіркових нефронів, розширення просвіту капсули Шумлянського-Боумена (2), розширення просвітів звивистих канальців (3), інфільтрація інтерстицію (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 200.

При електронномікроскопічних дослідженнях було виявлено зміни всіх структурних компонентів нефронів піддослідних тварин. В ниркових тільцях кіркових нефронів порушувалася структура компонентів фільтраційного бар'єру. Просвіти гемокапілярів запусівали, в них практично були відсутні формені елементи крові. В цитоплазмі ендотеліоцитів спостерігалися ознаки дестабілізації мембранних органел, в ядрах переважали гетерохроматин, ядерця виявлялися рідко. Базальна мембрана виразно розпушувалася та потовщувалася, втрачаючи при цьому типову тришарову будову. Суттєво змінювалися подоцити, їх цитопедикули втрачали чіткість, місцями руйнувалися (рис. 5.2).

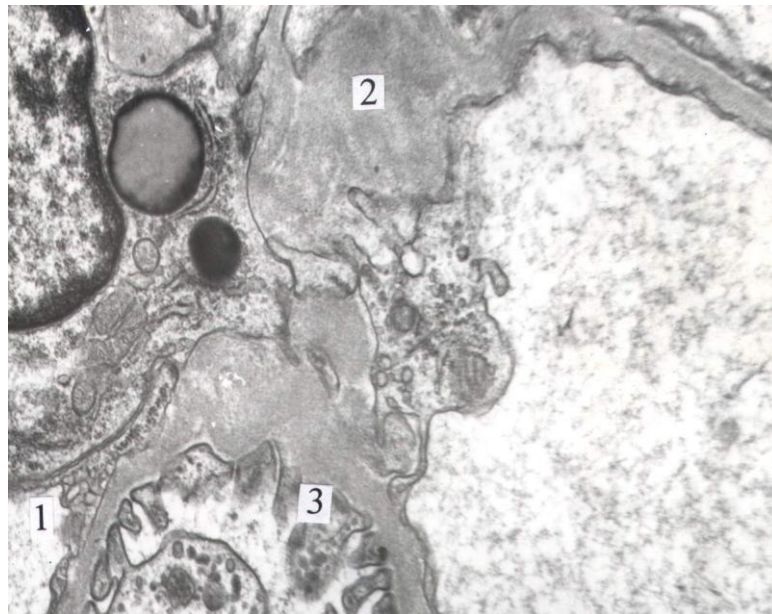


Рис. 5.2. Фрагмент ниркового тільця в кірковій речовині нирки щура через 6 год після введення токсину блідої поганки. Просвіт гемокапіляра незначно звужений (1), виразно потовщена та гомогенізована базальна мембрана (2), деструкція цитопедикул (3). x 11 000.

В цитоплазмі епітеліоцитів звивистих каналців переважно проксимального відділу нефронів виявлялися розширені елементи едоплазматичної сітки та цистерн апарату Гольджі, а також наявні численні лізосоми. Деструкція мітохондрій супроводжувалася просвітленням їх матриксу та частковим руйнуванням крист. Спостерігалось фокальне

відшарування мікрворсинок з апікальної поверхні клітин, при цьому вони нерідко розташовувалися поблизу “оголеної” поверхні клітин. Зменшувалася кількість та розміри інвагінацій цитолемі базальної частини клітин, порушувалося впорядковане розташування мітохондрій у складках плазмолемі. Базальна мембрана каналців втрачала чіткість, місцями погано конкурувалася (рис.5.3).

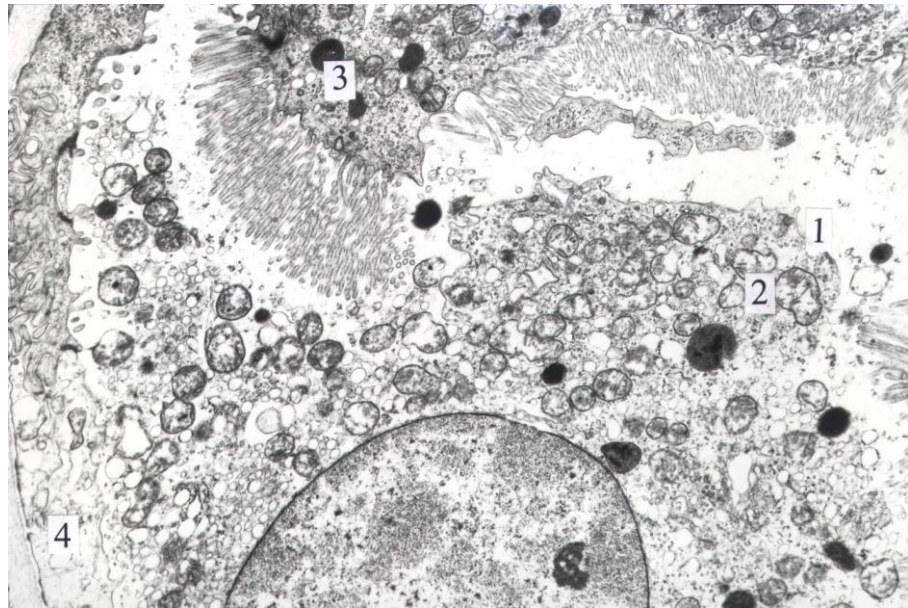


Рис. 5.3. Фрагмент проксимального звивистого каналця кіркового нефрона щура через 6 год після введення токсину блідої поганки. Руйнування мікрворсинок (1), дезорганізація структури мітохондрій (2), лізосоми (3), порушення базальної посмугованості клітини (4). x 8 000

Через 24 год від початку дослідю зміни в нирках наростали. Значна частина клубочків спадалася, просвіти їх капсул були помітно розширені, виповнені набряковою рідиною. Цитоплазма епітеліоцитів звивистих каналців дрібнозерниста, в них майже не виявлялася базальна посмугованість. Просвіти каналців суттєво розширювалися, заповнювалися скупченнями відшарованих мікрворсинок. В цей термін дослідю більш виразних змін зазнавали дистальні

відділи нефронів (рис. 5.4). Судини юкстамедулярної та мозкової зони були виповнені форменими елементами крові.

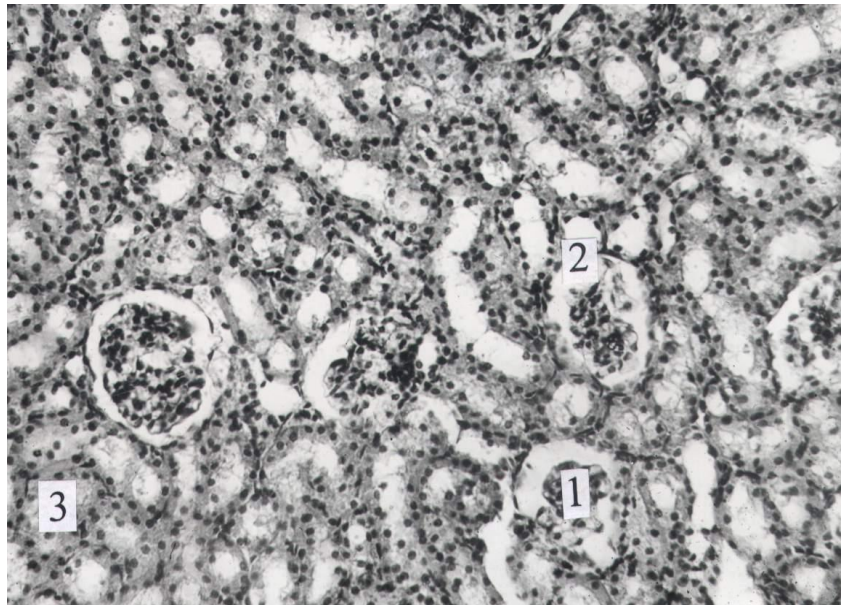


Рис. 5.4. Кіркова речовина нирки щура через 24 год після введення отрути блідої поганки. Зморщення клубочків кіркових нефронів (1), виразне розширення просвіту капсули Шумлянського-Боумена (2), розширення просвітів звивистих каналців (3), зернистість цитоплазми їх епітеліоцитів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 200.

Ультраструктурні зміни мальпігієвих тілець кіркових нефронів характеризувалися посиленням гомогенізації базальної мембрани, вакуолізацією цитоплазми ендотеліальних клітин. Наростали зміни в подоцитах, їх цитотрабекули набрякали, цитоплазма просвітлювалася, а цитопедикули витонщувалися та ущільнювалися (рис. 5.5).

В цей термін досліду наростали зміни в тубулярному апараті нефронів. В епітеліоцитах проксимальних звивистих каналців спостерігали суттєве просвітлення їх апікальних полюсів, мітохондрії із просвітленим матриксом мали неправильну форму, кристи їх погано контурувалися, порушувалося впорядковане розташування мітохондрій в базальній частині клітин (рис. 5.6).

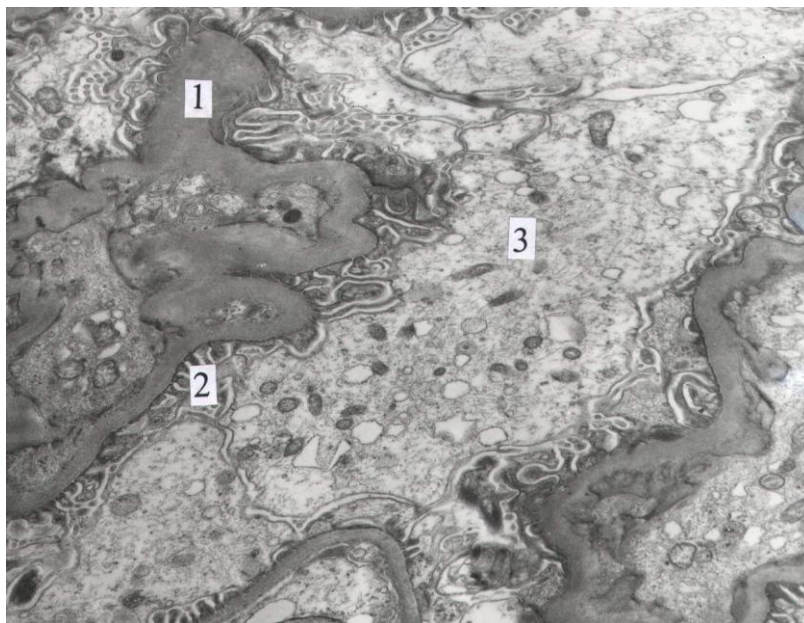


Рис. 5.5. Фрагмент ниркового тільця кіркової речовини щура через 24 год після введення токсину блідої поганки. Виразна гомогенізація базальної мембрани (1), витончення та ущільнення цитопедикул (2), набряк цитотрабекул (3). x 9 000.

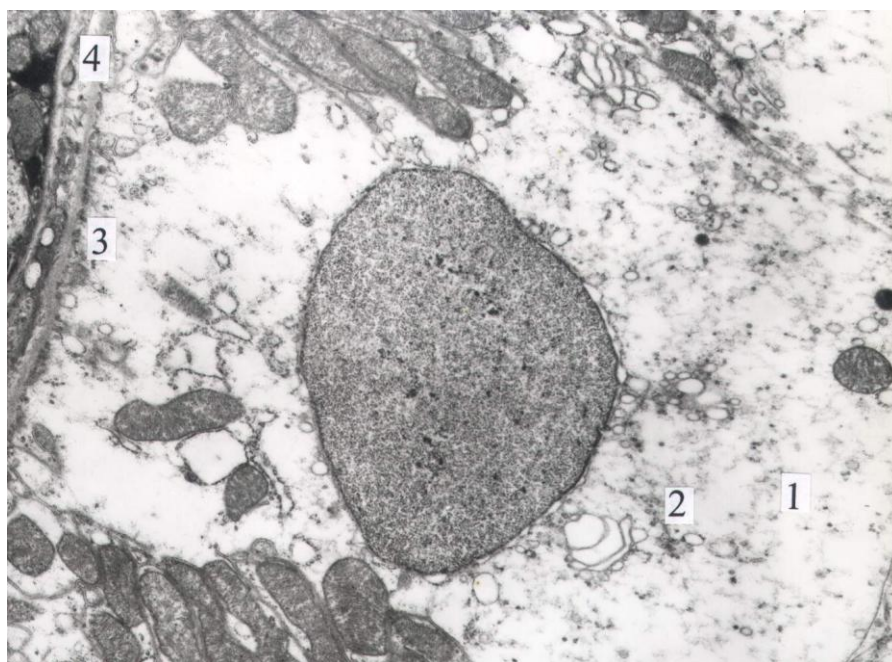


Рис. 5.6. Фрагмент проксимального відділу нефрона через 24 год після отруєння щура. Набряк цитоплазми, руйнування органел у апікальній частині епітеліоцита (1), гіпертрофія мітохондрій та деструкція їх мембран (2), втрата базальної посмугованості (3), x 11 000.

В епітеліоцитах дистальних звивистих каналців чітко простежувався поліморфізм змін: в окремих клітинах спостегігався значний набряк цитоплазми. Вакуолізувалися елементи комплексу Гольджі та ендоплазматичної сітки. Мітохондрії при цьому виглядали менш зміненими, їх кристи були впорядковано розміщені. В базальній частині клітин зменшувалась кількість інвагінацій цитолеми. Перитубулярна базальна мембрана погано контурувала, а місцями була повністю зруйнована (рис. 5.7).

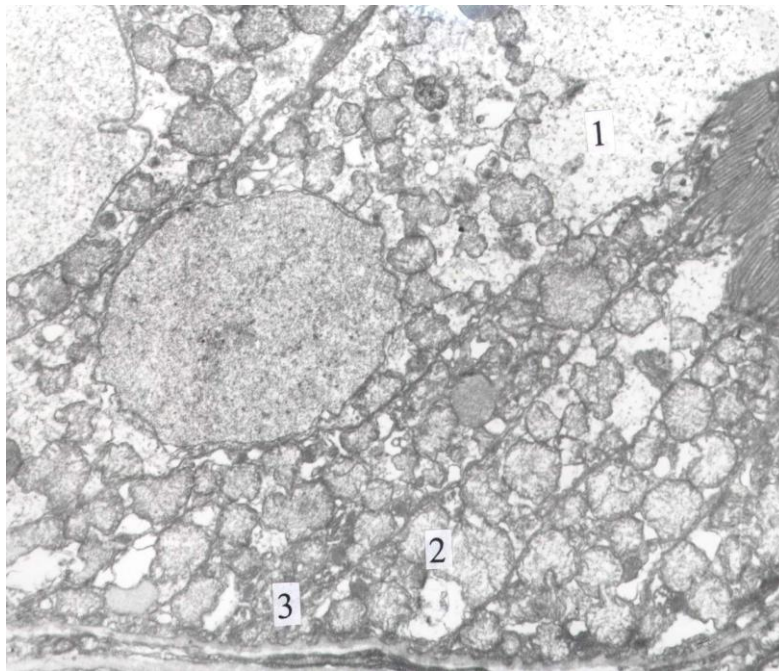


Рис. 5.7. Фрагмент дистального каналця кіркового нефрона через 24 год після отруєння щура. Значний набряк цитоплазми епітеліоцита (1), деструкція органел (2), порушення базальної посмугованості (3) . x 14 000.

Гістологічні зміни в нирках через 72 год після введення отрути блідої поганки свідчили про наростання гемодинамічних порушень, що проявлялося помітним збільшенням епітеліоцитів проксимальних каналців, ектопією їх ядер, вакуолізацією цитоплазми. Нерідко в просвітах каналців виявлялися злущені клітини, тому просвіти каналців погано контурувалися. Апікальні частини епітеліоцитів дистальних каналців були просвітлені. Спостерігалось виразне повнокрів'я судин перитубулярної сітки, що супроводжувалося

локальними виходами формених елементів крові за межі судинного русла у вигляді вогнищевих крововиливів (рис. 5.8.).

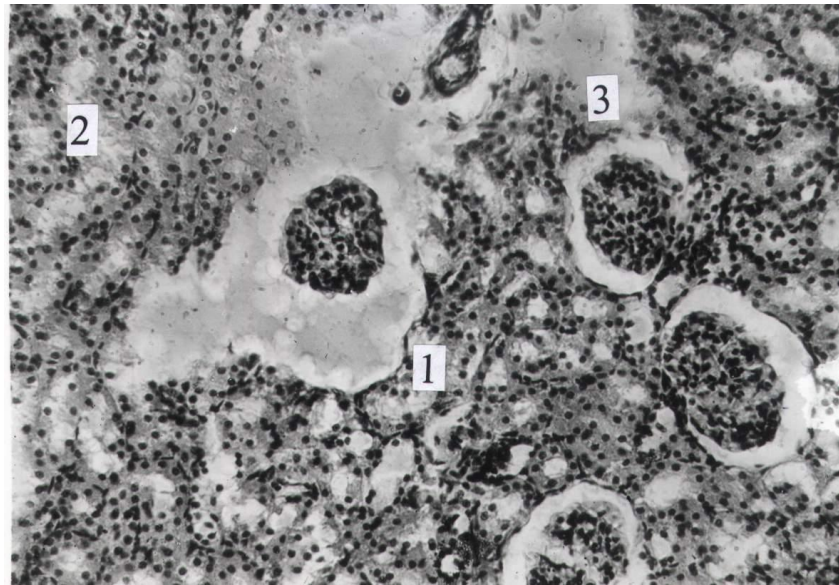


Рис. 5.8. Кіркова речовина нирки щура через 72 години після введення отрути блідої поганки. Вакуолізація цитоплазми епітеліоцитів проксимальних каналців (1), просвітлення апікальних частин епітеліоцитів дистальних каналців (2), набряк інтерстицію (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 200.

При електронномікроскопічних дослідженнях в даний термін дослідження спостерігалось виразне просвітлення цитоплазми ендотеліоцитів та подоцитів, у цитотрабекулах яких виявлялися численні вакуолі різних розмірів, іноді це вакуолізовані каналці ендоплазматичної сітки із поодинокими рибосомами на поверхні. Як і в попередні терміни досліду, базальні мембрани були гомогенізовані та розпушені (рис. 5.9).

Подібні зміни спостерігалися і в тубулярному апараті нефронів: цитоплазма епітеліоцитів була світла, особливо в апікальній частині клітин, містила невелику кількість органел. На поверхні епітеліоцитів проксимальних відділів спостерігалася помірна кількість мікрворсинок. Матрикс мітохондрій просвітлений, кристи частково зруйновані. Плазмолема базальної частини клітин місцями зруйнована. Перитубулярні базальні мембрани розпушені (рис.5.10).

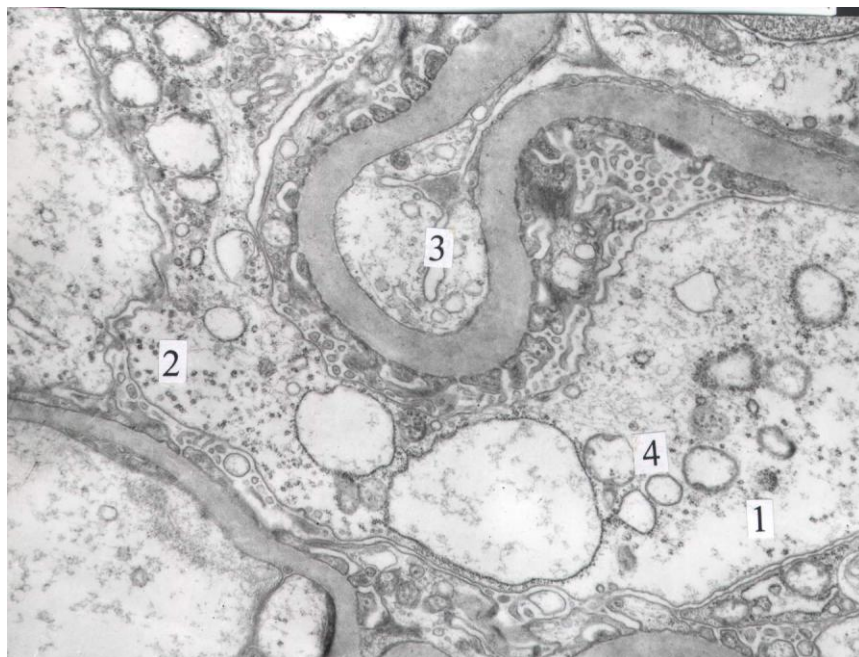


Рис. 5.9. Фрагмент ниркового тільця кіркової речовини нирки щура через 72 год після отруєння токсином білої поганки. Набряк тіл епітеліоцитів (1) та цитотрабекул (2), вузький просвіт гемокапіляра (3), вакуолі різної величини в цитоплазмі подоцитів (4). x 9 000.

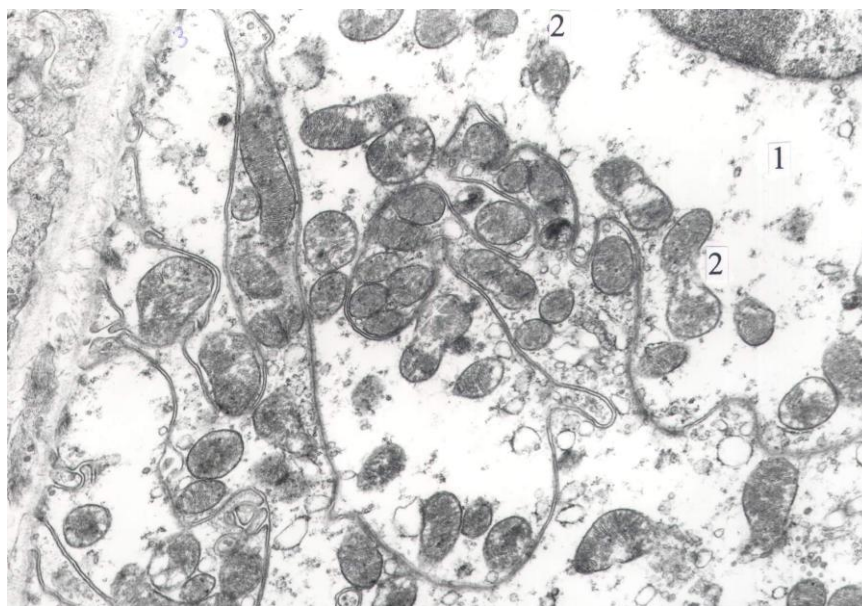


Рис. 5.10. Фрагмент дистального звивистого каналця нефрона через 72 год після отруєння щура токсином білої поганки. Світла набрякла цитоплазма епітеліоцитів (1), руйнування мітохондрій (2) та мембран базальної частини плазмолемі (3). x 17 000.

Аналізуючи результати дослідів, наведених у розділі 5, можна зробити наступні узагальнення:

- Отрута блідої поганки порушує екскреторну функцію нирок внаслідок ураження їх на рівні клубочків і канальців проксимального відділу нефрона з активацією механізмів тубулогломерулярного зворотнього зв'язку і зниженням швидкості клубочкової фільтрації.
- Зміни іонорегулюючої функції нирок при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації характеризуються підвищенням екскреції натрію із зменшенням його концентрації в плазмі та зниженням реабсорбції в проксимальних канальцях. Підвищена дистальна реабсорбція, стандартизована за цього катіону є недостатньою для збереження постійної його концентрації в плазмі крові.
- Зміни кислотовидільної функції нирок при дії даної грибної отрути характеризуються зниженням ацидифікації сечі за рахунок зниження ацидогенезу та амоніогенезу.
- Характерними особливостями порушень морфо-функціонального стану нирок під впливом отрути блідої поганки є дистрофічно-некротичні ураження гломерулярно-тубулярного апарату, які з'являються на 6 год і максимально проявляються на 24-72 год інтоксикації. Ультраструктурною основою виявлених змін є дестабілізація та деструкція мембранних компонентів клітин, а також гомогенізація і руйнування базальних мембран.

Матеріали даного розділу опубліковані в роботах [143, 144].

РОЗДІЛ 6

ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ НА ПОРУШЕННЯ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ, РОЗВИТОК ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНО-СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В НИРКАХ ТВАРИН, ОТРУЄНИХ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ

У попередньому розділі нами виявлено закономірності ураження нирок отрутою блідої поганки, які супроводжуються структурними порушеннями фільтраційного бар'єру, проксимального і дистального тубулярного апарату, активацією механізмів тубулогломерулярного зворотного зв'язку та посиленням процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і білків, що, в свою чергу, спричинює пригнічення АОС та зниження функції нирок. Тому наступним кроком наших досліджень був пошук адекватних методів корекції виявлених змін за допомогою антиоксидантів. Згідно з даними літератури [3, 29, 31], сучасним препаратом, який здатний активувати антиоксидантну систему в ішемізованому органі з вираженим гальмуванням процесів ПОЛ є тіотриазолін. У цьому розділі описані результати досліджень впливу тіотриазоліну на мофо-функціональні зміни, вільнорадикальні порушення, рівень ендогенної інтоксикації у крові і нирках тварин, уражених отрутою блідої поганки.

6.1. Корекція тіотриазоліном змін показників перекисного окиснення ліпідів та стану антиоксидантної системи у тварин при отруєнні блідою поганкою

Результати досліджень, представлені у розділі 4, свідчать, що при дії аманіта-фаллоїдинового токсину відбувається активація ПОЛ у крові та нирках тварин та підвищення в них вмісту продуктів ліпопероксидації – малонового діальдегіду і дієнових кон'югатів. Оскільки, тіотриазолін має антиокиснювальні

властивості, тому наступні дослідження були присвячені впливу його на утворення продуктів пероксидації ліпідів у плазмі крові та гомогенаті нирок щурів, уражених отрутою блідої поганки.

Вміст дієнових кон'югатів у плазмі крові лікованих тіотриазоліном тварин знижувався на 24,5 % на 24 год та на 49,6 % на 72 год експерименту (табл. 6.1). Вміст малонового діальдегіду також зменшився (на 24 год в 1,2 рази і на 72 год в 1,8 рази) порівняно з групою тварин, якій не проводилась корекція.

Таблиця 6.1

Показники пероксидного окиснення ліпідів плазми крові щурів при отруєнні блідою поганкою та корекції тіотриазоліном ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин	Терміни після отруєння, год		
		6 n=6	24 n=6	72 n=6
ДК, $\times 10^3$ од/л	контрольні	0,92 \pm 0,08		
	уражені	3,25 \pm 0,22 P<0,001	3,40 \pm 0,06 P<0,001	3,17 \pm 0,14 P<0,001
	ліковані	3,03 \pm 0,07 P<0,001	2,57 \pm 0,02 P<0,001 P ₁ <0,001	1,63 \pm 0,04 P<0,001 P ₁ <0,001
МДА, мкмоль/л	контрольні	1,74 \pm 0,21		
	уражені	4,63 \pm 0,23 P<0,001	4,89 \pm 0,15 P<0,001	4,37 \pm 0,16 P<0,001
	ліковані	4,17 \pm 0,10 P<0,001	3,93 \pm 0,12 P<0,001 P ₁ <0,001	2,42 \pm 0,10 P<0,05 P ₁ <0,001
Примітки:				
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем				
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими				
3. n – кількість спостережень				

У нирках при корекції тіотриазоліном спостерігалися аналогічні зміни. Вміст дієнових кон'югатів у гомогенаті нирок (табл. 6.2) порівняно з групою тварин, яким не проводилась корекція, знижувався в 1,25 рази на 6 год експерименту, в 1,79 рази – на 24 год, у 2,30 рази – на 72 год. Спостерігалось

також зменшення вмісту малонового діальдегіду (на 30,41 % – на 24 год та на 42,32 % – на 72 год).

Таблиця 6.2

Показники пероксидного окиснення ліпідів у гомогенаті нирок щурів при отруєнні блідою поганкою та корекції тіотриазоліном ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин	Терміни після отруєння, год		
		6 n=6	24 n=6	72 n=6
ДК, $\times 10^3$ од/кг	контрольні	2,44 \pm 0,15		
	уражені	7,13 \pm 0,63 P<0,001	7,75 \pm 0,58 P<0,001	6,87 \pm 0,61 P<0,001
	ліковані	5,68 \pm 0,08 P<0,001 P ₁ <0,01	4,32 \pm 0,17 P<0,001 P ₁ <0,01	2,96 \pm 0,10 P<0,001 P ₁ <0,01
МДА, мкмоль/кг	контрольні	2,09 \pm 0,23		
	уражені	7,71 \pm 0,48 P<0,001	8,32 \pm 0,59 P<0,001	7,45 \pm 0,16 P<0,001
	ліковані	6,68 \pm 0,39 P<0,001	5,79 \pm 0,43 P<0,001 P ₁ <0,01	4,03 \pm 0,06 P<0,001 P ₁ <0,01
Примітка:				
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем				
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими				
3. n – кількість спостережень				

Таким чином, введення отруєним тваринам тіотриазоліну сприяє зменшенню інтенсивності активованих аманіта-фаллоїдиновим токсином реакцій вільнорадикального окиснення, про що свідчить зниження в них вмісту проміжних та вторинних продуктів ПОЛ.

При корекції тіотриазоліном в отруєних щурів спостерігалось посилення антиоксидантного захисту (табл. 6.3). Так, на 6 год після введення екстракту отрути блідої поганки у крові лікованих тварин спостерігалось підвищення активності супероксиддисмутази на 36,1 %, а в гомогенаті нирок – на 42,8 % порівняно з групою нелікованих тварин. Активність каталазної реакції зростала

Таблиця 6.3

Показники антиоксидантної системи у крові та нирках щурів через 6 год після отруєння блідою поганкою при корекції тіотриазоліном (M±m)

Показник	Досліджу вана тканина	Групи тварин		
		контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+тіотриазолін n=6
СОД, ум.од./мл	кров	0,074±0,07	0,036±0,002 P<0,001	0,049±0,003 P<0,001, P ₁ <0,05
	нирки	0,58±0,03	0,28±0,03 P<0,001	0,039±0,03 P<0,01, P ₁ <0,05
Каталаза, мкат/кг	кров	1,69±0,06	0,57±0,03 P<0,001	0,91±0,07 P<0,001, P ₁ <0,001
	нирки	4,42±0,07	2,12±0,03 P<0,001	3,93±0,03 P<0,001, P ₁ <0,001
ГП, ммоль SH/хв · (л)кг	кров	0,58±0,003	0,22±0,03 P<0,001	0,46±0,03 P ₁ <0,01
	нирки	26,65±0,46	14,12±0,37 P<0,001	19,78±0,90 P<0,01, P ₁ <0,01
SH-групи, ммоль/кг	кров	2,19±0,08	1,32±0,05 P<0,001	1,56±0,49 P<0,01, P ₁ <0,05
	нирки	3,17±0,08	2,42±0,07 P<0,001	2,75±0,19 P>0,05
ЦП, г/л	кров	0,21±0,01	0,32 ±0,02 P<0,001	0,28±0,01 P<0,001, P ₁ <0,001

Примітка:

1. P – достовірність різниці порівняно з контролем
2. P₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими
3. n – кількість спостережень

в 1,6 рази в плазмі крові і в 1,9 рази – у нирках. Щодо стану глутатіонової системи, то вона також зазнавала змін. Так, активність глутатіонпероксидази в плазмі крові підвищувалась на 109,0 %, а в нирках – на 40,0 %.

Концентрація відновленого глутатіону достовірно зростала (на 18,2 %) лише в плазмі крові, а рівень церулоплазміну знижувався порівняно з нелікованими щурами в 1,1 рази.

На 24 год експерименту спостерігався ще більший позитивний вплив тіотриазоліну як на ферментативну, так і на неферментативну ланку АОС тварин, уражених аманіта-фаллоїдиновим токсином (табл. 6.4). Активність СОД у нирках лікованих щурів зросла у 2,7 рази, а в крові – у 2,5 рази. Підвищилась порівняно з нелікованими тваринами каталазна активність (у нирках – на 69,6 % та в крові – на 78,2 %). Активність глутатіонпероксидази в нирках щурів зросла в 2,0 рази, а в плазмі крові – у 3,7 рази. Аналогічна тенденція змін спостерігалася відносно відновленого глутатіону, який тісно пов'язаний з ГП. Його рівень збільшився на 16,4 % у нирках та на 17,5 % – у крові лікованих тварин. Корекція тіотриазоліном призводила до змін концентрації мідьвмісного ферменту ЦП у сироватці крові, який знижувався на 14,7 %.

Аналізуючи дані (табл. 6.5) про стан антиоксидантної системи при корекції тіотриазоліном, котрі були отримані на 72 годину після введення екстракту отрути блідої поганки, можна зробити висновок, що активність антиоксидантного захисту у цих тварин продовжувала наростати порівняно з групою нелікованих тварин. Про це свідчать отримані нами результати: активність СОД у гомогенаті нирок зростала на 153,1 %, а в крові – на 108,0 %. Введення тіотриазоліну майже повністю нормалізувало активність каталази у нирках та в крові щурів. Так, активність гемвмісного ферменту в гомогенаті нирок підвищувалась у 2,1 рази, а у крові – в 2,5 рази порівняно з групою отруєних тварин. Суттєві зміни спостерігалися з боку активності ГП, яка зросла на 84,5 % у нирках та на 170,0 % у крові і наближалася до норми. Вміст неферментативного антиоксиданту – сульфгідрильних груп – також істотно

Таблиця 6.4

Показники антиоксидантної системи у крові та нирках щурів через 24 год після отруєння блідою поганкою при корекції тіотриазоліном ($M \pm m$)

Показник	Дослід- жувана тканина	Групи тварин		
		контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+тіотриазолін n=6
СОД, ум.од./мл	кров	0,074±0,07	0,015±0,001 P<0,001	0,037±0,0,002 P<0,001 P ₁ <0,001
	нирки	0,58±0,03	0,09±0,01 P<0,001	0,25±0,02 P<0,001, P ₁ <0,001
Каталаза, мкат/кг	кров	1,69±0,06	0,46±0,03 P<0,001	0,82±0,05 P<0,001 P ₁ <0,001
	нирки	4,42±0,07	1,91±0,01 P<0,001	3,24±0,05 P<0,001 P ₁ <0,001
ГП, ммоль ГSH/хв ⁻¹ (л) кг	кров	0,58±0,003	0,14±0,01 P<0,001	0,52±0,04 P ₁ <0,001
	нирки	26,65±0,46	10,67±0,46 P<0,001	21,22±1,14 P<0,05, P ₁ <0,001
SH-рупи, ммоль/кг	кров	2,19±0,08	1,26±0,05 P<0,001	1,48±0,04 P<0,001 P ₁ <0,05
	нирки	3,17±0,08	2,31±0,05 P<0,001	2,69±0,15 P<0,001 P ₁ <0,05
ЦП, г/л	кров	0,21±0,01	0,34±0,01 P<0,001	0,29±0,01 P<0,001, P ₁ <0,001

Примітка:

1. P – достовірність різниці порівняно з контролем
2. P₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими
3. n – кількість спостережень

змінювався, хоча до норми повністю не повертався. Так, вміст сульфгідрильних груп у нирках зріс в 1,3 рази, а в крові – в 1,5 рази. Вміст ЦП в сироватці крові знижувався на 21,2 % порівняно з групою нелікованих тварин і наближався до норми.

Таблиця 6.5

Показники антиоксидантної системи у крові та нирках щурів через 72 год після отруєння блідою поганкою при корекції тіотриазоліном ($M \pm m$)

Показник	Дослід- жувана тканина	Групи тварин		
		контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+тіотриазолін n=6
СОД, ум.од./мл	кров	0,074±0,07	0,024±0,002 P<0,001	0,050±0,001 P<0,001 P ₁ <0,001
	нирки	0,58±0,03	0,13±0,01 P<0,001	0,33±0,01 P<0,001 P ₁ <0,001
Каталаза, мкат/кг	кров	1,69±0,06	0,55±0,02 P<0,001	1,36±0,06 P ₁ <0,001
	нирки	4,42±0,07	2,06±0,02 P<0,001	4,29±0,04 P ₁ <0,001
ГП, ммоль ГSH/х·(л) кг	кров	0,58±0,003	0,20±0,01 P<0,001	0,54±0,03 P ₁ <0,001
	нирки	26,65±0,46	12,17±0,48 P<0,001	22,45±1,15 P<0,05 P ₁ <0,001
SH- групи, ммоль/кг	кров	2,19±0,08	1,22±0,04 P<0,001	1,88±0,09 P ₁ <0,001
	нирки	3,17±0,08	2,26±0,04 P<0,001	2,86±0,02 P ₁ <0,01
ЦП, г/л	кров	0,21±0,01	0,33±0,02 P<0,001	0,26±0,01 P<0,05 P ₁ <0,001
Примітка:				
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем				
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими				
3. n – кількість спостережень				

Таким чином, введення тіотриазоліну тваринам, отруєним екстрактом блідої поганки, сприяло значній нормалізації показників АОС. При цьому препарат більше впливав на активність каталази та глутатіотпероксидази. Отже, отримані нами результати підтверджують антиоксидантні властивості тіотриазоліну.

6.2. Вплив тіотриазоліну на процеси вільнорадикального окиснення білків плазми крові щурів при дії аманіта-фаллоїдинового токсину

У наших попередніх дослідженнях було встановлено, що дія отрути блідої поганки супроводжується не лише інтенсифікацією перекисного окиснення ліпідів, але й окиснювальною модифікацією білків плазми крові.

Даний підрозділ присвячено дослідженню можливості корекції порушень ОМБ за допомогою тіотриазоліну.

Про ступінь ОМБ судили за вмістом альдегідо- та кетоніпохідних білків основного та нейтрального характеру. Отримані нами результати досліджень наведено в таблиці. 6.6.

Як видно з даних таблиці, введення ураженим тваринам тіотриазоліну супроводжується зниженням вмісту окиснених білків. Тенденція до зниження даних показників спостерігалася і на 6 год експерименту, хоча достовірних змін не зазнавала. Більш значні зміни було відмічено на 24 та 72 год досліджень. Так рівень альдегідо- та кетоніпохідних білків нейтрального характеру (ОМБ_{370нм}) в плазмі крові лікованих тварин зменшився на 11,4 % на 24 год експерименту та на 11,2 % на 72 год порівняно з нелікованими щурами у відповідний термін. Рівень альдегідо- та кетоніпохідних білків основного характеру (ОМБ_{430нм}) знизився на 13,7 % на 24 год та 12,8 % на 72 год.

Отже, тіотриазолін має здатність інгібувати активовані процеси вільнорадикального окиснення не лише ліпідів, але й білків, про що свідчить зниження в плазмі крові лікованих тварин, порівняно з ураженими, рівня окисненомодифікованих білків.

Таблиця 6.6

Динаміка змін вмісту альдегідо- та кетонпохідних білків нейтрального (ОМБ_{370нм}) і основного (ОМБ_{430нм}) характеру (моль/кг білка) в плазмі крові лікованих тіотриазоліном тварин за умов дії отрути блідої поганки ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин	Терміни після отруєння, год		
		6 n = 6	24 n = 6	72 n = 6
ОМБ ₃₇₀	контрольні	1,52±0,05		
	уражені	2,16±0,06 P<0,001	2,19±0,06 P<0,001	2,06±0,07 P<0,001
	ліковані	2,06±0,07 P<0,001	1,94±0,05 P<0,001, P ₁ <0,05	1,83±0,06 P<0,001, P ₁ <0,05
ОМБ ₄₃₀	контрольні	1,26±0,03		
	уражені	1,48±0,06 P<0,05	1,53±0,05 P<0,05	1,49±0,05 P<0,01
	ліковані	1,37±0,04	1,32±0,06 P ₁ <0,05	1,30±0,05 P ₁ <0,05

Примітка: 1. P – достовірність різниці порівняно з контролем
2. P₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими
3. n – кількість спостережень

При лікуванні тіотриазоліном отруєних щурів зберігається однонапрявлена спрямованість змін показників ПОЛ і ОМБ (рис.6.1.).

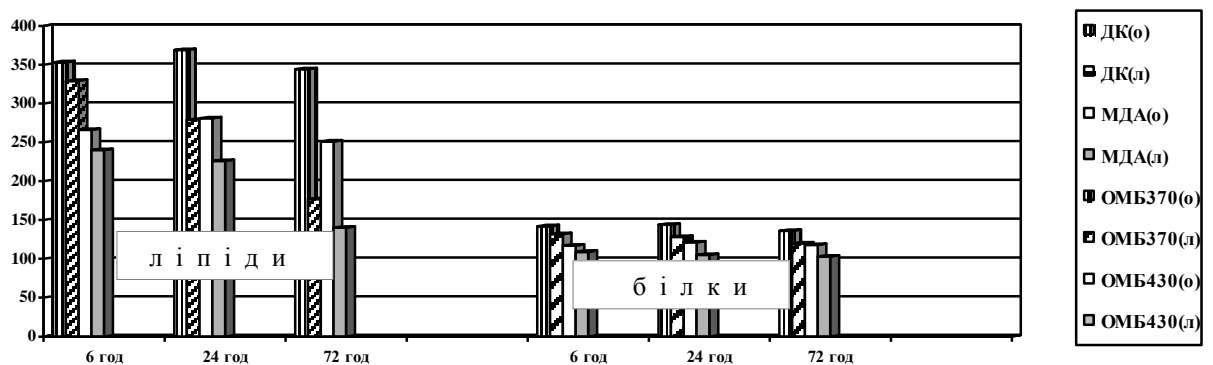


Рис. 6.1. Вплив тіотриазоліну на зміни ПОЛ та ОМБ в плазмі щурів за дії аманіта-фаллоїдинового токсину (за 100 % прийнято показники в інтактних тварин).

6.3. Вплив тіотриазоліну на рівень метаболітів NO в плазмі крові і нирках уражених отрутою блідої поганки щурів

У попередніх наших дослідженнях було встановлено, що під дією отрути блідої поганки в сироватці щурів збільшується вміст нітрит-аніону, а в гомогенаті нирок він знижується. Тому метою наших наступних досліджень було вивчити вплив тіотриазоліну на рівень NO_2^- в уражених тварин. Результати досліджень наведено в табл. 6.7. Згідно отриманих даних вміст метаболіту оксиду азоту – нітрит-аніону – у лікованих щурів виявився нижчим у сироватці крові порівняно з нелікованими. Так, на 6 год після введення шурам отрути блідої поганки у тварин, яким вводили тіотриазолін даний показник в сироватці крові знизився на 16,1 %, на 24 год – на 26,9 %, на 72 год – на 32,1 %.

У гомогенаті нирок спостерігалась зворотня тенденція. У всі терміни досліджень вміст нітрит-аніону збільшувався у лікованих тіотриазоліном щурів, порівняно з нелікованими. Так, на 24 год експерименту вміст NO_2^- в гомогенаті нирок підвищився в 1,4 рази порівняно з отруєними тваринами. Результати, отримані на 72 год експерименту, свідчать про підвищення цього показника в 1,5 рази порівняно з нелікованими шурами.

Таблиця 6.7

Вплив тіотриазоліну на зміни вмісту NO_2^- в сироватці крові та в гомогенаті нирок тварин, уражених отрутою блідої поганки ($M \pm m$)

Об'єкт дослідження	Групи тварин	Терміни після отруєння, год		
		6 n = 6	24 n = 6	72 n = 6
Сироватка крові, ммоль/л	контрольні	1,10±0,09		
	уражені	1,68±0,08 P<0,001	5,36±0,22 P<0,001	2,71±0,13 P<0,001
	ліковані	1,41±0,07 P<0,05, P ₁ <0,05	3,92±0,19 P<0,001, P ₁ <0,01	1,84±1,13 P<0,01, P ₁ <0,01
Нирки ммоль/л	контрольні	3,35±0,19		
	уражені	1,72±0,10 P<0,001	0,54±0,05 P<0,001	0,81±0,06 P<0,001
	ліковані	2,05±0,14 P<0,01	0,78±0,05 P<0,001, P ₁ <0,05	1,23±0,06 P<0,001, P ₁ <0,01
Примітка:				
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем				
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими				
3. n – кількість спостережень				

Таким чином, тіотриазолін здатний регулювати вміст нітрит аніону в тканинах щурів при дії отрути блідої поганки.

6.4. Корекція тіотриазоліном показників ендогенної інтоксикації в щурів за умов дії аманіта-фаллоїдинових токсинів

Дослідження показників ендогенної інтоксикації, які наведені в розділі 4.5, показали, що введення тваринам отрути блідої поганки викликає в організмі цілий ряд біохімічних змін, які проявляються розвитком синдрому ендогенної інтоксикації. Свідченням цього є підвищення вмісту середніх молекул та еритроцитарного індексу інтоксикації. З метою корекції виявлених порушень ми використали тіотриазолін, який відомий своїми антиоксидантними властивостями.

У таблиці 6.8 наведено результати дослідження впливу використаного середника на вміст МСМ у плазмі крові тварин, уражених екстрактом отрути блідої поганки. З наведених даних видно, що при дії тіотриазоліну в отруєних блідою поганкою щурів вміст молекул середньої маси був нижчий в усі терміни спостереження, хоча і відрізнявся від норми. Вміст ланцюгових ($СМ_1$) та ароматичних амінокислот ($СМ_2$) у середньомолекулярних пептидах та продуктах їх розпаду в лікованих тварин були не на однаковому рівні. Так, на 6 год досліджень (табл. 6.8) вміст $СМ_1$ в крові отруєних щурів, яким з метою корекції вводили тіотриазолін, знизився порівняно з нелікованими тваринами на 17,4 %. На 24-у год у відповідній групі щурів цей показник знизився на 45,5 %, а на 72-у год – на 48,6 %, хоча залишався ще вищим, ніж у контрольних тварин. Щодо вмісту $СМ_2$, то в крові лікованих щурів (табл. 6.8) на 6 год експерименту він зменшився в 1,6 рази. На 24 год спостерігалось зменшення цього показника в 1,8 рази, а на 72 год – у 2,2 рази порівняно з нелікованими щурами.

Таким чином, максимальне зниження обох фракцій МСМ відмічено на 72 год. Зменшення кількості “середніх молекул” в організмі лікованих тварин

вказує на зниження під впливом тіотриазоліну катаболічних процесів, викликаних аманіта-фаллоїдиновими токсинами.

Про зниження ендогенної інтоксикації за дії тіотриазоліну вказує також нормалізація ЕП. В таблиці 6.8 наведені результати змін еритроцитарного індексу інтоксикації при корекції порушень, викликаних введенням екстракту отрути блідої поганки.

Таблиця 6.8

Вплив тіотриазоліну на зміни показників ендогенної інтоксикації в сироватці крові щурів, уражених отрутою блідої поганки ($M \pm m$)

Показники	Групи тварин	Терміни після отруєння, год		
		6 n = 6	24 n = 6	72 n = 6
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	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
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	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
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	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
Примітка:				
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем				
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими				
3. n – кількість спостережень				

З наведених у таблиці даних видно, що застосування тіотриазоліну, понижувало ЕП в отруєних щурів в усі періоди спостереження. Так, при введенні тіотриазоліну на 6-у годину досліджень ЕП зменшився на 24,2 % від рівня уражених тварин. На 24-у год спостерігалось зниження даного показника на 19,1 %, а на 72-у год еритроцитарний індекс інтоксикації зменшився на 45,7 % порівняно з нелікованими тваринами і максимально наблизився до норми.

Отже, введення тіотриазоліну щурам, отруєним екстрактом блідої поганки, сприяло значному зниженню синдрому ендогенної інтоксикації.

Таким чином, узагальнюючи наведені вище результати досліджень, можна стверджувати, що введення отруєним тваринам тіотриазоліну сприяло зменшенню активованих аманіта-фаллоїдиновими токсинами процесів вільнорадикального окиснення, на що вказує зниженню в нирках і плазмі крові вмісту продуктів ПОЛ, ОМБ, а також стабілізації вмісту в цих тканинах метаболіту оксиду азоту – нітрит - аніону.

6.5. Вплив тіотриазоліну на функціональний стан нирок щурів, уражених отрутою блідої поганки

Дослідження показників функціонального стану нирок отруєних щурів, які наведені в розділі 5.1, показали, що введення тваринам отрути блідої поганки викликає цілий ряд глибоких змін у даному органі, які проявляються порушенням екскреторної, іонорегулюючої і кислотовидільної функції нирок. З метою корекції виявлених порушень ми використали тіотриазолін, який згідно даних літератури [102, 126] значною мірою перешкоджає розвитку патологічного процесу в нирках, відновлює функціональні властивості даного органу.

У табл. 6.9 наведено результати впливу тіотриазоліну на функціональний стан нирок щурів, отруєних блідою поганкою. Згідно отриманих даних, на 6 год після введення тваринам аманіта-фаллоїдинового токсину спостерігали підвищення діурезу на 28,10 % у лікованих тіотриазоліном тварин порівняно

Таблиця 6.9

Зміни екскреторної функції нирок у щурів на 6 год після отруєння білою поганкою при корекції тіотриазоліном ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+тіотриазолін n=6
Діурез мл/год	1,93±0,09	1,14±0,10 P<0,001	1,46±0,07 P<0,001, P ₁ <0,05
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	9,22±0,80	25,06±0,75 P<0,001	17,45±0,69 P<0,001, P ₁ <0,05
Екскреція калію, мкмоль/год	17,81±1,68	28,67±2,77 P<0,01	25,29±0,70 P<0,01
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	52,37±2,54	79,59±4,92 P<0,05	64,43±3,87 P ₁ <0,05
Концентрація креатиніну в сечі, мкмоль/л	653,67±17,33	608,83±29,35 P>0,05	619,50±14,66 P ₁ >0,05
Концентраційний індекс креатиніну, од	12,61±0,61	7,82±0,58 P<0,01	12,04±1,90 P ₁ <0,05
Екскреція креатиніну, мкмоль/год	1,26±0,04	0,70±0,07 P<0,001	0,91±0,06 P<0,01 P ₁ <0,05
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/год	24,37±1,37	9,06±1,26 P<0,001	14,54±1,72 P<0,001 P ₁ <0,05
Реабсорбція води, %	91,98±0,37	86,84±1,02 P<0,01	89,55±0,73 P<0,05
Екскреція білка, мг/100мкл КФ	0,177±0,018	1,235±0,120 p<0,001	0,907±0,099 P<0,001
Примітки: P – достовірність різниці порівняно з контролем ; P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими. n – кількість спостережень			

Таблиця 6.10

Вплив тіотриазоліну на зміни каналцевого транспорту іонів натрію у щурів через 6 год після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+тіотриазолін n=6
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	1,04±0,16	2,16 ±0,10 P<0,001	1,71±0,04 P ₁ <0,05
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	0,008±0,001	0,028±0,002 P<0,001	0,018±0,001 P<0,001, P ₁ <0,01
Екскреція іонів натрію мкмоль/год	2,00±0,19	2,48±0,27 P>0,05	2,57±0,16 P<0,05
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	141,29±1,11	131,25±2,76 P<0,02	135,84±1,69 P<0,05
Фільтраційний заряд іонів натрію, ммоль/год	3,45±0,24	1,19±0,17 P<0,001	1,98±0,24 P<0,01, P ₁ <0,05
Концентраційний індекс натрію, од	0,007±0,001	0,016±0,001 P<0,001	0,013±0,001 P<0,001, P ₁ <0,01
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, ммоль/год/100г	3,45±0,24	1,19±0,17 P<0,001	1,98±0,24 P<0,01, P ₁ <0,05
Кліренс безнатрієвої води, мл/год	1,92±0,09	1,12±0,09 P<0,001	1,44±0,06 P<0,01, P ₁ <0,05
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	13,00±0,14	11,40±0,26 P<0,01	12,17±0,20 P<0,05, P ₁ <0,05
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	1,12±0,05	1,70±0,14 P<0,05	1,40±0,10 P<0,05
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	3,17±0,23	1,04±0,16 P<0,001	1,78±0,23 P<0,01
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	271,09±12,13	147,97±13,91 P<0,001	195,65±9,82 P<0,01, P ₁ <0,05
Примітки:			
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем			
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими			
3. n – кількість спостережень			

з групою нелікованих тварин. Концентрація креатиніну в плазмі крові знизилась на 19,05 %, а концентраційний індекс підвищувався в 1,54 рази за рахунок зростання його у сечі. Концентрація іонів калію в сечі знизилась на 30,37 % порівняно з групою нелікованих тварин. Швидкість клубочкової фільтрації збільшилась у 1,60 рази, хоча залишалася бути нижчою від контролю на 59,66 %. Реабсорбція води та екскреція білка на 6 год після отруєння щурів блідою поганкою при корекції тіотриазоліном достовірних змін в порівнянні з нелікованими щурами не зазнавали.

Порівняно з групою отруєних тварин, яким не проводили корекцію, під впливом тіотриазоліну на 6 год експерименту концентрація іонів натрію в сечі зменшилась на 18,48 % (табл.6.10), а екскреція цього катіону, стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату, відповідно – в 1,55 рази. Концентраційний індекс іонів натрію знизився на 18,75 %. Фільтраційний заряд цього катіону збільшився в 1,66 рази, а кліренс безнатрієвої води – в 1,28 рази. Активувався проксимальний транспорт іонів натрію, а дистальна реабсорбція ще залишалася підвищеною, хоча вже почала наближатися до норми.

Кислотовидільна функція нирок через 6 год після введення екстракту блідої поганки при корекції тіотриазоліном порушувалась не значно. Кислотність сечі, амонійний коефіцієнт практично не відрізнялися від показників інтактних тварин (табл.6.11). Спостерігалось збільшення екскреції титрованих кислот на 20,45 % порівняно з нелікованими тваринами.

Згідно отриманих нами даних (табл. 6.12) на 24 годину після отруєння блідою поганкою при корекції тіотриазоліном рівень діурезу у щурів збільшувався на 33,80 % в порівнянні з групою отруєних тварин, яким не проводилось лікування. Концентрація іонів калію в сечі залишалася підвищеною відносно інтактних щурів, але знижувалась на 29,12 % порівняно з групою нелікованих тварин. Під впливом тіотриазоліну концентрація креатиніну в плазмі крові зменшилась на 25,24 %, а в сечі збільшилась на 19,69 % відносно отруєних щурів. Концентраційний індекс креатиніну також

Таблиця 6.11

Вплив тіотриазоліну на зміни кислотовидільної функції нирок у щурів через 6 годин після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+тіотриазолін n=6
pH сечі	6,53±0,57	6,89±0,19 P>0,05	6,69±0,23 P ₁ >0,05
Екскреція титрованих кислот мкмоль/год	36,47±2,42	26,50±1,50 P<0,05	31,92±1,67 P ₁ <0,05
Екскреція аміаку, мкмоль/год	125,27±9,44	103,56±6,05 P>0,05	117,25±6,60 P ₁ >0,05
Екскреція іонів водню, нмоль/год	1,02±0,08	0,97±0,08 P>0,05	1,13±0,02 P ₁ >0,05
Амонійний коефіцієнт, од	3,54±0,33	3,96±0,29 P>0,05	3,69±0,16 P ₁ >0,05
Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контролем 2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими 3. n – кількість спостережень			

підвищився в 1,36 рази, а екскреція креатиніну збільшилась на 60,0 %. Швидкість клубочкової фільтрації та відносна реабсорбція води залишалися нижче норми, хоча, в порівнянні з нелікованими тваринами, підвищились відповідно у 2,11 рази та 1,10 рази. Екскреція білка зменшилась у 2,20 рази, хоча залишалася вищою від контрольних величин.

Таким чином, отрута блідої поганки пошкоджувала гломерулярний фільтр, а проведена на 24 год експерименту корекція тіотриазоліном покращувала функцію нирок, хоча повного відновлення ниркових клубочків та проксимального відділу нефрона не відбувалося.

Тіотриазолін проявляв коригуючий вплив на іонорегулюючу функцію нирок і на 24 год після введення екстракту отрути блідої поганки (табл. 6.13). Стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації екскреція іонів натрію

Таблиця 6.12

Зміни екскреторної функції нирок у щурів на 24 год після отруєння
блідю поганкою при корекції тіотриазоліном ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+тіотриазолін n=6
Діурез мл/год	1,93±0,09	0,71±0,04 P<0,001	0,95±0,04 P<0,001 P ₁ <0,001
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	9,22±0,80	34,14±0,64 P<0,001	24,20±0,86 P<0,001 P ₁ <0,05
Екскреція калію, мкмоль/год	17,81±1,68	26,14±1,26 P<0,05	22,88±0,84 P<0,05
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	52,37±2,54	108,25±6,83 P<0,001	80,93±2,92 P<0,001 P ₁ <0,05
Концентрація креатиніну в сечі, мкмоль/л	653,67±17,33	537,33±12,10 P<0,01	643,17±10,77 P ₁ <0,01
Концентраційний індекс креатиніну, од	12,61±0,61	5,06±0,33 P<0,001	6,90±0,39 P<0,001 P ₁ <0,05
Екскреція креатиніну, мкмоль/год	1,26±0,05	0,38±0,02 P<0,001	0,61±0,02 P<0,001 P ₁ <0,001
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/год	24,37±1,60	3,59±0,31 P<0,001	7,62±0,51 P<0,001 P ₁ <0,001
Реабсорбція води, %	91,98±0,37	79,86±1,19 P<0,001	87,43±0,35 P<0,001 P ₁ <0,001
Екскреція білка, мг/100мкл КФ	0,177±0,018	2,429±0,106 P<0,001	1,110±0,052 P<0,001 P ₁ <0,001
Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контролем 2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими; 3. n – кількість спостережень			

Таблиця 6.13

Вплив тіотриазоліну на зміни каналцевого транспорту іонів натрію у щурів через 24 годин після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+тіотриазолін n=6
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	1,04±0,16	2,26±0,10 P<0,001	1,53±0,04 P<0,01, P ₁ <0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	0,008±0,001	0,045±0,003 P<0,001	0,019±0,004 P<0,001, P ₁ <0,01
Екскреція іонів натрію мкмоль/год	2,00±0,19	1,60±0,12 P>0,05	1,45±0,08 P<0,05
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	141,29±1,11	127,52±1,93 P<0,001	132,25±2,92 P<0,05
Фільтраційний заряд іонів натрію, ммоль/год	3,45±0,24	0,46±0,03 P<0,001	1,01±0,08 P<0,001, P ₁ <0,001
Концентраційний індекс натрію, од	0,007±0,001	0,018±0,001 P<0,001	0,012±0,001 P<0,001, P ₁ <0,01
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, ммоль/год/100г	3,44±0,24	0,45±0,03 P<0,001	1,01±0,08 P<0,001, P ₁ <0,001
Кліренс безнатрієвої води, мл/год	1,92±0,09	0,70±0,04 P<0,001	0,94±0,04 P<0,001, P ₁ <0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	13,00±0,14	10,18±0,13 P<0,001	11,56±0,25 P<0,01 P ₁ <0,01
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	1,12±0,04	2,53±0,18 P<0,001	1,65±0,06 P<0,001 P ₁ <0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	3,17±0,23	0,36±0,03 P<0,001	0,88±0,07 P<0,001 P ₁ <0,001
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	271,09±12,13	88,50±4,23 P<0,001 P ₁ <0,001	124,45±7,29 P<0,001 P ₁ <0,001
Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контролем 2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими 3. n – кількість спостережень			

знижувалась у 2,37 рази, порівняно з групою нелікованих тварин, що вказує на відновлення процесів реабсорбції цього катіону в каналцях нефрона.

Концентрація іонів натрію в сечі зменшувалась на 32,31 %. Концентраційний індекс натрію знизився на 33,34 %. Фільтраційний заряд цього катіону збільшився у 2,19 рази. При цьому проксимальна реабсорбція іонів натрію, стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату, збільшилась у 1,14 рази, а дистальна – знизилась у 1,53 рази в порівнянні з групою нелікованих тварин. Кліренс безнатрієвої води зріс на 34,28 %.

Через 24 год після введення аманіта-фаллоїдинового токсину тіотриазолін значно покращував і кислотовидільну функцію нирок, хоча повністю її не

Таблиця 6.14

Вплив тіотриазоліну на зміни кислотовидільної функції нирок у щурів через 24 год після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+тіотриазолін n=6
рН сечі	6,53±0,57	7,04±0,12 P<0,05	6,96±0,07 P ₁ >0,05
Екскреція титрованих кислот мкмоль/год	36,47±2,42	8,01±0,84 P<0,001	16,05±1,13 P<0,001 P ₁ <0,001
Екскреція аміаку, мкмоль/год	125,27±9,44	42,63±2,47 P<0,001	71,05±4,87 P<0,001, P ₁ <0,01
Екскреція іонів водню, нмоль/год	1,02±0,08	0,08±0,01 P<0,001	0,47±0,04 P<0,001 P ₁ <0,01
Амонійний коефіцієнт, од	3,54±0,33	5,60±0,65 P<0,01	4,44±0,09 P<0,01, P ₁ <0,05
Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контролем 2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими 3. n – кількість спостережень			

відновлював. Екскреція титрованих кислот (табл.6.14) збільшувалась майже удвічі порівняно з нелікованими тваринами. Відмічалось зростання в 1,66 рази екскреції аміаку та в 5,87 рази екскреції іонів водню. При цьому амонійний коефіцієнт зменшувався на 20,72 %, а концентрація іонів водню в сечі зростала порівняно з нелікованими тваринами втричі.

Через 72 год після введення екстракту отрути блідої поганки та корекції тіотриазоліном спостерігали достовірне підвищення рівня діурезу в 1,91 рази порівняно з групою нелікованих тварин (табл. 6.15). Концентрація іонів калію в сечі знизилась у 2,12 рази, а екскреція катіону наближалась до норми. Концентрація креатиніну в плазмі лікованих тварин зменшилась на 24,3 % , а в сечі вона збільшилась на 19,72 %. Не дивлячись на те, що швидкість клубочкової фільтрації у тварин при корекції тіотриазоліном залишалась нижчою норми, вона збільшилась порівняно з нелікованими у 2,96 рази. Також відмічалось підвищення і відносної реабсорбції води. Отрута блідої поганки значно пошкоджувала гломерулярний фільтр і навіть після проведеної корекції екскреція білка залишалась у 2,84 рази вищою від контрольних величин, що вказувало на неповне відновлення функції ниркових клубочків та проксимального відділу нефрона.

Тіотриазолін проявляв коригуючий вплив на іонорегулюючу функцію нирок і через 72 години після введення аманіта-фаллоїдинового токсину. (табл.6.16). Стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації екскреція іонів натрію знижувалась у 3,30 рази, порівняно з групою нелікованих тварин, що вказувало на відновлення процесів реабсорбції цього катіону в каналцях нефрону. Концентрація іонів натрію в плазмі підвищувалась на 13,30 %. Внаслідок зростання процесу фільтрації в клубочках фільтраційний заряд іонів натрію збільшувався в 3,35 рази. Відповідно в 3,36 разів зростала абсолютна реабсорбція іонів натрію, що вказує на покращення процесу клубочково-каналцевого балансу. В 3,63 рази активувався проксимальний і в 2,19 рази дистальний транспорт цього катіону. А стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації проксимальна реабсорбція іонів натрію зростала в 1,23

Таблиця 6.15

Зміни екскреторної функції нирок у щурів на 72 год після отруєння
блідюю поганкою при корекції тіотриазоліном ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+тіотриазолін n=6
Діурез мл/год	1,93±0,09	0,79±0,05 P<0,001	1,51±0,11 P<0,01, P ₁ <0,001
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	9,22±0,80	26,78±0,85 P<0,001	12,62±0,74 P<0,05 P ₁ <0,001
Екскреція калію, мкмоль/год	17,81±1,68	21,22±1,61 P>0,05	18,81±1,40 P ₁ >0,05
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	52,37±2,54	92,33±4,28 P<0,001	69,89±2,71 P<0,01 P ₁ <0,01
Концентрація креатиніну в сечі, мкмоль/л	653,67±17,33	540,83±16,45 P<0,01	647,50±8,29 P ₁ <0,01
Концентраційний індекс креатиніну, од	12,61±0,61	5,90±0,26 P<0,001	9,43±0,99 P<0,05 P ₁ <0,02
Екскреція креатиніну, мкмоль/год	1,26±0,04	0,43±0,04 P<0,05	0,98±0,08 P<0,05 P ₁ <0,001
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/год	24,37±1,37	4,73±0,49 P<0,001	13,99±0,91 P<0,001 P ₁ <0,001
Реабсорбція води, %	91,98±0,37	82,90±0,77 P<0,001	89,20±0,46 P<0,01, P ₁ <0,001
Екскреція білка, мг/100мкл КФ	0,177±0,018	1,523±0,123 P<0,001	0,502±0,039 P<0,001, P ₁ <0,001
Примітка:			
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем			
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими			
3. n - -кількість спостережень			

Таблиця 6.16

Вплив тіотриазоліну на зміни каналцевого транспорту іонів натрію у щурів
через 72 годин після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+тіотриазолін n=6
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	1,04±0,16	2,52 ±0,11 P<0,001	1,23±0,07 P<0,01
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	0,008±0,001	0,043±0,003 P<0,001	0,013±0,001 P ₁ <0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/год	2,00±0,19	1,99±0,16 P>0,05	1,83±0,12 P ₁ >0,05
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	141,29±1,11	120,49±1,51 P<0,001	136,46±1,28 P<0,05, P ₁ <0,001
Фільтраційний заряд іонів натрію, ммоль/год	3,45±0,24	0,57±0,05 P<0,001	1,91±0,13 P<0,01, P ₁ <0,001
Концентраційний індекс натрію, од	0,007±0,001	0,021±0,001 P<0,001	0,009±0,001 P ₁ <0,001
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год/100г	3,45±0,24	0,57±0,05 P<0,001	1,91±0,13 P<0,01, P ₁ <0,001
Кліренс безнатрієвої води, мл/год	1,92±0,09	0,77±0,05 P<0,001	1,49±0,11 P<0,05, P ₁ <0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	13,00±0,14	9,85±0,13 P<0,001	12,17±0,11 P<0,01 P ₁ <0,001
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	1,12±0,05	1,99±0,09 P<0,001	1,46±0,07 P<0,01 P ₁ <0,05
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	3,17±0,23	0,47±0,05 P<0,001	1,71±0,12 P<0,001 P ₁ <0,01
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	271,09±12,13	93,49±0,68 P<0,001	204,52±16,46 P<0,01 P ₁ <0,001
Примітки:			
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем			
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими			
3. n – кількість спостережень			

рази, а дистальна – знижувалась в порівнянні з нелікованими в 1,36 рази і була вищою норми в 1,33 рази. Концентраційний індекс натрію знижувався в 2,33 рази.

У групі тварин, яка отримувала тіотриазолін спостерігалось зниження величини рН сечі на 7,34 % (табл. 6.17) і наближення її до норми. Екскреція титрованих кислот підвищувалась у 2,5 рази, а екскреція аміаку зростала в 1,65 рази порівняно з нелікованими тваринами. Екскреція іонів водню знижувалась. Амонійний коефіцієнт зменшувався на 33,88 %.

Таблиця 6.17

Вплив тіотриазоліну на зміни кислотовидільної функції нирок у щурів через 72 год після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+тіотриазолін n=6
рН сечі	6,53±0,57	7,09±0,05 P<0,05	6,57±0,11 P ₁ <0,01
Екскреція титрованих кислот мкмоль/год	36,47±2,42	11,54±0,89 P<0,001	28,54±1,78 P<0,001 P ₁ <0,001
Екскреція аміаку, мкмоль/год	125,27±9,44	90,84±9,92 P<0,05	150,77±11,96 P ₁ <0,05
Екскреція іонів водню, нмоль/год	1,02±0,08	0,10±0,01 P<0,001	0,83±0,08 P ₁ <0,001
Амонійний коефіцієнт, од	3,54±0,33	7,97±0,60 P<0,001	5,27±0,18 P<0,001 P ₁ <0,01
Концентрація іонів водню в сечі, нмоль/л.	0,26±0,01	0,08±0,01 P<0,001	0,28±0,01 P ₁ <0,001
Примітки:			
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем			
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими			
3. n – кількість спостережень			

Таким чином, тіотриазолін мав позитивний коригуючий вплив на всі функції нирок при отруєнні блідою поганкою.

6.8. Вплив тіотриазоліну на морфологічні зміни в нирках щурів, уражених отрутою блідої поганки

Введення піддослідним тваринам тіотриазоліну не змінювало загальних закономірностей морфологічних змін у нирках піддослідних тварин, але ступінь їх вираженості у всі терміни дослідження був меншим.

У щурів, яким на фоні отруєння вводили тіотриазолін, через 6 годин від початку дослідження ниркові тільця кіркових нефронів виглядали дещо краще збереженими: просвіти їх капсул та звивистих канальців були менше розширені, краще збереженими виглядали епітеліоцити звивистих канальців (рис.6.2).

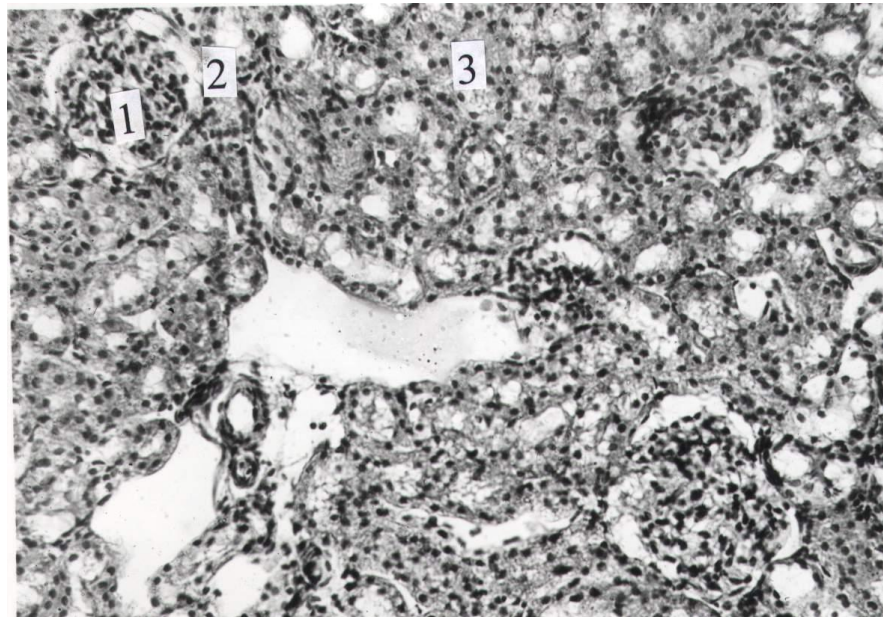


Рис. 6.2 Кіркова речовина нирки щура через 6 год після введення отрути блідої поганки і введення тіотриазоліну. Малокрів'я кіркових нефронів (1), помірне розширення просвіту капсули Шумлянського-Боумена (2), звуження просвітів звивистих канальців (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 200

Ультраструктурні дослідження також не виявили суттєвих відмінностей в будові нирок щурів “отруєних” та після введення тіотриазоліну.

Через 24 години після введення отрути блідої поганки в ниркових тільцях тварин, яким вводили тіотриазолін відзначалося помірне розширення просвітів їх капсул, спадання клубочків не так різко виражене, як у „нелікованих” тварин. В просвітах судин юкстамедулярної та мозкової речовини виявлялася невелика кількість формених елементів, рідко спостерігався їх вихід за межі судин. Цитоплазма епітеліоцитів проксимальних канальців дрібнозерниста, клітини дещо збільшені в розмірах, проте їх апікальні частини мало змінені, чітко простежувався просвіт цих канальців (рис. 6.3.).

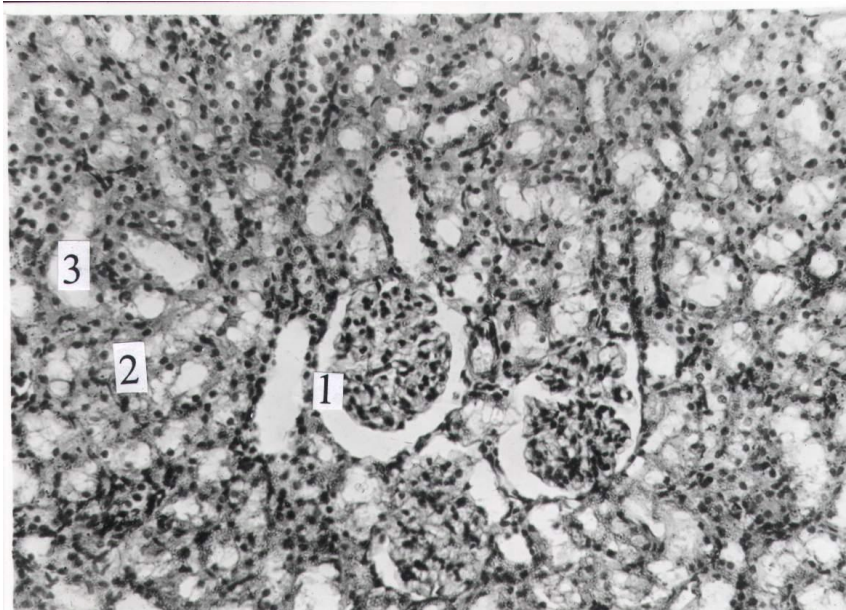


Рис. 6.3. Кіркова речовина нирки щура через 24 години після введення отрути блідої поганки і введення тіотриазоліну. Помірне розширення просвіту капсули Шумлянського-Боумена (1), зернистість цитоплазми епітеліоцитів (2) та збереження просвітів звивистих канальців (3). x 200.

Електронномікроскопічні дослідження підтвердили кращу збереженість структурних компонентів нефронів тварин, яким вводили тіотриазолін (рис.6.4.). В ендотеліюцитах судинних клубочків та подоцитах виявляли покращення структури мітохондрій та їх гіпертрофію, збільшувалась кількість

рибосом, добре контурувались елементи комплексу Гольджі, значно зростала кількість вторинних лізосом у цитоплазмі. Краще збереженими були базальні мембрани фільтраційного бар'єру. Особливо помітні ці зміни були в клітинах проксимальних каналців. На апікальній поверхні епітеліоцитів виявлялись добре виражені мікроборсинки, цитоплазма під ними містила поодинокі мітохондрії, дещо розширені каналці ендоплазматичної сітки із рибосомами на поверхні та невелику кількість полісом. Цитолема базальної частини клітин мала неглибокі інвагінації, поруч розташовувались численні мітохондрії із електроннощільним матриксом та чітко контурованими кристами. В цій частині

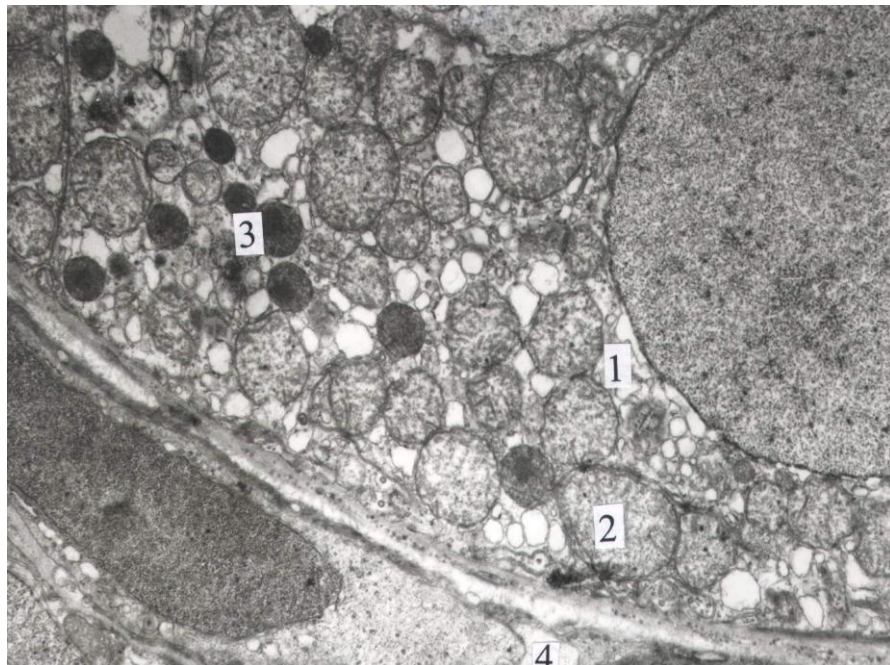


Рис. 6.4. Фрагмент кіркової речовини нирки отруєного щура через 24 години після застосування тіотриазоліну. Епітеліоцит проксимального відділу нефрона (1) з гіпертрофованими мітохондріями (2) і численними лізосомами (3). Просвіт гемокapіляра (4). x 19 000.

клітин спостерігали численні лізосоми різних розмірів, форми та щільності (вторинні). Ядра епітеліоцитів розташовувались поблизу плазмолеми, добре контурувались листки їх каріолеми, яка мала дещо хвилястий вигляд, периваскулярні простори були рівномірними. В каріоплазмі переважав

еухроматин, нерідко виявлялись ядерця. Перитубулярні базальні мембрани добре контурувалися. Ендотелій капілярів перитубулярної сітки був добре збережений (рис. 6.4). Разом з тим окремі епітеліоцити мали невеликі розміри, містили мало органел.

Ще краще збереженими виглядають всі паренхіматозні елементи нирки через 72 години від початку досліду у тварин, яким вводили антиоксидант, порівняно із щурами контрольної групи. Окремі клубочки залишалися спаденими, їх капсули зберігали невелику кількість набрякової рідини, але епітеліоцити всіх канальців менше змінені. Апікальні частини клітин добре контурувалися, зернистість цитоплазми слабше виражена. В просвітах канальців виявлялося мало злущених епітеліоцитів. Інтерстицій заповнював вузькі проміжки між канальцями, подекуди в ньому знаходились волокнисті структури. Вогнищеві крововиливи спостерігалися рідко і містили невелику кількість еритроцитів (рис. 6.5).

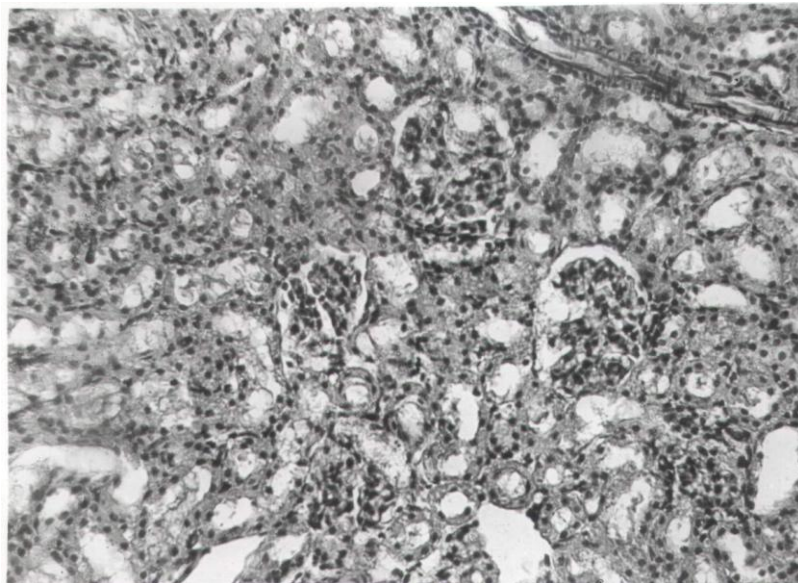


Рис. 6.5. Кіркова речовина нирки щура через 72 години після введення отрути блідої поганки і тіотриазоліну. Збереженість ниркових тілець (1), добре виражені проксимальні та дистальні канальці нефрона (2). x 200.

Аналізуючи результати досліджень наведених у розділі 6, можна зробити наступні узагальнення:

- Антиоксидант тіотриазолін знижує інтенсивність реакцій вільнорадикального окиснення, активованих аманіта-фаллоїдиновими токсинами, про що свідчить зниження в нирках і крові дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду та підвищення активності ферментів антиоксидантної системи – супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, вмісту SH-груп і збалансування в крові концентрації церулоплазміну.
- Тіотриазолін пригнічує активоване отрутою блідої поганки вільнорадикальне окиснення білків за результатами зменшення вмісту альдегідо- та кетоніохідних нейтрального і основного характеру в плазмі крові.
- Введення тіотриазоліну, отруєним блідою поганкою щурам, підвищує в тканинах нирок вміст метаболіту оксиду азоту – нітрит-аніону та знижує його концентрацію в крові в порівнянні з отруєними тваринами.
- Позитивний лікувальний ефект тіотриазоліну у щурів за умов дії аманіта-фаллоїдинів проявляється зниженням катаболічних процесів ендогенної інтоксикації за показниками вмісту молекул середньої маси. На зниження інтоксикації вказує також нормалізація еритроцитарного індекса інтоксикації.
- На фоні введення тіотриазоліну в отруєних блідою поганкою щурів покращується структурна організація гломерулярного і тубулярного відділів кіркових нефронів, відмічаються менш виражені зміни мембранних компонентів компонентів ниркового бар'єру та каналців, базальних мембран перитубулярного та фільтраційного бар'єрів.

Матеріали цього розділу надруковано в роботах [139, 140, 141, 145].

РОЗДІЛ 7

ВПЛИВ МЕТАЛОКОМПЛЕКСУ ГІСТИДИНАТУ МІДІ НА ПОРУШЕННЯ
ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ, РОЗВИТОК ЕНДОГЕННОЇ
ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНО-СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В НИРКАХ
ТВАРИН, ОТРУЄНИХ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ

Відсутність антидотної терапії отруень блідою поганкою зумовлює використання тільки патогенетичних і симптоматичних лікарських середників. А так як у попередніх наших дослідженнях було показано, що в механізмах дії аманіта-фаллоїдинового токсинів важлива роль належить порушенням вільнорадикального окиснення, то важливого значення набуває пошук нових середників з антиоксидантними та мембраностабілізуючими властивостями. Даний розділ присвячено корекції вільнорадикальних процесів, ендогенної інтоксикації та структурно-функціональних порушень у щурів, уражених екстрактом отрути блідої поганки за допомогою металокомплексу гістидинату міді. Основою для його використання є дані літератури про амінокислоту гістидин, яка, циркулюючи в організмі, виконує роль “пастки” вільних радикалів, а її металокомплекси проявляють більш виражені антиоксидантні властивості [81, 82].

7.1. Вплив гістидинату міді на активність процесів перекисного окиснення ліпідів та стану антиоксидантної системи у тварин при отруєнні блідою поганкою

Виявлене нами у попередніх дослідженнях (розділ 4.1) підвищення вмісту малонового діальдегіду і дієнових кон'югатів свідчить про активацію ПОЛ у крові та нирках тварин при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації. Враховуючи те, що гістидинат міді має антиокиснювальні властивості, нами була поставлена мета дослідити вплив цього металокомплексу на утворення продуктів

ліпопероксидації у плазмі крові та гомогенаті нирок щурів, уражених екстрактом отрути блідої поганки. Відповідні дані наведено у таблиці 7.1.

Як видно з даних таблиці, вміст ДК у плазмі крові тварин, лікованих гістидинатом міді, залишався вищим норми у всі періоди спостереження, хоча значно знижувався порівняно з групою нелікованих щурів. Так, на 24 год після введення екстракту отрути блідої поганки під дією металокомплексу даний показник знизився на 20,0 %, а на 72 год експерименту – на 30,3 %. Вміст малонового діальдегіду у лікованих тварин також зазнавав більш значного зниження і вже на 6 год його рівень у плазмі крові зменшився в 1,2 рази,

Таблиця 7.1

Вплив гістидинату міді на стан пероксидного окиснення ліпідів плазмі крові щурів при отруєнні блідою поганкою (M±m)

Показник	Групи тварин	Терміни після отруєння, год		
		6 n=6	24 n=6	72 n=6
ДК, x10 ³ од/л	контрольні	0,92±0,08		
	уражені	3,25±0,22 P<0,001	3,40±0,06 P<0,001	3,17±0,14 P<0,001
	ліковані	3,11±0,19 P<0,001	2,72±0,18 P<0,001 P ₁ <0,05	2,21±0,11 P<0,001 P ₁ <0,05
МДА, мкмоль/л	контрольні	1,74±0,21		
	уражені	4,63±0,23 P<0,001	4,89±0,15 P<0,001	4,37±0,16 P<0,001
	ліковані	3,75±0,13 P<0,001 P ₁ <0,05	2,96±0,13 P<0,001 P ₁ <0,01	1,92±0,09 P ₁ <0,001
Примітки:				
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем				
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими				
3. n – кількість спостережень				

на 24 год – в 1,6 рази, а на 72 год – у 2,3 рази порівняно з групою тварин, якій не проводилась корекція. Отже, в цей період спостереження вміст МДА майже не відрізнявся від норми.

У гомогенаті нирок під дією гістидинату міді в отруєних щурів також спостерігалось зниження продуктів ліпопероксидації. Так, вміст дієнових кон'югатів (табл.7.2) порівняно з групою тварин, яким не проводилась корекція, знижувався в 1,2 рази на 6 год експерименту, в 1,4 рази – на 24 год, у 2,0 рази – на 72 год. Проте, порівняно з інтактними щурами, вміст ДК залишався все ще вищим у всі терміни дослідження (відповідно в 2,5, 2,3, 1,4 рази).

Таблиця 7.2

Вплив гістидинату міді на стан пероксидного окиснення ліпідів у гомогенаті нирок щурів при отруєнні блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин	Терміни після отруєння, год		
		6 n=6	24 n=6	72 n=6
ДК, $\times 10^3$ од/кг	контрольні	2,44 \pm 0,15		
	уражені	7,13 \pm 0,63 P<0,001	7,75 \pm 0,58 P<0,001	6,87 \pm 0,61 P<0,001
	ліковані	6,09 \pm 0,08 P<0,00 P ₁ <0,01	5,46 \pm 0,17 P<0,001 P ₁ <0,001	3,39 \pm 0,10 P<0,001 P ₁ <0,001
МДА, мкмоль/кг	контрольні	2,09 \pm 0,23		
	уражені	7,71 \pm 0,48 P<0,001	8,32 \pm 0,59 P<0,001	7,45 \pm 0,16 P<0,001
	ліковані	5,41 \pm 0,31 P<0,001 P ₁ <0,01	4,22 \pm 0,22 P<0,001 P ₁ <0,01	2,35 \pm 0,15 P ₁ <0,01
Примітки:				
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем				
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими				
3. n – кількість спостережень				

Стосовно вмісту малонового діальдегіду, то під дією гістидинату міді спостерігалось зменшення цього показника в отруєних щурів на 30,0 % на 6 год, на 49,3 % – на 24 год та на 68,5 % – на 72 год. До кінця експерименту вміст МДА в нирках лікованих тварин майже повернувся до норми.

Таким чином, введення отруєним тваринам гістидинату міді сприяє зменшенню інтенсивності активованих аманіта-фаллоїдиновим токсином реакцій вільнорадикального окиснення, про що свідчить зниження у них вмісту проміжного (ДК) та вторинного (МДА) продуктів ПОЛ. При цьому металокомплекс більше впливає на рівень МДА, ніж ДК.

Під впливом гістидинату міді в отруєних екстрактом блідої поганки щурів спостерігалось суттєве посилення антиоксидантного захисту (табл. 7.3) Вже на 6 год після введення отрути в крові лікованих металокомплексом тварин активність супероксиддисмутази була нижча від норми лише на 27,1 %, а порівняно з групою нелікованих щурів спостерігалось підвищення цього показника на 50 %. У гомогенаті нирок відбувалися подібні зміни. Під впливом гістидинату міді в отруєних тварин активність СОД знижувалась порівняно з інтактними щурами лише на 27,3 %, в той час, як порівняно з групою отруєних нелікованих – підвищилась на 51,1 %. При дії металокомплексу в уражених тварин інтенсивність каталазної реакції зростала в 1,3 рази в плазмі крові і в 1,75 рази в нирках. Щодо стану глутатіонової системи, то на 6 год експерименту при корекції гістидинатом міді вона також зазнавала позитивних змін (табл. 7.3). Так, активність глутатіонпероксидази в плазмі крові отруєних тварин під впливом металокомплексу підвищилась на 77,2 %, а в нирках – на 30,1 %, хоча відносно інтактних становила відповідно 67,2 % та 84,2 %. Кількість SH-груп в плазмі крові щурів, яким проводилась корекція, достовірно зростала на 23,5 %, у гомогенаті нирок збільшувалась на 16,1 %, а в порівнянні з контролем цей показник залишався меншим лише на 25,6 % в плазмі та на 31,2 % в нирках. Щодо рівня церулоплазміну, то під впливом гістидинату міді в отруєних тварин він знижувався порівняно з нелікованими щурами в 1,3 рази, хоча відносно інтактних все ще залишався підвищеним в 1,14 рази. Згідно

отриманих нами результатів, на 24 год експерименту спостерігався ще більший позитивний вплив гістидинату міді як на ферментативну, так і на

Таблиця 7.3

Стан активності антиоксидантної системи у крові та нирках щурів через 6 год після отруєння блідою поганкою при корекції гістидинатом міді
($M \pm m$)

Показник	Дослід- жувана тканина	Групи тварин		
		контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+гістидинат міді n=6
СОД, ум.од./мл	кров	0,074±0,07	0,036±0,002 P<0,001	0,054±0,005 P<0,01, P ₁ <0,05
	нирки	0,58±0,03	0,28±0,03 P<0,001	0,42±0,01 P<0,01, P ₁ <0,01
Каталаза, мкат/кг	кров	1,69±0,06	0,57±0,03 P<0,001	0,75±0,03 P<0,001, P ₁ <0,01
	нирки	4,42±0,07	2,12±0,03 P<0,001	3,72±0,03 P<0,001, P ₁ <0,001
ГП, ммоль ГSH/хв · (л)кг	кров	0,58±0,003	0,22±0,03 P<0,001	0,39±0,03 P<0,05, P ₁ <0,05
	нирки	26,65±0,46	14,12±0,37 P<0,001	18,37±0,49 P<0,01, P ₁ <0,01
SH-групи, ммоль/кг	кров	2,19±0,08	1,32±0,05 P<0,001	1,63±0,04 P<0,01, P ₁ <0,05
	нирки	3,17±0,08	2,42±0,07 P<0,001	2,81±0,09 P<0,05, P ₁ <0,05
ЦП, г/л	кров	0,21±0,01	0,32 ±0,02 P<0,001	0,24±0,01 P<0,05, P ₁ <0,001
Примітки:				
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем				
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими				
3. n – кількість спостережень				

неферментативну ланку АОС тварин, уражених аманіта-фаллоїдиновим токсином (табл. 7.4). Активність СОД у нирках лікованих щурів зросла в 5,5 рази, а в крові – у 4,1 рази і становила відносно інтактних відповідно 86,2 % та

83,8 %. Під дією гістидинату міді на 24 год після введення екстракту отрути блідої поганки каталазна активність у нирках підвищилась порівняно з

Таблиця 7.4

Стан антиоксидантної активності у крові та нирках щурів через 24 год після отруєння блідою поганкою при корекції гістидинатом міді ($M \pm m$)

Показник	Дослід- жувана тканина	Групи тварин		
		контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+гістидинат міді n=6
СОД, ум.од./мл	кров	0,074±0,07	0,015±0,001 P<0,001	0,062±0,0,007 P<0,05, P ₁ <0,001
	нирки	0,58±0,03	0,09±0,01 P<0,001	0,50±0,01 P<0,05, P ₁ <0,001
Каталаза, мкат/кг	кров	1,69±0,06	0,46±0,03 P<0,001	0,67±0,04 P<0,001, P ₁ <0,001
	нирки	4,42±0,07	1,91±0,01 P<0,001	3,12±0,01 P<0,001, P ₁ <0,001
ГП, ммоль ГSH/хв · (л)кг	кров	0,58±0,003	0,14±0,01 P<0,001	0,36±0,03 P<0,01, P ₁ <0,001
	нирки	26,65±0,46	10,67±0,46 P<0,001	15,77±0,71 P<0,001, P ₁ <0,001
SH-групи, ммоль/кг	кров	2,19±0,08	1,26±0,05 P<0,001	1,75±0,06 P<0,05, P ₁ <0,05
	нирки	3,17±0,08	2,31±0,05 P<0,001	2,69±0,15 P<0,001, P ₁ <0,05
ЦП, г/л	кров	0,21±0,01	0,34±0,01 P<0,001	0,23±0,01 P ₁ <0,001
Примітки:				
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем				
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими				
3. n – кількість спостережень				

нелікованими тваринами на 63,3 %, а в крові - на 45,6 %. Активність глутатіонпероксидази на 24 год досліджень у нирках уражених щурів у результаті впливу металокомплексу зросла в 1,5 рази, а в плазмі крові – у 2,6 рази. Аналогічна тенденція спостерігалася щодо вмісту SH-груп, який тісно

пов'язаний з ГП. Його рівень під впливом гістидинату міді в нирках отруєних тварин збільшився на 16,4 % та у крові на 38,8 % і становив відносно здорових відповідно 84,8 % та 79,9 %.

Введення металокомплексу ураженим щурам призводила до зниження в крові концентрації ЦП на 32,4 %, порівняно з отруєними тваринами.

Аналізуючи дані (табл.7.5) про стан антиоксидантної системи при корекції гістидинатом міді, котрі були отримані на 72 год після введення екстракту отрути блідої поганки, можна прийти до висновку, що функціональний стан системи антиоксидантного захисту в цих тварин продовжував поліпшуватись порівняно з групою нелікованих тварин. Чотириразове введення металокомплексу ураженим щурам майже повністю нормалізувало активність СОД, яка в гомогенаті нирок зростала на 330,8 % і була менша від норми лише на 3,5 %. У крові отруєних тварин гістидинат міді підвищував активність супероксиддисмутази на 195,8 %, що відрізнялося від рівня інтактних на 4,1 %. Під впливом коригуючого середника нормалізувалась активність каталази у нирках та в крові щурів, уражених аманіта-фаллоїдиновим токсином. Так, активність цього ферменту в гомогенаті нирок підвищилась в 1,9 рази, а в крові – у 2,05 рази порівняно з групою отруєних тварин і становила відповідно 92,8 % та 66,9 % від норми. Введення гістидинату міді отруєним тваринам позитивно впливало на активність ГП, яка збільшилась на 77,9 % у нирках та на 105,0 % - у крові і наближалася до норми. На 72 год експерименту металокомплекс істотно змінював в уражених щурів вміст неферментативного антиоксиданту відновленого глутатіону і суттєво повертав даний показник до норми. Так вміст сульфгідрильних груп у нирках лікованих тварин зріс у 1,4 рази, а в крові – в 1,7 рази і становив відповідно 97,8 % і 95 % від норми. Під дією гістидинату міді вміст церулоплазміну в сироватці крові отруєних щурів знижувався на 33,4 % порівняно з групою нелікованих тварин і наблизився до норми.

Таким чином, введення гістидинату міді тваринам з аманіта-фаллоїдиною інтоксикацією сприяло значній нормалізації показників АОС протягом усього експерименту. При цьому металокомплекс більш суттєво

Таблиця 7.5

Стан антиоксидантної активності у крові та нирках щурів через 72 год після отруєння блідою поганкою при корекції гістидинатом міді ($M \pm m$)

Показник	Дослід- жувана тканина	Групи тварин		
		контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+гістидинат міді n=6
СОД, ум.од./мл	кров	0,074±0,07	0,024±0,002 P<0,001	0,071±0,006 P ₁ <0,001
	нирки	0,58±0,03	0,13±0,01 P<0,001	0,56±0,03 P ₁ <0,001
Каталаза, мкат/кг	кров	1,69±0,06	0,55±0,02 P<0,001	1,13±0,04 P ₁ <0,01
	нирки	4,42±0,07	2,06±0,02 P<0,001	4,10±0,02 P ₁ <0,001
ГП, ммоль GSH/хв · (л)кг	кров	0,58±0,003	0,20±0,01 P<0,001	0,41±0,02 P ₁ <0,001
	нирки	26,65±0,46	12,17±0,48 P<0,001	21,65±0,98 P<0,05 P ₁ <0,001
SH-групи, ммоль/кг	кров	2,19±0,08	1,22±0,04 P<0,001	2,08±0,09 P ₁ <0,001
	нирки	3,17±0,08	2,26±0,04 P<0,001	3,10±0,02 P ₁ <0,001
ЦП, г/л	кров	0,21±0,01	0,33±0,02 P<0,001	0,22±0,01 P ₁ <0,001
Примітки:				
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем				
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими				
3. n – кількість спостережень				

впливав на активність СОД, вміст сульфгідрильних груп та церулоплазміну.

7.2. Вплив гістидинату міді на процеси вільнорадикального окиснення білків плазми крові щурів при дії аманіта-фаллоїдинів

У результаті наших попередніх досліджень (розділ 4.2) було виявлено, що аманіта-фаллоїдинові токсини викликають інтенсифікацію не лише перекисного окиснення ліпідів, але й окисну модифікацію білків плазми крові. Даний підрозділ присвячено вивченню коригуючого впливу гістидинату міді на ступінь окиснювальної модифікації білків при дії отрути блідої поганки.

Про ступінь ОМБ судили за вмістом альдегідо- та кетоніохідних білків основного та нейтрального характеру. Отримані нами результати досліджень наведено в таблиці. 7.6.

Таблиця 7.6

Динаміка вмісту альдегідо- та кетоніохідних білків нейтрального (ОМБ₃₇₀) і основного (ОМБ₄₃₀) характеру (моль/кг білка) в плазмі крові тварин, лікованих гістидинатом міді, за умов дії отрути блідої поганки (M±m)

Показник	Групи тварин	Терміни після отруєння, год		
		6 n = 6	24 n = 6	72 n = 6
ОМБ ₃₇₀	контрольні	1,52±0,05		
	уражені	2,16±0,06 P<0,001	2,19±0,06 P<0,001	2,06±0,07 P<0,001
	ліковані	1,85±0,06 P<0,01 P ₁ <0,05	1,76±0,05 P<0,05 P ₁ <0,01	1,60±0,05 P ₁ <0,01
ОМБ ₄₃₀	контрольні	1,26±0,03		
	уражені	1,48±0,06 P<0,05	1,53±0,05 P<0,05	1,49±0,05 P<0,01
	ліковані	1,31±0,04 P ₁ <0,05	1,29±0,06 P ₁ <0,05	1,27±0,05 P ₁ <0,05
Примітки:				
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем				
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими				
3. n – кількість спостережень				

Як видно з даних таблиці, введення ураженим тваринам гістидинату міді призводило до суттєвого зниження вмісту окиснених білків у всі години експерименту. Так, рівень альдегідо- та кетоніохідних білків нейтрального

характеру (ОМБ₃₇₀) у плазмі крові тварин під впливом металокомплексу зменшився вже через 6 год після введення токсину на 14,4 %, через 24 год – на 19,6 %, а через 72 год – на 22,3 % порівняно з нелікованими щурами у відповідний термін. Під дією гістидинату міді рівень альдегідо- та кетоніпохідних білків основного характеру (ОМБ₄₃₀) у плазмі крові уражених тварин також знижувався через 6, 24, 72 год після введення отрути (на 11,5 15,7 та 14,8 %, відповідно).

Однонаправлені зміни показників ПОЛ з показниками ОМБ у лікованих тварин підтверджують взаємозв'язок цих двох процесів. Співставлення впливу гістидинату міді на зміни вільнорадикального окиснення ліпідів та білків плазми крові щурів, уражених аманіта-фаллоїдиновим токсином зображено на рис. 7.1.

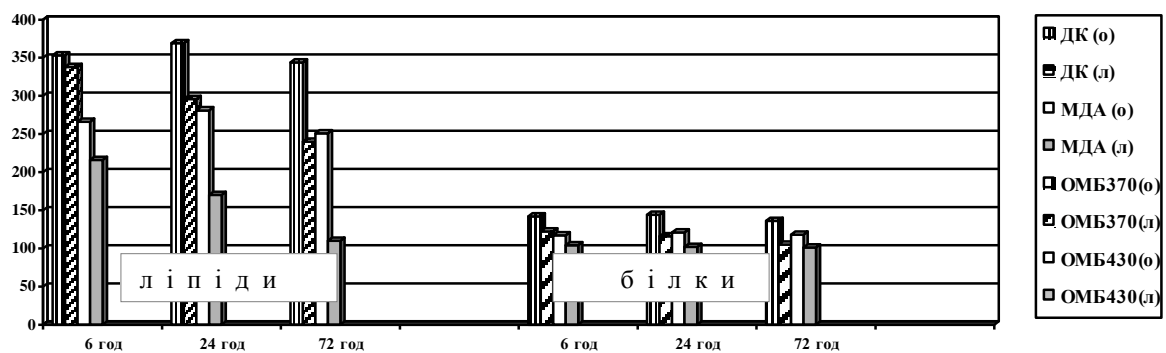


Рис. 7.1. Вплив гістидинату міді на зміни ПОЛ та ОМБ в плазмі щурів за дії аманіта-фаллоїдинового токсину (за 100 % прийнято показники в інтактних тварин).

Отже, гістидинат міді має здатність інгібувати активовані отрутою блідої поганки процеси вільнорадикального окиснення не лише ліпідів, але й білків, про що свідчить зниження рівня окисненомодифікованих білків в плазмі крові тварин, яким проводилась корекція металокомплексом.

7.3. Вплив гістидинату міді на рівень метаболітів NO в плазмі крові і нирках уражених отрутою блідої поганки щурів

У попередніх наших дослідженнях було встановлено, що під дією аманіта-

фаллоїдинових токсинів у сироватці крові і нирках щурів змінюється вміст метаболітів NO, який відіграє важливу роль у функціонуванні клітин. Тому метою наших наступних досліджень було вивчити вплив гістидинату міді на інтенсивність утворення NO в уражених тварин. Про вміст оксиду азоту в крові та гомогенаті нирок робили висновок за кількістю його метаболіту нітрит-аніону.

Результати досліджень наведено в таблиці 7.7. Згідно отриманих даних, під впливом гістидинату міді вміст NO_2^- в сироватці крові отруєних щурів достовірно знизився порівняно з нелікованими тваринами. Так, через 6 год після введення щурам отрути блідої поганки та під дією металокомплексу вміст нітрит-аніону в сироватці крові знизився на 20,2 %, через 24 год – на 57,8 %, через 72 год – на 40,2 %.

Таблиця 7.7

Вплив гістидинату міді на зміни вмісту NO_2^- в сироватці крові та в гомогенаті нирок тварин, уражених отрутою блідої поганки ($M \pm m$)

Об'єкт дослідження	Групи тварин	Терміни після отруєння, год		
		6 n = 6	24 n = 6	72 n = 6
Сироватка крові, ммоль/л	контрольні	1,10±0,09		
	уражені	1,68±0,08 P<0,001	5,36±0,22 P<0,001	2,71±0,13 P<0,001
	ліковані	1,34±0,09 P ₁ <0,05	2,26±0,10 P<0,001 P ₁ <0,01	1,62±0,09 P<0,01 P ₁ <0,001
Нирки, ммоль/кг	контрольні	3,35±0,19		
	уражені	1,72±0,10 P<0,001	0,54±0,05 P<0,001	0,81±0,06 P<0,001
	ліковані	2,81±0,14 P<0,01 P ₁ <0,001	0,92±0,07 P<0,001 P ₁ <0,05	1,86±0,09 P<0,001 P ₁ <0,01
Примітки:				
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем				
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими				
3. n – кількість спостережень				

У гомогенаті нирок спостерігалась зворотня тенденція. У всі терміни досліджень вміст нітрит-аніону суттєво збільшувався у лікованих гістидинатом міді щурів, порівняно з нелікованими, хоча до норми так і не повернувся. Згідно наших досліджень, на 6 год після отруєння вміст NO_2^- в гомогенаті нирок тварин, яким вводився металокомплекс, підвищився в 1,63 рази порівняно з нелікованими щурами, на 24 год – в 1,7 рази, а на 72 год – у 2,3 рази. Відносно контролю за цих умов вміст NO_2^- в нирках становив відповідно 83,8 %, 24,6 %, 55,5 %.

Таким чином, гістидинат міді частково може регулювати вміст оксиду азоту у щурів при дії отрути блідої поганки.

7.4. Корекція гістидинатом міді показників ендогенної інтоксикації в щурів за умов дії аманіта-фаллоїдинів

У попередніх наших дослідженнях було встановлено, що введення отрути блідої поганки викликає значне підвищення еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ) та вмісту середніх молекул (СМ). Для корекції виявлених порушень ми використали гістидинат міді, щоб з'ясувати вплив його на розвиток синдрому ендогенної інтоксикації при отруєнні блідою поганкою.

Згідно наших досліджень (табл.7.8), під впливом гістидинату міді спостерігалось суттєве зниження вмісту середніх молекул у всі періоди спостереження, порівняно з групою отруєних нелікованих щурів. Вже на 6-у год вміст ланцюгових амінокислот у сироватці крові лікованих щурів знизився на 38,4 % порівняно з нелікованими тваринами. На 24-у год спостерігалось зменшення вмісту їх на 53,7 %, а на 72-у год – на 52,5 % і майже нормалізувався. Вміст ароматичних амінокислот (СМ_2) під впливом гістидинату міді в крові отруєних щурів на 6 годину зменшився на 41,5 % порівняно з ураженими тваринами, на 24 год – на 49,1 % , а на 72 год – на 62,9 % і значно наблизився до рівня інтактних тварин. Зменшення кількості середньомолекулярних пептидів в організмі лікованих тварин вказує на

зниження під впливом гістидинату міді катаболічних процесів, викликаних аманіта-фаллоїдинами.

Одним з показників ендогенної інтоксикації організму є еритроцитарний індекс інтоксикації, що відображає ступінь пошкодження еритроцитарної мембрани, і підвищення якого може бути як наслідком дії отрути блідої поганки, ендогенних токсинів, утворених при активації вільнорадикальних процесів.

В таблиці 7.8 відображені зміни еритроцитарного індексу інтоксикації при

Таблиця 7.8

Вплив гістидинату міді на показники ендогенної інтоксикації в сироватці крові щурів, уражених отрутою блідої поганки ($M \pm m$)

Показники,	Групи тварин	Терміни після отруєння, год		
		6 n=6	24 n=6	72 n=6
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 P ₁ <0,001
	ліковані	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	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	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. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими				
3. n – кількість спостережень				

корекції гістидинатом міді порушень, викликаних введенням аманіта-фаллоїдинів. Згідно отриманих нами даних, застосування гістидинату міді суттєво знижувало ЕП в отруєних щурів в усі періоди експерименту. Так, на 6-у год отруєння під дією гістидинату міді ЕП знизився на 31,0 % від рівня уражених тварин, на 24 год спостерігалось зниження даного показника на 29,8 %, а на 72 год еритроцитарний індекс інтоксикації зменшився на 49,0 % порівняно з ураженими тваринами і майже повернувся до норми.

Отже, під впливом гістидинату міді відбувалося суттєве зниження синдрому ендогенної інтоксикації у щурів, отруєних блідою поганкою.

Таким чином, узагальнюючи наведені вище результати досліджень, можна стверджувати, що введення отруєним тваринам гістидинату міді сприяло значному зменшенню активованих вільнорадикальних процесів, на що вказує зменшення в нирках та плазмі крові вмісту продуктів ПОЛ, ОМБ та метаболіту оксиду азоту – нітрит аніону.

7.5. Вплив гістидинату міді на функціональний стан нирок щурів, уражених отрутою блідої поганки

У попередніх наших дослідження (розділі 5.1) встановлено, що введення тваринам аманіта-фаллоїдинового токсину викликає цілий ряд глибоких змін у нирках, які проявляються значними порушеннями екскреторної, іонорегулюючої і кислотовидільної функцій. З метою корекції виявлених змін ми використали гістидинат міді.

У таблиці. 7.9. наведено результати наших досліджень, які свідчать про позитивний вплив металокомплексу на зміни екскреторної функції нирок, що виникли у щурів при дії отрути блідої поганки. Згідно отриманих даних, на 6 год після введення тваринам аманіта-фаллоїдинового токсину спостерігали підвищення діурезу на 30,7 % у лікованих гістидинатом міді тварин порівняно з групою нелікованих. Концентрація креатиніну в плазмі крові знизилась на 25,2 %, а концентраційний індекс при цьому підвищувався у 1,5 рази за

Таблиця 7.9

Зміни екскреторної функції нирок у щурів на 6 годину після отруєння
блідюю поганкою при корекції гістидинатом міді ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+гістидинат міді n=6
Діурез мл/год	1,93±0,09	1,14±0,10 P<0,001	1,49±0,06 P<0,05, P ₁ <0,05
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	9,22±0,80	25,06±0,75 P<0,001	16,78±0,52 P<0,001, P ₁ <0,05
Екскреція калію, мкмоль/год	17,81±1,68	28,67±2,77 P<0,01	24,93±0,86 P<0,01
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	52,37±2,54	79,59±4,92 P<0,05	56,57±4,87 P ₁ <0,05
Концентрація креатиніну в сечі, ммоль/л	653,67±17,33	608,83±29,35 P>0,05	627,17±11,70 P ₁ >0,05
Концентрацій ний індекс креатиніну, од	12,61±0,61	7,82±0,58 P<0,01	11,75±1,31 P ₁ >0,05
Екскреція креатиніну, мкмоль/год	1,26±0,05	0,70±0,07 P<0,001	0,94±0,04 P<0,01 P ₁ <0,05
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/год	24,37±1,60	9,06±1,26 P<0,001	16,89±0,87 P<0,01 P ₁ <0,01
Реабсорбція води, %	91,98±0,37	86,84±1,02 P<0,01	90,46±0,40 P ₁ <0,05
Екскреція білка, мг/100мкл КФ	0,177±0,018	1,235±0,120 p<0,001	0,683±0,690 P<0,001 P ₁ <0,01

Примітки:

1. P – достовірність різниці порівняно з контролем
2. P₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими
3. n – кількість спостережень

Таблиця 7.10
Вплив гістидинату міді на зміни каналцевого транспорту іонів натрію у
щурів через 6 год після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Груп тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+гістидинат міді n=6
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	1,04±0,16	2,16 ±0,10 P<0,001	1,71±0,06 P<0,001, P ₁ <0,05
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	0,008±0,001	0,028±0,002 P<0,001	0,015±0,002 P<0,01, P ₁ <0,01
Екскреція іонів натрію, мкмоль/год	2,00±0,19	2,48±0,27 P>0,05	2,54±0,07 P<0,05
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	141,29±1,11	131,25±2,76 P<0,02	137,14±1,93 P ₁ >0,05
Фільтраційний заряд іонів натрію, ммоль/год	3,45±0,24	1,19±0,17 P<0,001	2,31±0,12 P<0,01, P ₁ <0,05
Концентраційний індекс натрію, од	0,007±0,001	0,016±0,001 P<0,001	0,012±0,0003 P<0,001, P ₁ <0,05
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, ммоль/год/100 г	3,44±0,24	1,19±0,17 P<0,001	2,31±0,12 P<0,01, P ₁ <0,05
Кліренс безнатрієвої води, мл/год	1,92±0,09	1,12±0,09 P<0,001	1,47±0,06 P<0,05, P ₁ <0,05
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	13,00±0,14	11,40±0,26 P<0,01	12,47±0,15 P<0,05 P ₁ <0,01
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100мкл КФ	1,12±0,05	1,70±0,14 P<0,05	1,23±0,12 P ₁ <0,05
Проксимальна реабсорбці іонів натрію, мкмоль/год	3,17±0,23	1,04±0,15 P<0,01	2,10±0,13 P<0,01 P ₁ <0,01
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	271,09±12,13	147,97±13,90 P<0,001	228,25±24,61 P ₁ <0,05
Примітки:			
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем			
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими			
3. n – кількість спостережень			

рахунок зростання його вмісту в сечі. Концентрація іонів калію в сечі знизилась на 33,1 % у порівнянні з групою нелікованих тварин. Швидкість клубочкової фільтрації на 6 год після отруєння блідою поганкою при корекції гістидинатом міді збільшувалась у 1,9 рази. Реабсорбція води достовірних змін не зазнавала. Під впливом металокомплексу екскреція білка в сечі, стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації, зменшувалась в 1,8 рази.

Під впливом гістидинату міді через 6 год після отруєння блідою поганкою концентрація іонів натрію в сечі щурів зменшилась на 20,8 % (табл. 7.10), а екскреція цього катіону, стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації зменшилась у 1,9 рази, порівняно з групою отруєних тварин, яким не проводили корекцію. Фільтраційний заряд іонів натрію в уражених тварин під впливом металокомплексу збільшився в 1,9 рази. Концентраційний індекс іонів натрію при цьому знизився в 1,3 рази. Кліренс безнатрієвої води збільшився на 31,2 % у лікованих щурів. Під впливом гістидинату міді в уражених аманіта-фаллоїдиновим токсином щурів збільшувалась проксимальна реабсорбція іонів натрію, стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації, в 1,1 рази, а дистальна реабсорбція – знижувалась у 1,4 рази, хоча залишалася вищою від норми на 9,8 %.

Кислотовидільна функція нирок через 6 год після введення отрути блідої поганки при корекції гістидинатом міді зазнавала незначних порушень.

Кислотність сечі, екскреція титрованих кислот практично не відрізнялися від показників інтактних тварин (табл. 7.11). Під впливом металокомплексу в уражених щурів спостерігалось підвищення в сечі екскреції аміаку в 1,3 рази.

Згідно отриманих нами даних (табл. 7.12) при корекції гістидинатом міді в щурів на 24 год після отруєння блідою поганкою рівень діурезу збільшувався в 1,4 рази в порівнянні з групою отруєних тварин, яким не проводилось лікування. Концентрація іонів калію в сечі залишалася підвищеною відносно інтактних щурів, але знижувалась на 30,5 % порівняно з групою нелікованих тварин. На 24 год після отруєння блідою поганкою під впливом гістидинату міді концентрація креатиніну в плазмі крові зменшилась на 45,3 %, а в сечі

Таблиця 7.11

Вплив гістидинату міді на зміни кислотовидільної функції нирок у щурів через 6 год після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Група тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+гістидинат міді n=6
рН сечі	6,53±0,57	6,89±0,19 P>0,05	6,74±0,28 P ₁ >0,05
Екскреція титрованих кислот мкмоль/год	36,47±2,42	26,50±1,50 P<0,05	32,44±1,91 P ₁ <0,05
Екскреція аміаку, мкмоль/год	125,27±9,44	103,56±6,05 P>0,05	132,56±7,45 P ₁ <0,05
Екскреція іонів водню, нмоль/год	1,02±0,08	0,99±0,06 P>0,05	1,18±0,08 P ₁ >0,05
Амонійний коефіцієнт, од	3,54±0,33	3,96±0,29 P>0,05	4,12±0,22 P<0,05
Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контролем 2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими 3. n – кількість спостережень			

збільшилась на 20,4 %. Концентраційний індекс креатиніну також підвищився в 1,53 рази, а екскреція креатиніну збільшилась на 68,4 %. Швидкість клубочкової фільтрації та відносна реабсорбція води в отруєних щурів під дією металокомплексу підвищились відповідно у 3,0 рази та 1,13 рази, хоча залишалися нижче норми в порівнянні з інтактними тваринами. Під впливом гістидинату міді зменшилась в 4,7 рази екскреція білка, стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації, хоча залишалася вищою від контрольних величин на 193,0 % (табл. 7.12) .

Таким чином, на 24 год після отруєння блідою поганкою під впливом гістидинату міді суттєво покращувалася екскреторна функція нирок, хоча повного відновлення ниркових клубочків та проксимального відділу нефрона не відбувалося.

Таблиця 7.12

Зміни екскреторної функції нирок у щурів на 24 год після отруєння блідою поганкою при корекції гістидинатом міді ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+гістидинат міді n=6
Діурез мл/год	1,93±0,09	0,71±0,04 P<0,001	0,99±0,06 P<0,001, P ₁ <0,01
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	9,22±0,80	34,14±0,64 P<0,001	23,74±1,01 P<0,001 P ₁ <0,05
Екскреція калію, мкмоль/год	17,81±1,68	26,14±1,26 P<0,05	23,54±1,89 P<0,05
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	52,37±2,54	108,25±6,83 P<0,001	59,16±2,03 P ₁ <0,001
Концентрація креатиніну в сечі, мкмоль/л	653,67±17,33	537,33±12,10 P<0,01	646,70±11,70 P ₁ <0,001
Концентраційний індекс креатиніну, од	12,61±0,61	5,06±0,33 P<0,001	7,77±0,88 P<0,01 P ₁ <0,05
Екскреція креатиніну, мкмоль/год	1,26±0,04	0,38±0,02 P<0,001	0,64±0,04 P<0,001 P ₁ <0,001
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/год	24,37±1,60	3,59±0,31 P<0,001	10,93±0,94 P<0,001 P ₁ <0,001
Реабсорбція води, %	91,98±0,37	79,86±1,19 P<0,001	90,84±0,31 P<0,05, P ₁ <0,01
Екскреція білка, мг/100мкл КФ	0,177±0,018	2,429±0,106 P<0,001	0,518±0,029 P<0,001, P ₁ <0,001
Примітки:			
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем			
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими			
3. n – кількість спостережень			

Таблиця 7.13

Вплив гістидинату міді на зміни каналцевого транспорту іонів натрію у щурів через 24 год після отруєння блідою поганкою (M±m)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отрута+гістидинат міді n=6
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	1,04±0,16	2,26±0,10 P<0,001	1,42±0,14 P<0,05, P ₁ <0,01
Екскреція іонів натрію мкмоль/100 мкл КФ	0,008±0,001	0,045±0,003 P<0,001	0,013±0,001 P<0,05, P ₁ <0,01
Екскреція іонів натрію мкмоль/год	2,00±0,19	1,60±0,12	1,41±0,16 P<0,05
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	141,29±1,11	127,52±1,93 P<0,001	134,25±1,92 P<0,05
Фільтраційний заряд іонів натрію, ммоль/год	3,45±0,24	0,46±0,03 P<0,001	1,46±0,11 P<0,001, P ₁ <0,001
Концентраційний індекс натрію, од	0,007±0,001	0,018±0,001 P<0,0001	0,012±0,001 P<0,05, P ₁ <0,05
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, ммоль/год/100г	3,44±0,24	0,46±0,03 P<0,001	1,46±0,11 P<0,001, P ₁ <0,001
Кліренс безнатрієвої води, мл/год	1,92±0,09	0,70±0,04 P<0,001	0,98±0,06 P<0,001, P ₁ <0,01
Проксимальна реабсорбція іонів натрію мкмоль/100 мкл КФ	13,00±0,14	10,18±0,13 P<0,001	12,19±0,15 P<0,01 P ₁ <0,01
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	1,12±0,05	2,53±0,18 P<0,001	1,21±0,06 P<0,001 P ₁ <0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	3,17±0,46	0,36±0,03 P<0,001	1,33±0,11 P<0,001 P ₁ <0,001
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	271,09±12,13	88,50±4,23 P<0,001	131,60±8,13 P<0,001 P ₁ <0,01
Примітки:			
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем			
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими			
3. n – кількість спостережень			

Гістидинат міді проявляв значний коригуючий вплив на іонорегулюючу функцію нирок і на 24 год після введення екстракту отрути блідої поганки (табл. 7.13). Концентрація іонів натрію в сечі під впливом металокомплексу зменшувалась на 37,2 % порівняно з ураженими щурами, яким не проводилась корекція отруєння. Стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації екскреція іонів натрію знижувалась у 3,5 рази порівняно з групою нелікованих тварин, що вказує на відновлення процесів реабсорбції цього катіону в канальцях нефрону. Концентраційний індекс натрію знизився на 45,4 %. Під впливом гістидинату міді в отруєних аманіта-фаллоїдиновим токсином тварин фільтраційний заряд іонів натрію збільшився у 3,2 рази (табл.7.13). Під дією даного коригуючого середника проксимальна реабсорбція іонів натрію, стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації, збільшилась в 1,2 рази, дистальна – знизилась у 2,1 рази порівняно з групою нелікованих тварин. Кліренс безнатрієвої води зріс на 40,0 %.

Через 24 год після введення аманіта-фаллоїдинового токсину гістидинат міді значно коригував і кислотовидільну функцію нирок, хоча повністю її не відновлював (табл.7.14).

Екскреція титрованих кислот під дією металокомплексу (табл.7.14) збільшувалась у 2,2 рази порівняно з ураженими тваринами, яким не проводилось лікування. Відмічалось також зростання у 2,1 рази екскреції аміаку та в 6,3 рази – екскреції іонів водню.

Через 72 год після введення екстракту отрути блідої поганки при корекції гістидинатом міді спостерігалось значне відновлення екскреторної функції уражених нирок (табл. 7.15). Це проявлялося підвищенням рівня діурезу в 1,8 рази в порівнянні з групою нелікованих тварин. Концентрація іонів калію в сечі знизилась на 49,3 %, а екскреція катіону наближалася до норми. Під впливом гістидинату міді в отруєних щурів концентрація креатиніну в плазмі крові зменшилась на 40 %, а в сечі – збільшилась на 20,5 % і майже повернулася до рівня інтактних тварин. Екскреція креатиніну збільшилась у 2,1 рази.

Таблиця 7.14

Вплив гістидинату міді на зміни кислотовидільної функції нирок у щурів через 24 годин після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отрута+гістидинат міді n=6
рН сечі	6,53±0,57	7,04±0,12 P<0,05	6,91±0,13 P ₁ >0,05
Екскреція титрованих кислот мкмоль/год	36,47±2,42	8,01±0,84 P<0,001	18,30±1,58 P<0,001 P ₁ <0,001
Екскреція аміаку, мкмоль/год	125,27±9,44	42,63±2,47 P<0,001	88,91±4,17 P<0,05, P ₁ <0,001
Екскреція іонів водню, нмоль/год	1,02±0,08	0,08±0,01 P<0,001	0,50±0,02 P<0,001, P ₁ <0,001
Амонійний коефіцієнт, од	3,54±0,15	5,60±0,65 P<0,01	4,95±0,25 P<0,001
Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контролем 2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими 3. n – кількість спостережень			

Не дивлячись на те, що на 72 год експерименту швидкість клубочкової фільтрації в отруєних аманіта-фаллоїдиновим токсином під впливом гістидинату міді збільшилась в порівнянні з нелікованими тваринами у 3,5 рази, але вона ще залишалася нижче норми. Також відмічалось підвищення і відносної реабсорбції води. Отрута блідої поганки значно пошкоджувала гломерулярний фільтр, але під впливом гістидинату міді екскреція білка зменшилась в 4,6 рази, навіть після проведеної корекції вона залишалася вищою від контрольних величин в 1,9 рази, що вказувало на неповне відновлення функції ниркових клубочків та проксимального відділу нефрона (табл. 7.15).

Через 72 год після введення щурам аманіта-фаллоїдинового токсину, гістидинат міді проявляв значний коригуючий вплив на іонорегулюючу

Таблиця 7.15

Зміни екскреторної функції нирок у щурів на 72 год після отруєння
блідою поганкою при корекції гістидинатом міді ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	Отрута+гістидинат міді n=6
Діурез мл/год	1,93±0,09	0,79±0,05 P<0,001	1,42±0,08 P<0,01 P ₁ <0,001
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	9,22±0,80	26,78±0,85 P<0,001	13,58±0,32 P<0,01 P ₁ <0,001
Екскреція калію, мкмоль/год	17,81±1,68	21,22±1,61 P>0,05	19,20±0,99 P ₁ >0,05
Концентрація креатиніну в плазмі, мкмоль/л	52,37±2,54	92,33±4,28 P<0,001	55,77±8,96 P ₁ <0,05
Концентрація креатиніну в сечі, мкмоль/л	653,67±39,75	540,83±16,45 P<0,01	651,80±14,88 P ₁ <0,01
Концентраційний індекс креатиніну, од	12,61±0,61	5,90±0,26 P<0,001	10,32±0,55 P<0,05 P ₁ <0,001
Екскреція креатиніну, мкмоль/год	1,26±0,04	0,43±0,04 P<0,001	0,92±0,15 P<0,001 P ₁ <0,001
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/год	24,37±1,60	4,73±0,49 P<0,001	16,79±1,26 P<0,01 P ₁ <0,001
Реабсорбція води, %	91,98±0,37	82,90±0,77 P<0,001	91,46±0,40 P ₁ <0,001
Екскреція білка, мг/100 мкл КФ	0,177±0,184	1,523±0,123 P<0,001	0,333±0,023 P<0,01 P ₁ <0,001
Примітки:			
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем			
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими			
3. n – кількість спостережень			

функцію нирок (табл. 7.16). Стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації екскреція іонів натрію знижувалася в 4,3 рази, порівняно з групою

Таблиця 7.16

Вплив гістидинату міді на зміни каналцевого транспорту іонів натрію у щурів через 72 год після отруєння блідою поганкою ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отруєні+гістидинат міді n=6
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	1,04±0,09	2,52±0,11 P<0,001	1,14±0,11 P<0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	0,008±0,001	0,043±0,003 P<0,001	0,010±0,001 P ₁ <0,001
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	141,29±1,11	120,49±1,51 P<0,001	139,79±0,96 P ₁ <0,001
Фільтраційний заряд іонів натрію, ммоль/год	3,45±0,24	0,57±0,06 P<0,001	2,34±0,17 P<0,01, P ₁ <0,001
Концентраційний індекс натрію, од	0,007±0,001	0,021±0,001 P<0,0001	0,008±0,001 P ₁ <0,001
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, ммоль/год	3,44±0,24	0,57±0,06 P<0,001	2,34±0,17 P<0,01, P ₁ <0,001
Кліренс безнатрієвої води, мл/год	1,92±0,18	0,77±0,05 P<0,001	1,41±0,08 P<0,01, P ₁ <0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	13,00±0,14	9,85±0,13 P<0,001	12,78±0,05 P ₁ <0,001
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	1,12±0,05	1,99±0,09 P<0,001	1,19±0,06 P ₁ <0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	3,17±0,23	0,47±0,05 P<0,001	2,15±0,16 P<0,05 P ₁ <0,001
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/год	271,09±12,13	93,49±0,68 P<0,001	196,42±11,06 P<0,01 P ₁ <0,001
Примітки:			
1. P – достовірність різниці порівняно з контролем			
2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими			
3. n – кількість спостережень			

нелікованих тварин, що вказувало на значне відновлення процесів реабсорбції цього катіону в каналцях нефрона. Під дією металокомплексу в отруєних щурів концентрація іонів натрію в плазмі підвищилася на 16,0 %. Концентраційний індекс катіону зменшився в 2,6 рази. Внаслідок зростання процесу фільтрації в клубочках фільтраційний заряд іонів натрію збільшувався в 4,1 рази. Відповідно в 4,1 рази зростала абсолютна реабсорбція іонів натрію, що вказує на покращання під дією гістидинату міді процесу клубочково-каналцевого балансу. В 4,6 рази активувався проксимальний і в 2,1 рази дистальний транспорт цього катіону. Стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації проксимальна реабсорбція іонів натрію зростала в 1,3 рази, а дистальна – знижувалась в порівнянні з нелікованими в 1,7 рази. Кліренс безнатрієвої води збільшувався в 1,8 рази.

У групі тварин, яка з метою корекції порушень, викликаних блідою

Таблиця 7.17

Вплив гістидинату міді на зміни кислотовидільної функції нирок у щурів через 72 год після отруєння блідою поганкою (M±m)

Показник	Групи тварин		
	контрольні n=6	отруєні n=6	отрута+гістидинат міді n=6
рН сечі	6,53±0,57	7,09±0,05 P<0,05	6,58±0,08 P ₁ <0,01
Екскреція титрованих кислот мкмоль/год	36,47±2,42	11,54±0,88 P<0,001	26,96±1,88 P<0,05 P ₁ <0,001
Екскреція аміаку, мкмоль/год	125,27±9,44	90,84±9,92 P<0,05	148,93±7,96 P ₁ <0,05
Екскреція іонів водню, нмоль/год	1,02±0,08	0,10±0,01 P<0,001	0,77±0,06 P<0,05, P ₁ <0,001
Амонійний коефіцієнт, од	3,54±0,33	7,97±0,60 P<0,001	5,70±0,31 P<0,001, P ₁ <0,01
Примітки: 1. P – достовірність різниці порівняно з контролем 2. P ₁ – достовірність різниці порівняно з ураженими 3. n – кількість спостережень			

поганкою, отримувала гістидинат міді спостерігалось зниження величини рН сечі на 7,2 % порівняно з групою отруєних тварин, але не досягала контрольної величини (табл. 7.17). Екскреція титрованих кислот при цьому підвищувалась у 2,3 рази, а екскреція аміаку зростала в 1,6 рази. Екскреція іонів водню зростала у 7,7 рази. Амонійний коефіцієнт зменшувався на 28,4 %.

Таким чином, гістидинат міді проявляв позитивний коригуючий вплив на всі функції нирок при отруєнні блідою поганкою.

7.6. Вплив гістидинату міді на морфологічні зміни в нирках щурів, уражених аманіта-фаллоїдинами

Динаміка морфологічних змін у нирках піддослідних тварин із аманіта-фаллоїдиновим отруєнням на фоні введення гістидинату міді не змінило загальних закономірностей морфологічних змін у нирках піддослідних тварин, але вираженість їх у всі терміни дослідження була меншою.

Через 6 годин від початку дослідження у щурів, яким на фоні отруєння вводили гістидинат міді, компоненти ниркових тілець кіркових нефронів були менше змінені, ішемія клубочків помірно виражена, просвіти їх капсул та звивистих каналців були менше розширені, епітеліоцити краще збереженими (рис.7.2). В даний термін експерименту електронномікроскопічні дослідження не виявили суттєвих відмінностей в будові нирок щурів отруєних блідою поганкою та при корекції гістидинатом міді.

Через 24 год від початку дослідження ще краще збереженими, виглядали нирки щурів, яким на фоні отруєння вводили гістидинат міді в порівнянні з отруєними. Судинні клубочки їх були помірно кровонаповнені, просвіт капсул суттєво не змінений, добре контурувалися обидва листки капсул Шумлянського-Боумана. В перитубулярній сполучній тканині формені елементи крові зустрічалися рідко. Добре вираженим і практично не зміненим був просвіт звивистих каналців нефронів, зернистість цитоплазми їх епітеліоцитів слабо виражена (рис. 7.3).

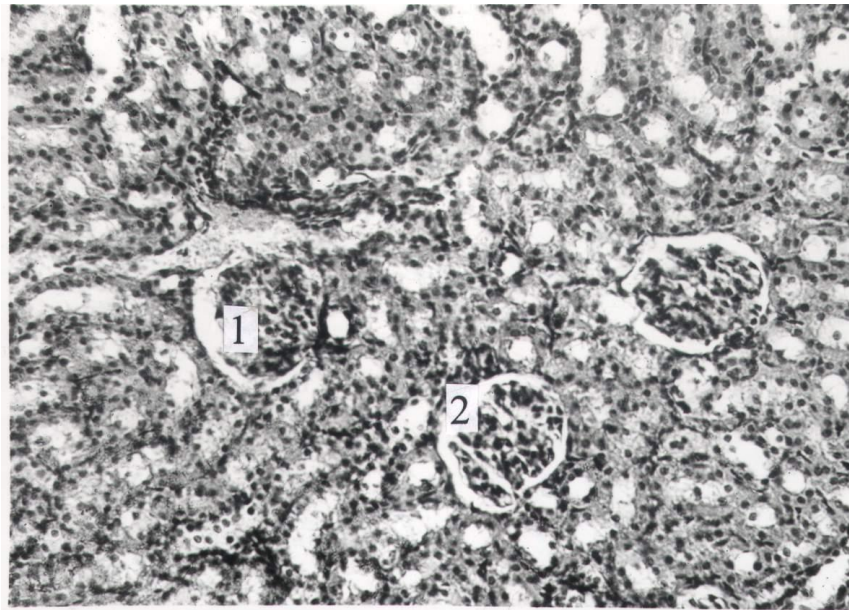


Рис. 7.2. Кіркова речовина нирки щура через 6 години після введення отрути блідої поганки і введення гістидинату міді. Ішемія ниркових тілець (1), розширення просвітів їх капсул (2). x 200.

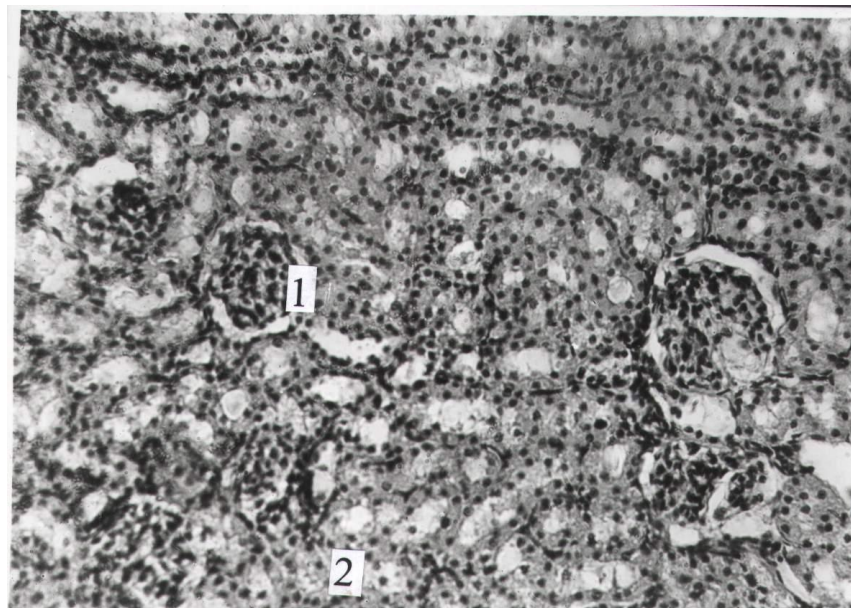


Рис. 7.3. Кіркова речовина нирки щура через 24 години після введення отрути блідої поганки і гістидинату міді. Дещо розширені просвіти капсули ниркового тільця (1), незначна зернистість епітеліоцитів проксимальних звивистих каналців (2). x 200.

У групі тварин, яким на фоні отруєння токсином блідої поганки (72 год) вводили гістидинат міді, ступінь вираженості описаних змін була ще меншою. Капіляри клубочків менш кровонаповнені, порівнюючи з попереднім терміном, просвіт капсул помітно не змінений інфільтративні явища не виражені. Просвіт звивистих каналців нефронів гарно виражений і не змінений. Добре збережені епітеліоцити обмежували чітко виражені просвіти із незмінним діаметром, чітко відрізнялись каналці проксимальних та дистальних відділів нефронів. Місцями в інтерстиції спостерігали скупчення волокнистих структур із поодинокими клітинними елементами в них. Формені елементи крові майже не виявлялись за межами судинного русла (рис. 7.4).

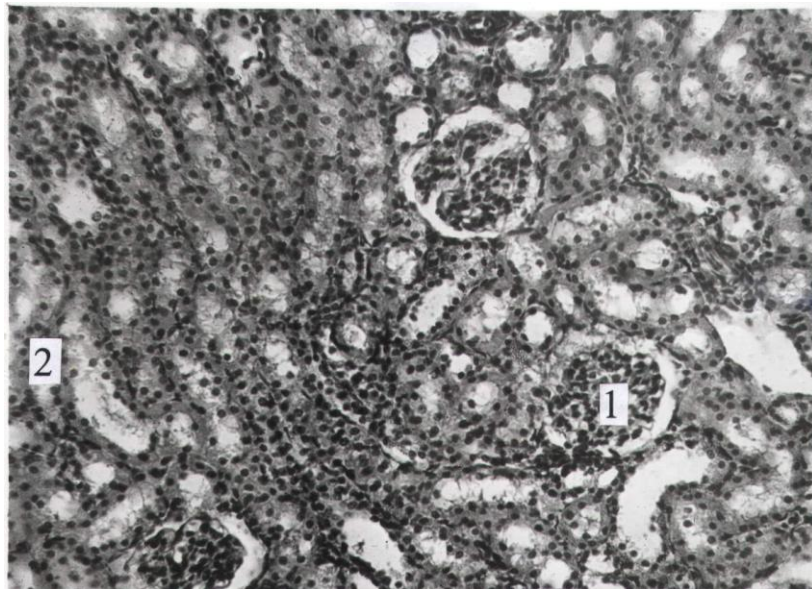


Рис. 7.4. Кіркова речовина нирки щура через 72 години після введення отрути блідої поганки і гістидинату міді. Помірно кровонаповнені судинні клубочки (1), скупчення волокнистих структур в перитубулярному інтерстиції (2). x 200.

Ультраструктурні дослідження показали кращу збереженість всіх структурних компонентів фільтраційного бар'єру та каналцевого апарату нефронів щурів двох лікованих груп. Особливо добре це виражено в нирках тварин, які на фоні отруєння отримували гістидинат міді. Ендотелій капілярів мав помірну товщину, в периферійній частині клітин виявлялись добре

виражені фенестри, на люменальній поверхні клітин розташовувались невеликі мікрворсинки. Поблизу плоских ядер із помірною кількістю гетерохроматину та добре вираженим периваскулярним простором розташовувались поодинокі добре збережені мітохондрії та елементи гранулярної едоплазматичної сітки. Базальна поверхня ендотеліоцитів прилягала до чітко контурованої тришарової базальної мембрани рівномірної товщини. З протилежного боку до цієї мембрани прилягали невеликих розмірів рівномірні цитоподії подоцитів. Цитотрабекули цих клітин містили помірно оптичнощільну цитоплазму із невеликою кількістю загальних органел. Ядра подоцитів були збільшені, в каріолемі виявлялись численні пори, в каріоплазмі переважав еухроматин і розміщувались ядерця (рис.7.5).



Рис. 7.5. Фрагмент ниркового тільця кіркової речовини нирки щура, якому вводили гістидинат міді через 72 години після отруєння. Гіпертрофоване ядро (1) подоцита, чітко контуровані цитоподії (2) на тришаровій базальній мембрані (3). x 11 000.

Добре збереженими в цей термін досліду були і каналці нефронів, в групі тварин, яким корекцію отруєння проводили гістидинатом міді. Епітеліоцити проксимальних звивистих каналців містили на поверхні добре виражену

облямівку. Цитоплазма клітин містила численні органели. Мітохондрії мали різні розміри і переважно округлу або овальну форму, в оптичнощільному матриксі виявлялись численні кристи. В базальній частині клітин мітохондрії розташовувались впорядковано між складками цитолемі. На всьому протязі клітин можна було бачити невелику кількість лізосом, серед яких переважали третинні – залишкові тільця. Ядра округлої форми були розміщені в базальній частині клітин. В їх каріоплазмі переважав еухроматин, добре контурувались ядерця. Канальці ендоплазматичної сітки та апарату Гольджі були добре збережені, дифузно розташовані в цитоплазмі (рис.7.6.). Перитубулярні базальні мембрани були добре виражені, гомогенні, рівномірної товщини. Довколаканальцеві капіляри звичайної будови.

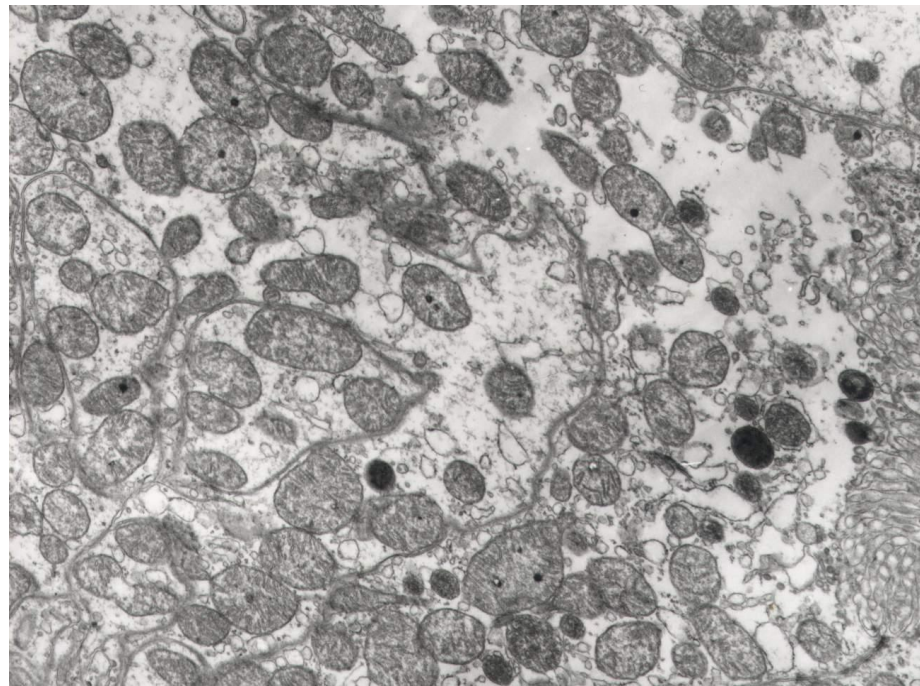


Рис.7.6. Фрагмент епітеліоцита проксимального відділу нефрона нирки отруєного щура через 72 години після введення гістидинату міді. Мікрворсинки на апікальній поверхні (1), гіпертрофія і гіперплазія мітохондрій (2), глибокі складки плазмолемі (3), залишкові тільця в цитоплазмі (4). x 14 000.

Введення даного середника сприяло відновленню функції і структури плазматичних мембран та мембран органел, покращувало дезінтоксикаційну функцію нирок і сприяло зменшенню токсичного синдрому.

Підсумовуючи результати дослідів, наведених у розділі 7, можна зробити наступні узагальнення:

- Під впливом металокомплексу гістидинату міді в тварин отруєних блідою поганкою значною мірою стабілізуються процеси вільнорадикального окиснення, свідченням чого є зниження в нирках і крові концентрації дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду та підвищення активності ферментів антиоксидантної системи – супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, вмісту SH-груп, церулоплазміну.
- Гістидинат міді знижує утворення окисненомодифікованих білків за умови аманіта-фаллоїдинової інтоксикації, зокрема вміст альдегідо- та кетоніохідних нейтрального і основного характеру білків плазми крові.
- Під впливом металокомплексу гістидинату міді в нирках отруєних тварин збільшується вміст метаболіту оксиду азоту – нітрит-аніону і знижується в крові.
- В отруєних аманіта-фаллоїдинами тварин гістидинат міді зменшує активність катаболічних процесів і прояв ендогенної інтоксикації, що веде до зниження в крові молекул середньої маси. При цьому знижується вміст ланцюгових і ароматичних кислот у середньомолекулярних пептидах і продуктах їх розпаду та еритроцитарний індекс інтоксикації, як сумарний показник ендогенної інтоксикації.
- Гістидинат міді запобігає пошкодженню структурних елементів гломерулярного і тубулярного відділів нефрона, які вражаються аманіта-фаллоїдиновими токсинами. Зокрема, покращується структурна організація компонентів нефрогематичного бар'єру

(ендотеліо- та подоцитів і базальної мембрани), а також епітеліоцитів тубулярного апарату (особливо виразно – проксимальних канальців). У всіх зазначених елементах нефронів краще збережені клітинні та внутрішньоклітинні мембрани.

Матеріали цього розділу надруковано в роботах [21, 48].

РОЗДІЛ 8

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Актуальність проблеми гострих отруєнь шапинковими грибами зумовлена зростанням в останні роки, як в багатьох регіонах нашої країни, так і за кордоном, кількості осіб, які отруїлися блідою поганкою [6, 15, 17, 85, 91, 96, 181, 209].

Токсини блідої поганки належать до надзвичайно сильних отрут. У залежності від часу і місця збирання, ґрунту, погоди і віку блідої поганки сумарний вміст у ній індивідуальних токсинів та їх співвідношення, загальна токсичність і час клінічних проявів коливаються у широких межах [12, 15].

Виявлена чітка гепато- і нефротоксичність отрути блідої поганки. Аманітатоксини діють на ядра клітин, знижують синтез РНК та ДНК шляхом інгібування ядерно-цитоплазматичної РНК-полімерази II, в результаті чого розвивається аутоліз клітин [6, 85, 86]. За даними різних авторів [85, 191, 234, 241, 246, 256,] при аманітиновій інтоксикації суттєво вражаються нирки. Так, J.Foltinova [249] після внутрішньоочеревинного введення мишам α - аманітину спостерігав ранні зміни в ядерцях нефроцитів, а на 3-й день інтоксикації – некроз епітеліальних клітин звивистих каналців.

Згідно з даними літератури [6, 85, 96, 178], при отруєнні блідою поганкою порушення функції нирок різного ступеня тяжкості спостерігається у всіх хворих. Гостра ниркова недостатність зустрічається у 20-25 % випадків, і часто залежить від тяжкості ураження печінки, патології нирок в анамнезі [123].

У доступній нам літературі ми не знайшли повної оцінки функціонального стану нирок при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації, а це має важливе значення для розуміння патогенезу отруєнь токсинами блідої поганки та лікування даної патології і попередження виникнення ускладнень. Крім того, існують суперечливі дані щодо розвитку гіперазотемії при отруєнні блідою

поганкою. Деякі автори вважають, що гіперазотемія при дії аманіта-фаллоїдинового токсину носить продуктивний, а не ретенційний характер і не пов'язана з нирковою недостатністю [10].

Вплив природної отрути блідої поганки, що складається з відомих на сьогодні 15 токсинів, на стан окиснювальної модифікації білків, вміст оксиду азоту, стан пероксидного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту, екскреторну, іонорегулюючу і кислотовидільну функції нирок практично не вивчався.

Як показали результати наших досліджень, ураження щурів отрутою блідої поганки супроводжуються глибокими змінами морфо-функціонального стану нирок. 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 1,69 рази, на 24 год – у 2,72 рази, на 72 год – у 2,44 рази. Це було наслідком значного зниження клубочкової фільтрації. Зниження швидкості клубочкової фільтрації, очевидно, відбувалося як за рахунок гемодинамічних порушень в нирці, так і органічних змін, викликаних прямою дією аманіта-фаллоїдинового токсину, що підтверджується проведеними нами морфологічними дослідженнями.

Під впливом отрути блідої поганки концентрація креатиніну в плазмі крові збільшилась в 2,10 рази, а в сечі зменшилась в 1,2 рази. Зниження концентраційного індексу ендogenous креатиніну в 1,61, 2,49 та 2,47 рази відповідно на 6, 24, 72 години вказує на порушення проксимальної реабсорбції.

Калійурична реакція, яка спостерігалася протягом усього терміну експерименту, може бути зумовлена стимуляцією синтезу альдостерону в кірковій речовині наднирників ангіотензином II та порушенням його реабсорбції у проксимальних відділах нефрона.

Екскреція білка, стандартизована за об'ємом клубочкової фільтрації, зростає у 6,98 рази через 6 годин після введення екстракту отрути блідої поганки, у 13,57 рази – через 24 год, у 8,60 рази – через 72 год, що вказує на значне

пошкодження гломерулярного фільтру та проксимального відділу нефрона, внаслідок порушення реабсорбції білка шляхом піноцитозу. Зниження реабсорбції води також підтверджує пошкодження проксимальних звивистих каналців.

Отрута блідої поганки спричиняла виражені порушення у функціонуванні ниркових транспортних систем. Концентрація іонів натрію в сечі максимально зросла на 42,31 % за рахунок високої екскреції, яка у 5,37 рази перевищувала контрольні дані. Це приводило до порушення натрієвого гомеостазу. Внаслідок значного пошкодження гломерулярного фільтра та реакції нирок на гіпонатріємію різко знижувався фільтраційний заряд іонів натрію (в 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 1,80 рази. Таким чином, мало місце порушення механізмів каналцево-каналцевого балансу. Свій патогенетичний вплив на проксимальний відділ нефрону аманіта-фаллоїдиновий токсин, очевидно, здійснює за рахунок прямої блокади $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФ-ази та сукцинатдегідрогенази [34].

Пригнічення проксимального транспорту іонів натрію призводило до зростання його концентраційного індексу в 3 рази. Кліренс безнатрієвої води був нижчим, ніж в контрольній групі тварин на 60 %. Оскільки втрати іонів натрію з сечею супроводжувалися зниженням кліренсу безнатрієвої води, це може свідчити про неадекватну реакцію нирок на регуляторні сигнали за умов водного навантаження.

Виявлені зміни біохімічних показників при отруєнні токсином блідої поганки можна пояснити 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 екскрецій 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 58,20 % на 24 год і на 125,0 % 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 проксимальних каналців, де він активує механізми тубуло-гломерулярного зворотнього зв'язку і викликає розвиток ретенційної азотемії. Крім того, має місце порушення механізмів каналцево-каналцевого балансу.

Отримані нами результати співпадають з даними літератури [86], коли при патології нирок, зумовленої введенням тваринам двохлористої ртуті, пошкодження проксимального відділу нефрона призводило до зниження реабсорбції іонів натрію в даному відділі ниркових каналців із зростанням доставки цього катіону до *macula densa* дистального відділу нефрона. Внаслідок активації внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи виникає спазм приносячої артеріоли нирок з розвитком ішемії кіркової речовини цього органа що призводить до зниження швидкості клубочкової фільтрації і діурезу. У ділянці ішемії активуються реакції вільнорадикального окиснення ліпідів [86,151].

Оскільки однією із важливих ланок порушення ниркової діяльності і зниження каналцевого транспорту є пригнічення транспортних АТФаз та інших пов'язаних з мембранами ферментів, то ступінь цього пригнічення під впливом токсичних речовин значною мірою може впливати на інтенсивність порушення перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [34]. Отримані нами

результати співпадають з даним твердженням. Під впливом аманіта-фаллоїдинового токсину інтенсивність ПОЛ підвищувалась як в крові, так і в нирках. Підвищення вмісту дієнових кон'югатів спостерігалось в усі терміни. Максимальні зміни цього показника в нирках були зафіксовані на 24 год і збільшились порівняно з інтактними щурами на 118,28 %. Вміст МДА в нирках максимально зріс на 24 год і був на 197,30 % вищим від рівня інтактних. Таким чином, отрута блідої поганки призводить до інтенсифікації процесів пероксидного окиснення ліпідів в нирках та крові.

Універсальним процесом, який відіграє провідну роль у реалізації токсичної дії переважної більшості токсичних агентів, є активація вільнорадикальних процесів. Механізм ушкодження клітин вільно радикальними метаболітами полягає у їх здатності ініціювати пероксидне окиснення ліпідів та білків, утворювати активні форми кисню, що є високотоксичними сполуками і здатні самі започаткувати нові вільнорадикальні реакції [32, 33], пошкоджуючи при цьому клітинні мембрани.

Окрім того, згідно з даними літератури [104], у біологічних системах постійно утворюються продукти одноелектронного відновленого кисню (супероксидний аніон-радикал, пероксид водню, гідроксильний радикал), так звані активні форми кисню. Під дією різних несприятливих факторів на організм їх рівень змінюється і вони можуть спричинювати деструкцію не тільки ліпідів, а й білків. Ці процеси не вивчені при отруєнні блідою поганкою. Зважаючи на це, важливо було дослідити процеси окиснювальної модифікації білків (ОМБ) в уражених отрутою блідої поганки щурів у різні періоди експерименту. Про ступінь ОМБ робили висновок за вмістом альдегідо- та кетонпохідних білків нейтрального та основного характеру.

Згідно з отриманими нами даними, при дії отрути блідої поганки в плазмі крові уражених тварин вміст окиснених білків зростає. Так, рівень альдегідо- і кетонпохідних білків нейтрального характеру (ОМБ₃₇₀) збільшився у 1,40 рази порівняно з контролем вже на 6-у годину експерименту, в 1,44 рази - на 24-у год і у 1,36 рази - на 72-у год. Тоді як вміст альдегідо- і кетонпохідних білків

основного характеру (ОМБ₄₃₀) підвищився порівняно з нормою на 6-у годину в 1,17 рази, на 24-у – в 1,21 рази, на 72-у – в 1,18 рази.

При співставленні показників ПОЛ з показниками окиснювальної модифікації білків прослідковується одна і та ж спрямованість змін - максимальній активності пероксидного окислення ліпідів на 24-ту годину відповідає найвищий вміст окиснених білків. Це свідчить про взаємозв'язок двох процесів – вільнорадикального окиснення ліпідів та ОМБ у перебігу патологічного процесу. Причиною зростання концентрації окиснено модифікованих білків у плазмі крові тварин, отруєних токсином блідої поганки, може бути зниження активності системи антиоксидантного захисту, особливо ферментів першого ряду, які здатні знешкоджувати активні форми кисню, котрі і є безпосередньою причиною пероксидного окиснення білків.

Нами зафіксовано різке зниження у нирках активності СОД – основного антиоксидантного ферменту клітини, який каталізує реакцію дисмутації супероксиданого радикала і блокує ланцюг перекисного окиснення ще на стадії ініціації. При цьому найбільше зниження активності супероксиддисмутази спостерігалось на 24 год після введення отрути блідої поганки (15,5% від рівня інтактних). Факти пригнічення активності ензиму при ураженні нирок зареєстровані також іншими авторами [34, 72, 122]. Однією з основних причин зниження активності СОД вважають різке пригнічення процесів транскрипції і трансляції в клітинах під впливом токсину. Крім цього, інгібування активності супероксиддисмутази може бути викликане надмірним збільшенням у клітині концентрації супероксидного аніон-радикалу, перекису водню, синглетного кисню, гідроксильних радикалів, гідроперекисів, що призводить до незворотного відновлення міді в активному центрі ферменту або ж окислення в ньому деяких функціональних груп, зокрема тіолових, на що вказують інші автори [64]. У нашому випадку зниження активності СОД у нирках щурів може також відбуватися за рахунок посиленого витрачання її на нейтралізацію великої кількості супероксидного аніон-радикалу. Про тісний взаємозв'язок між вмістом активних форм кисню 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 окисненомодифікованих білків співпадав з найнижчою активністю ферменту. Таку ж зворотню залежність виявлено між інтенсивністю ПОЛ, а саме вмістом МДА і активністю супероксиддисмутази, при цьому коефіцієнт кореляції становив $r = -0,74$.

Звертає на себе увагу різнонаправленість змін показників СОД і ЦП у крові отруєних блідою поганкою тварин. Обидва ці ферменти містять в своєму складі мідь та дисмутують супероксидний-аніонрадикал. Однак СОД є інтра-, а ЦП екстрацелюлярним ферментом. Можливо, що підвищення рівня ЦП на фоні зниження активності СОД обумовлено компенсаторно-захисною реакцією організму. Хоча, враховуючи дистрофічно-некротичні зміни, які відбуваються в організмі під дією отрути блідої поганки, більш імовірно припустити, що збільшення вмісту ЦП в плазмі пов'язано зі порушенням його катаболізму. Зниження активності нейрамінідази в дистрофічно змінених клітинах буде приводити до зниження десіалювання ферменту і він буде менше виводитись з організму.

Ще одним ферментом, який відносять до першої ланки АОС, що направлений на знешкодження і утилізацію активних форм кисню є каталаза, яка каталізує реакцію розкладання пероксиду водню до води [103]. В результаті проведених нами досліджень виявлено, що під впливом аманіта-фаллоїдинового токсину активність КТ в нирках та крові знижується в усі терміни експерименту. Відомо, що найбільша активність ферменту виявляється в еритроцитах, печінці та нирках. У клітинах він зосереджений в основному в пероксисомах. Так як під дією отрути блідої поганки, згідно з даними [18], може бути дегрануляція як вільних, так і зв'язаних з мембранами ендоплазматичної сітки 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, вона може піддаватися окислювальній модифікації активними формами кисню. Якщо

порівняти показники ОМБ та активність каталази, (для альдегідо- та кетоніоходних білків основного характеру $r = - 0,77$), то можна виявити між ними зворотну залежність, що може свідчити про важливу роль цього процесу в зниженні ферментативної активності КТ.

Ще однією важливою ланкою захисту клітин від переокиснення є глутатіонова система. Введення тваринам екстракту блідої поганки призводило до зниження в нирках та крові активності ферментного компоненту - глутатіонпероксидази і неферментного - вмісту SH-груп. Найбільші зміни ми спостерігали на 24 год після введення аманіта-фаллоїдинового токсину, в момент найбільшої інтоксикації отруєних тварин, коли вміст SH-груп у нирках зменшувався в 1,4 рази, а в крові - в 1,7 рази. Активність ГП при цьому знижувалась у нирках у 2,5 рази, а у крові - в 4,1 рази. Наші дані співпадають з даними літератури [75, 79] про зниження активності глутатіонової системи при токсичних ураженнях нирок. ГП знешкоджує H_2O_2 у цитозолі та мітохондріях. Головну причину пригнічення активності ГП за токсичного ураження організму деякі дослідники бачать у деструктивному порушенні мембран ендоплазматичної сітки і рибосом, що призводить до пригнічення синтезу ферменту

Таким чином, підсумовуючи вище наведені дані, можна стверджувати, що важливу роль у патогенезі ураження нирок природним аманіта-фаллоїдиновим токсином відіграють зміни з боку антиоксидантної системи.

Біологічним медіатором, що регулює численні фізіологічні та патологічні процеси є оксид азоту (NO). Він належить до активних кисневих метаболітів, оскільки до складу його молекули входить вільний радикал з одним непарним електроном, який і зумовлює високу хімічну реактивність. Згідно даних літератури [87], багато типів клітин тварин, в тому числі ендотеліальні і м'язові клітини синтезують NO, який, з одного боку, відіграє роль посередника, а з другого - володіє цитотоксичною дією. Відомо три ізоформи NO: нейрональна (n-NOS), ендотеліальна (e-NOS), індукцйбельна (i-NOS). Кожна з них має особливості синтезу і локалізації. n-NOS локалізується переважно в нервових

клітинах, e-NOS – в ендотеліальних клітинах судин, тромбоцитах, гломерулах, мезангії, аферентних артеріолах клубочків, i-NOS з'являється в клітинах тільки після стимуляції хімічними речовинами і тому в нормі відсутня. Взаємодіючи з активними формами кисню (супероксид-радикалом) NO утворює токсичні сполуки – пероксинітри, які, згідно з даними літератури, здатні збільшувати ішемію і викликати пошкодження епітеліальних клітин каналців нефронів при гострій нирковій недостатності [122]. Також пероксинітри індують пошкодження ДНК і мутації, інгібують функцію ферментів. Отже, оксид азоту може бути фактором ендогенної інтоксикації, який відіграє важливу роль в протіканні патологічного процесу [41] .

В результаті проведених нами досліджень виявлено підвищення вмісту нітрит-аніону в сироватці крові уражених блідою поганкою тварин. При цьому найбільші зміни спостерігалися через 24 год після введення щурам отрути (в 4,87 рази більше, ніж у контролі). До кінця експерименту відмічалось збільшення NO_2^- в 2,46 рази. На нашу думку, наростання метаболіту оксиду азоту в крові тварин під дією аманіта-фаллоїдинового токсину зумовлено активацією NO – синтетази системи. У гомогенаті нирок ми спостерігали іншу тенденцію стосовно оксиду азоту. На 6 год експерименту відмічалось зниження нітрит-аніону на 48,66 % в порівнянні з контролем. На 24 год після введення отрути блідої поганки спостерігалось різке зменшення цього показника – на 83,88 %. Через 72 год від початку дослідження вміст NO_2^- знизився порівняно з інтактними тваринами на 75,82 %. Таким чином, під впливом аманіта-фаллоїдинових токсинів у крові підвищується вміст NO_2^- , що може бути наслідком активації під впливом токсину індукцибельної форми NO-синтетази в гепатоцитах, тканинних макрофагах, нейрофілах крові тощо. В той же час, зафіксоване нами локальне зниження вмісту нітрит-аніону в нирках, можливо, викликається або прямою інгібуючою дією токсину на конституційну NO синтазу нирок, або ж зумовлене посиленням утворенням супероксиданіонрадикалу в ниркових клітинах під впливом аманіта-фаллоїдинів. Як відомо, $\text{O}_2^- \cdot$ вступає в швидку реакцію з NO, призводячи до

утворення надзвичайно шкідливого метаболіту пероксинітриту. При цьому перетворення NO до NO₂⁻ сповільнюється і вміст останнього в тканині зменшується [33].

Результати проведених нами досліджень вказують на розвиток синдрому ендогенної інтоксикації у тварин під впливом отрути блідої поганки. У щурів, яким вводили аманіта-фаллоїдиновий токсин, вміст молекул середньої маси достовірно збільшувався протягом усього експерименту. При цьому, вміст ароматичних амінокислот (СМ₂) у середньомолекулярних пептидах зазнавав більшого підвищення, ніж вміст ланцюгових амінокислот (СМ₁). Максимальні значення обох складових МСМ відмічено на 24-у годину досліджень. Зростання кількості “середніх молекул” в організмі тварин після введення отрути блідої поганки вказує на посилення катаболічних процесів. Підвищення вмісту СМ₁, до складу яких можуть входити олігопептиди, фрагменти нуклеїнових кислот, вищих жирних кислот, тригліцеридів, холестерину, свідчить про порушення структури мембран клітин, а СМ₂, компонентами яких можуть бути пуринові основи, сечова кислота, та ароматичні амінокислоти – про пригнічення детоксуючої функції організму.

Одночасно з збільшенням у крові тварин, отруєних блідою поганкою, кількості молекул середньої маси зростає і сумарний токсичний вплив на мембрани еритроцитів, який проявляється в значному підвищенні еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ) у всі години експерименту і максимального значення досягав на 24 годину. Враховуючи, те що еритроцитарні мембрани розглядають як прототип плазматичних мембран всіх клітин організму, то підвищення їх проникності, на що вказує зростання ЕІІ, можна вважати загальним проявом токсичності для мембран клітин нирок в тому числі.

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. Крім того, використані препарати завдяки гідрофільності повинні добре проникати з крові у первинну сечу, що є важливим для лікування уражень нирок. Згідно з отриманими нами результатами досліджень, обидва препарати здатні коригувати порушення процесів вільнорадикального окиснення та морфофункціонального стану нирок при їх ураженні аманіта-фаллоїдиновим токсином.

Після корекції тіотриазоліном спостерігали достовірне підвищення рівня діурезу в 1,9 рази порівнянно з групою нелікованих тварин за рахунок зростання у 3 рази швидкості клубочкової фільтрації. Знижувалась концентрація креатиніну в плазмі крові, екскреція іонів калію наближалася до норми. Також відмічалось підвищення відносної реабсорбції води, стандартизованої за об'ємом клубочкової фільтрату екскреція білка знижувалась у 3 рази.

Тіотриазолін проявляв коригуючий вплив на іонорегулюючу функцію нирок після введення аманіта-фаллоїдинового токсину. Стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації екскреція іонів натрію знижувалась у 3,3 рази, порівняно з групою контрольних тварин, що вказувало на відновлення процесів реабсорбції цього катіону в каналцях нефрона. Підвищувалась 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 вказує на покращення процесу каналцево-каналцевого балансу. Значно активувався проксимальний транспорт цього катіону і дещо менше – дистальний. Кислотовидільна функція нирок також повністю не відновлювалась після корекції тіотриазоліном. 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 функції нирок.

Отримані нами результати досліджень співпадають з даними літератури [102, 126, 148] про захисну дію тіотриазоліну при токсичних ураженнях нирок.

Проведені модельні дослідження показали, що тіотриазоліну притаманна мембраностабілізуюча, протизапальна дія, а також здатність поліпшувати анаболічні та обмежувати катаболічні процеси у печінці [137]. Згідно з даними [31], препарат здатний активувати ферментативну антиоксидантну систему в ішемізованому міокарді з вираженим гальмуванням процесів ПОЛ. Зниження вмісту кінцевого продукту пероксидації – малонового діальдегіду під впливом тіотриазоліну було встановлено при різних моделях хімічного ураження печінки [60, 61]. При введенні тіотриазоліну щурам, ураженим аманіта-фаллоїдиновим токсином, нами також 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, ніж МДА. Відомо, що біохімічною системою, яка регулює надлишкову ініціацію вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів, є антиоксидантна система. Введення тіотриазоліну тваринам, отруєним екстрактом блідої поганки, сприяло значній нормалізації показників АОС (достовірно зростала активність СОД, наближалась до норми активність каталази та глутатіотпероксидаза в нирках та в крові щурів). Вміст неферментативного антиоксиданту – відновленого глутатіону також істотно змінювався, хоча до норми повністю не повертався. 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 мікосомальні монооксидази, ферменти кон'югації та ферментні фактори антиоксидантного захисту організму [60, 61].

Тіотриазолін має 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. За даними літератури [27], 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 [14].

Ще одним важливим фізіологічним регулятором метаболічних процесів та систем організму є оксид азоту [87]. Але у високих концентраціях і при взаємодії з активними формами кисню NO викликає утворення переоксинітритів – високотоксичних сполук з прямою нефротоксичною дією, що може призвести до вторинного ураження гломерулярного апарату нирок [245]. Пригнічення синтезу NO веде до розвитку ниркової вазоконстрикції, до зниження клубочкової фільтрації, підвищення канальцевої реабсорбції води з розвитком ниркової недостатності [155]. Антиоксидант тіотриазолін проявляв виражений регулюючий ефект щодо утворення оксиду азоту як у нирках, так і в судинах за умови аманіта-фаллоїдинової інтоксикації. У гомогенаті нирок у всі терміни досліджень вміст нітрит-аніону в лікованих тіотриазоліном щурів збільшувався в 1,5 рази порівняно з нелікованими, а в сироватці крові – знижувався, хоча повної нормалізації показника не відбувалося.

Згідно з даними літератури [185], в результаті активації NO цитозольної гуанілатциклази гладеньком'язових клітин судин та подальшого утворення циклічного гуанілатмонофосфату досягається вазодилатація, що мабуть і відбувалося під впливом тіотриазоліну в отруєних блідою поганкою тварин.

Зменшення кількості ланцюгових (SM_1) та ароматичних амінокислот (SM_2) у середньомолекулярних пептидах та продуктах їх розпаду в організмі лікованих тварин вказує на зниження під дією тіотриазоліну катаболічних процесів, викликаних аманіта-фаллоїдиновим токсином. За рахунок мембраностабілізуючої здатності під впливом тіотриазоліну відбувається зниження ступеня ендогенної інтоксикації, на що вказує нормалізація ЕП.

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.

Одним з сучасних і перспективних методів терапії екзотоксикозів є застосування амінокислот та їх металокомплексів [32, 46, 47, 63, 81, 102]. Для корекції, виявлених при отруєнні блідою поганкою порушень, ми використали синтезований на кафедрі медичної хімії Тернопільської державної медичної академії проф. Я.І. Гонським металокомплекс гістидинату міді.

Застосування гістидинату міді дало позитивні результати при дослідженні функціонального стану нирок тварин, уражених аманіта-фаллоїдиновим токсином.

Під впливом металокомплексу ми спостерігали значне відновлення екскреторної функції пошкоджених 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 % і майже повернулася до рівня інтактних тварин. Також відмічалось підвищення і відносної реабсорбції води. Гістидинат міді більше, ніж тіотриазолін впливав на ступінь виведення білка з організму. Під впливом металокомплексу стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації 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. Стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації екскреція іонів натрію знижувалася у 4,3 рази, порівняно з групою нелікованих тварин, що вказувало на відновлення процесів реабсорбції цього катіону в каналцях нефрону. 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. Відповідно в 4,1 разів зростала абсолютна реабсорбція іонів натрію, що вказує на поліпшення під дією гістидинату міді процесу клубочково-каналцевого балансу. В 6,7 рази активувався проксимальний і в 3,1 рази дистальний транспорт цього катіону. Металокомплекс гістидинату міді дещо менше впливав на кислотовидільну функцію нирок в порівнянні з тіотриазоліном. Як і при дії тіотриазоліну, у групі тварин, яка з метою корекції порушень, викликаних блідою поганкою, отримувала гістидинат міді спостерігалось зниження величини рН сечі до норми. 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 %.

Таким чином, нами вперше виявлено і підтверджено гістологічно, що гістидинат міді має позитивний коригуючий вплив на функцію нирок при отруєнні блідою поганкою.

Застосування металокомплексу гістидинату міді, в уражених аманіта-фаллоїдиновим токсином тварин, значною мірою пригнічувало активність вільнорадикальних процесів, про що свідчило зниження у їх крові та нирках продуктів пероксидного окиснення ліпідів (вмісту ДК та МДА). При цьому металокомплекс більше впливав на рівень МДА, ніж ДК. Це дозволяє припустити, що використаний препарат володіє антиоксидантними властивостями. Наші дані підтверджуються даними літератури [81], згідно з якими антиоксидантний ефект гістидину та його металокомплексів можна пов'язати з властивістю гістидину зв'язувати іони Fe^{2+} , як прооксиданта, і цим самим обривати ланцюг ВРО, або із здатністю коригуючих чинників конкурувати за вільні радикали з ендогенними антиоксидантами і цим самим зберігати останні в активній формі. Не виключена здатність гістидинату міді, внаслідок його малої молекулярної маси, проникати в клітини, і самотійно, або включаючись в синтез внутрішньоклітинних антиоксидантів, виконувати антиоксидантну функцію. Згідно з нашими дослідженнями, гістидинат міді має

здатність інгібувати активовані отрутою блідої поганки процеси вільнорадикального окиснення не лише ліпідів, але й білків, про що свідчить наближення до норми рівня окисненомодифікованих білків в плазмі крові тварин, яким проводилась корекція металокомплексом. За даними [82], 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. Тому ефективність застосованого металокомплексу щодо нормалізації окиснювальної модифікації білків, 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 з отриманими нами даними, під впливом гістидинату міді вміст стабільного метаболіту оксиду азоту – нітрит-аніону (NO_2^-) в сироватці крові отруєних щурів достовірно знизився порівняно з нелікованими тваринами. У гомогенаті нирок спостерігалась зворотня тенденція. У всі терміни досліджень вміст нітрит-аніону суттєво збільшувався у нирках лікованих гістидинатом міді щурів, порівняно з нелікованими, хоча до норми так і не повернувся. Гістидинат міді частково може регулювати вміст оксиду азоту у щурів при дії отрути блідої поганки.

Введення металокомплексу викликало позитивні зміни стану антиоксидантної системи у тварин, уражених аманіта-фаллоїдиновим токсином. При цьому наближалася до норми активність СОД, яка у гомогенаті нирок зростала у 4,30 рази, а в крові збільшувалась у 2,90 рази. Під впливом коригуючого середника нормалізувалась активність каталази у нирках та в крові щурів, уражених аманіта-фаллоїдиновим токсином. Достовірних змін у бік нормалізації показників зазнавала глутатіонова система. Введення гістидинату міді отруєним тваринам позитивно впливало на активність ГП та відновленого глутатіону, який суттєво повертав даний показник до норми. Під

дією гістидинату міді вміст церулоплазміну в сироватці крові отруєних щурів знижувався порівняно з групою нелікованих тварин і наблизився також до норми.

Отже, корекція порушень активності АОС гістидинатом міді приводила до її нормалізації. При цьому металокомплекс більше нормалізував активність СОД, вміст SH-груп та церулоплазміну. Такий позитивний вплив гістидинату міді, на нашу думку, пов'язаний з вираженими антиоксидантними властивостями препарату.

Згідно з нашими дослідженнями, під впливом гістидинату міді спостерігалось суттєве зниження вмісту середніх молекул у всі періоди експерименту, порівняно з групою отруєних щурів, які його не отримували, що вказує на зниження під впливом антиоксиданту катаболічних процесів, викликаних аманіта-фаллоїдиновим токсином. Застосування металокомплексу також суттєво понижувало ЕП в отруєних щурів в усі періоди експерименту. Таким чином, гістидинат міді зменшував вираженість токсичного синдрому. Даний металокомплекс здатний ефективно нормалізувати процеси вільнорадикального окиснення в нирках та крові уражених блідою поганкою щурів, справляючи антиоксидантний та мембраностабілізуючий вплив, що дозволяє говорити про певні нефропротекторні властивості препарату.

Таким чином, отримані нами результати свідчать, що аманіта-фаллоїдиновий токсин викликає порушення екскреторної, іонорегулюючої і кислотовидільної функцій нирки з розвитком дистрофічно-некротичного ураження гломерулярно-тубулярного апарата. 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 вільнорадикальні процеси окиснення в організмі тварин, внаслідок чого в крові і 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 вмісти ланцюгових та ароматичних амінокислот у середньомолекулярних 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 каналців 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-каналцевого 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 функцій 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 (ендотеліо- та подоцитів, базальної мембрани), а також епітеліоцитів тубулярного апарату (особливо виразно – проксимальних каналців). У всіх зазначених елементах нефронів краще збережені клітинні та внутрішньоклітинні мембрани.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО НАУКОВОГО ТА 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 ВИКОВИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Альдебель М.М., Кириллова Н.В. Окислительное повреждение белков при экспериментальном гломерулонефрите // Нефрология. - 2002. - Т.6, № 2. - С. - 73-76.
2. Андрейчин М.А., Бойчук Б.Р. Лікувальна ефективність таурину, ентеросорбенту СВГС та токоферол ацетату при отруєнні блідою поганкою // Матеріали XL підсумкової наукової конференції, присвяченої 40-річному ювілею Академії “Здобутки клінічної та експериментальної медицини”. - Випуск 2. - Тернопіль, 1997. - С. 488-490.
3. Антиоксидантна корекція тіотриазоліном ендотеліальної дисфункції у хворих на ішемічну хворобу серця / О.О.Яковлева, Н.П.Савченко, О.В. Стопінчук, І.О. Дорошкевич // Клініч. та експерим. патол. – 2003. - Т. 2, № 1. – С. 86-88.
4. Артюхов В.Г., Башарина О.В. Кинетические закономерности термоинактивации супероксиддисмутазы // Укр. биохим. журн. - 1995. - Т. 67, № 4. - С.29-33.
5. Бабаджанян Е.И. Применение тиотриазолина при хронических гепатитах // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. - 1995.- Т. 5, №3. - С.12-13.
6. Бабенко О.В., Авхименко М.М., Агапов В.И. Отравления грибами: вопросы диагностики и лечения // Мед. пом. - 2002.- № 4. - С. 25-27.
7. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии. - К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. - Ч.І. - 202 с.
8. Белай И.М. Влияние нового препарата тиотриазолина на липидный обмен и перекисное окисление липидов при экспериментальном атеросклерозе // Збірник наукових статей “Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики”. - Запоріжжя, 1997. – Вип. І. – С. 183-187.
9. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – 2-е изд., перераб. - Л.: Медгиз, 1963. – 152с.

10. Березовская З.Б., Мищук И.И., Силина Л.В. Диагностическое значение клинико-лабораторных показателей при отравлении грибами // Лік. справа. - 1992. - № 1. - С. 102-104.
11. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена. – Барнаул, 1972. – 199 с.
12. Бідниченко Ю.І. Визначення грибних токсинів за допомогою диск-електрофорезу // Фармакол. журн. – 1999. - № 6. – С. 73-75.
13. Бідниченко Ю.І. Реакції виявлення токсинів блідої поганки // Фармакол. журн. – 1998. - № 1. – С. 89-90.
14. Білоус І.І., Мещишен І.Ф. Вплив мілдронату та тіотриазоліну на вміст окиснювально-модифікованих білків та малонового діальдегіду в комплексному лікуванні діабетичної полінейропатії // Мед. хімія .- 2003. – Т. 5, № 4. - С. 26-29.
15. Бойчук Б.Р. Отруєння грибами (етіологія, патогенез, клініка, диференційна діагностика, лікування і профілактика). – Тернопіль: Укрмедкнига, 1997. – 200 с.
16. Бойчук Б.Р. Вплив комплексного застосування таурину, токоферолу ацетату та ентеросорбенту СВГС на окислювально-відновні процеси в організмі за умови гострого отруєння блідою поганкою // Вестн. пробл. биол. и мед. - 1997. - № 8. - С. 20-22.
17. Бойчук Б.Р. Особливості клінічного перебігу отруєнь гастроентеротропними грибами // Тези наукової конференц. “Актуальні питання клінічної і експериментальної медицини”. – Тернопіль, 1994. – С. 10-12.
18. Бойчук Б.Р., Локай А.І., Нечай Р.Є. Морфогістохімічна характеристика печінки щурів, отруєних токсинами блідої поганки // Матеріали збірника наукових праць “Актуальні питання морфології”. – Тернопіль, 1996. – С. 95-97.

19. Бойчук Б.Р., Локай А.І. Рання диференціальна діагностика отруєнь білою поганкою з деякими кишковими інфекціями // Інфекційні хвороби. – 1996. - № 3.- С. 40-42.
- 20.Бойчук Б.Р, Кондратюк В.А., Сопель О.М. Отруєння шапинковими грибами – екологічна небезпека сьогодення // Екол. вісн. - 2002. - № 3-4. - С. 15.
- 21.Бондаренко Ю.І., Сопель О.М. Вплив гістидинату міді на показники ендогенної інтоксикації при отруєнні білою поганкою // Тези доповідей наукової конференції “III-тє читання ім. В.В.Підвисоцького”. - Одеса, 2004 - С. 22-23.
- 22.Бродов Л.Е, Кареткина Г.Н., Ющук Н.Д. и др. Клинические проявления отравлений бледной поганкой // Сов. медицина. - 1984. - № 12. - С. 109-113.
- 23.Бэран Э.Х. Комплексы карнозина // Биохимия. - 2000. - Т. 65, Вып.7. - С. 928-937.
- 24.Вадзюк С.Н., Городецький І.Т., Кліщ І.М. Ефективність деяких синтетичних фенольних антиоксидантів // Ліки. - 1997. - № 5. - С. 84- 86.
- 25.Вандер А. Физиология почек: Пер. с англ. – СПб: Изд- во “Питер”, 2000. – 256 с.
- 26.Васильєва Н.В. Стан оксидантної та захисної глутатіонової системи крові хворих у різні періоди мозкового інсульту // Бук. мед. вісник. - 1998. - Т. 2, № 2. – С. 80-84.
- 27.Васильєва Н.В., Мещишен І.Ф., Мудрик З.А. Мембраностабілізуюча та антиоксидантна дія тіотриазоліну // Укр. наук.-мед. молодіж. журн. - 1998. - № 2-3. - С. 38-41.
- 28.Виговський В.П., Олійник Т.С., Марченко І.А. Застосування тіотриазоліну при хронічних гепатитах // Ліки. - 1994.- № 1-3. - С. 38-40.
- 29.Визир А.Д., Визир В.А., Дунаев В.В. и др. Тиотриазолин – создание, механизм действия, достижения и перспективы применения в медицине //

- Збірник наукових статей “Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики”. – Випуск 8. – 2002.- С. 3-11.
- 30.Викторов И.В. Роль оксида азота и других свободных радикалов в ишемической патологии мозга // Вестник РАМН. –2000. - №4. –С.5-11.
- 31.Візір А.Д., Григор’єва З.С., Поливода С.В. Новый антиоксидант тіотриазолін у комплексному лікуванні хворих на хронічну ішемію серця // Ліки. - 1994. - № 5-6. - С. 80-84.
- 32.Владимиров Ю. А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестн. Рос. АМН. - 1998. - № 7. - С. 43-51.
- 33.Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии // Биохимия. - 2004. - Т. 69, № 1. - С. 5-7.
- 34.Власик Л.І. Вікові особливості інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів та його участь в порушенні ниркової діяльності у щурів при інтоксикації цезієм // Современные проблемы токсикологии. - 2000. - № 1. - С. 23-24.
- 35.Власик Л.І. Вікові особливості інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів в нирках білих щурів при інтоксикації ацетиланізолом // Гигиена труда. - 1999. - Вип. 30. - С. 207-212.
- 36.Волощенко Ю.В., Бердянських Н.К., Кокшарева Н.В. та ін. Фізико-хімічні властивості та радіозахисний ефект нової лікарської форми церулоплазміну // Фармац. журн. - 1998. - № 6. - С. 66-70.
- 37.Вплив спленозиду на процеси пероксидного окислення ліпідів та стан антиоксидантної глутатіонової системи за фракціонованого опромінення щурів / Б.В. Олійник, В.А. Барабой, С.А. Олійник, Н.О. Горчакова // Укр. біохім. журн. - 2001. - Т.73, № 1. - С. 73-77.
- 38.Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-35.

- 39.Геруш О.В., Косуба Р.Б. До механізму натрійуретичної дії тіотриазоліну // Фармакол. вісник. - 1998. - № 3. – С. 57- 58.
- 40.Гнатюк М.С., Виклюк Л.Т., Кулікова Н.А. Структурно-функціональна перебудова тонкої кишки при отруєнні блідою поганкою залежно від особливостей вегетативної регуляції // Здобутки клініч. і експерим. медицини. – 2003. - № 1. - С. 137-138.
- 41.Голиков А.П., Закин А.М. Неотложная терапия: Справочник для врачей. - М.: Медицина, 1996. - 160 с.
- 42.Голиков П.П., Николаева Н.Ю., Гавриленко И.А. и др. Оксид азота и перекисное окисление липидов как факторы эндогенной интоксикации при неотложных состояниях // Пат. физ. и эксперим. тер. - 2002. - № 2. - С. 6-9.
- 43.Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. - М.: Медицина, 1998. - 280 с.
- 44.Голод Е. А., Даренков А.Ф., Кирпатовский В.Н. Перекисное окисление липидов в почечной ткани больных нефролитиазом и хроническим пиелонефритом // Урология и нефрология. - 1995. - № 5. - С. 8-10.
- 45.Гольдовская И.Л., Шамшинова А.М. Случай поражения органа зрения при отравлении ядовитыми грибами // Вестн. офтальм. - 1985. - № 1. - С. 65-66.
- 46.Гонський Я. І., Гранківська С.С., Михалків М.М Вплив гістидинату міді на деякі показники крові тварин різного віку з хімічним ураженням печінки // Бук. мед. вісник. – 2002. –Т. 6, № 3. – С. 163-166.
- 47.Гонський Я. І., Кубант Р.М. Корекція порушень вільнорадикальних процесів у щурів з токсичним ураженням печінки за допомогою металокомплексів // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту, серія “Медицина”. - 2001. - Вип. 15. - С. 6-10.
- 48.Гонський Я.І., Сопель О.М. Вплив металокомплексу гістидинату міді на активність вільнорадикальних процесів у крові і нирках щурів при аманіта-фаллоїдиновій інтоксикації // Здобутки клініч. і експерим. медицини. - 2004. -№ 1(3). - С. 26-28.

49. Гончарук Є.Г., Коршун М.М. Вільнорадикальне окислення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля // Журн. АМН України. - 2004. - Т.10, № 1. - С. 131-149.
50. Горчакова Н.О., Олійник С.А., Гаркава К.Г. та ін. Антиоксидантні засоби – необхідні компоненти комплексної фармакотерапії // Фітотерапія в Україні. –2000. – № 1. – С. 7-13.
51. Григор'єва Г.С., Киричок Л.М., Конахович Н.Ф та ін. Комплексоутворення як спосіб підвищення нешкідливості сполук мікроелементів // Современные проблемы токсикологии. - 1998. - №1. - С. 21-23.
52. Губский Ю.И., Кузьменко А.И., Волощенко Т.Г. Комплексы $\text{Cu}^{(2+)}$ как ингибиторы свободнорадикального окисления липидов // Укр. биохим. журн. - 1994. - Т. 65, № 1. - С. 83-88.
53. Данилович Ю.В. Взаимосвязь образования NO и H_2O_2 и их роль в регуляции ионного гомеостаза клетки // Укр. біохим. журн. - 2001. - Т. 73, № 3. - С. 5-19.
54. Данко І.М., Данко М.Й. Інтенсивність процесів перекисного окиснення та активність ферментів антиоксидантної системи крові тварин, що зазнали тривалого впливу низьких доз радіації // Доп. НАН України. - 1999. - № 8. - С. 149-152.
55. Денищук А.П., Золотухіна Н.О. Біохімічні зміни при отруєнні блідою поганкою та їх діагностична цінність // Лабораторна діагностика. – 2001. – С. 54-55.
56. Довганюк Л.І. Динаміка змін тканинного фібринолізу в нирках білих щурів за умов інкорпорації радіоізоотопу ^{131}I // Бук. мед. вісник. - 1999. - Т.3, № 4. - С. 161-165.
57. Довганюк Л.І., Бойчук Т.М. Характеристика нефротоксичного впливу малих доз радіації та солей важких металів за умов поєднаної дії // Бук. мед. вісник. - 2001. - Т. 5, № 1. – С. 150-155.

- 58.Довганюк Л.І., Роговий Ю.Є., Бойчук Т.М. Біохімічно- функціональний стан нирок у щурів за умов впливу зовнішнього γ - опромінення // Мед. хімія. - 2001. - Т.3, № 2. - С.31-35.
- 59.Драпкина О.М., Задорожная О.О., Ивашкин В.Т. и др. Особенности синтеза оксида азота у больных инфарктом миокарда // Клиническая медицина. - 2000. - № 3. - С. 19-23.
- 60.Дроговоз С.М. Новые гепатопротекторы: тиотриазолин и антраль // Харьков. мед. журн. - 1995. - № 3-4. - С. 82-83.
- 61.Дроговоз С.М., Сальникова С.І. Механізм гепатозахисної дії тиотриазоліну // Вісник фармації. - 1995. - № 1-2. - С. 73-76.
- 62.Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека // Лаб. дело. - 1983. - № 10. - С. 30 - 33.
- 63.Дубинина Е.Е., Шугалей И.В. Окислительная модификация белков // Успехи современной биол. - 1993. - Т. 113, вып. 1. - С. 71-79.
- 64.Дудар І.О., Колесник М.О., Нікуліна Г.Г. та ін. Значення перекисного окислення ліпідів у хронізації гломерулонефрита з гематуричним компонентом // Врач. дело. - 1994. - № 5-6. - С. 84-87.
- 65.Єлисеєва О.П., Тимочко М.Ф., Абрагамович О.О. та ін. Стратегія і тактика антиоксидантного захисту в клініці внутрішніх хвороб // Укр. мед. часопис. - 2003. - № 3 (35). - С. 92- 99.
- 66.Железко В.Ф., Дрик Ф.Н., Горленко Г.Г. Интенсивная терапия при отравлении ядовитыми грибами // Здоровохранение Белоруссии. – 1987. – №5. – С. 23-26.
- 67.Заболотна Л.В. Поєднана дія пошкодження ділянки латеральних ядер перегородки мозку та блокатора NO-синтази на електролітний обмін нирок // Бук. мед. вісник. - 1998. - Т. 2, № 3-4. - С. 92-97.
- 68.Звягіна Т.В., Бєлік І.Ю., Кривоший А.А. Вивчення нітритів/нітратів як метаболітів оксиду азоту в біологічних рідинах хворих на системний та шкірний червоний вовчак // Бук. мед. вісник. - 2002. - Т. 6, № 6. - С. 33-36.

- 69.Зенков Н. К. , Меньшикова Е.Б., Реутов В.П. NO-синтетазы в норме и при патологии различного генеза // Вестник РАМН. –2000. - №4.- С. 30-35.
- 70.Каменецкая Т.И. Биохимические изменения у больных, возникающие при отравлении бледной поганкой // Врач. дело .- 1976. - № 4. - С. 121-123.
- 71.Каменецкая Т.И., Трещинский А.И., Довгань Е.Ф. и др. Клиническая картина отравлений бледной поганкой // Врач. дело. - 1976. - № 2. - С. 42-46.
- 72.Карпенко В.С., Стаховський Е.О., Вукалович П.С. та ін. Активність пероксидації ліпідів урологічних хворих в залежності від місця проживання на забруднених радіонуклідами територіях // Труды научно-практич. конф., посвящ. X годовщине аварии на ЧАЭС . - Днепропетровск. - 1996. - С. 17-19.
- 73.Кашулина А.П., Сотникова Е.Н. Роль перекисного свободнорадикального окисления в патологии и методы его изучения // Медицинская консультация.- 1996.- № 2.- С. 20-24.
- 74.Киреев С.С., Багмут Т.А., Курочкин Н.Ю. и др. Определение тяжести эндотоксикоза при критических состояниях у детей / Педиатрия. - 1990. - №6 . - С. 107.
- 75.Клинико-лабораторная оценка активності воспалительного процесса в почках при остром пиелонефрите / Возианов А.Ф., Никулина Г.Г., Пасечников С.П., Бухалов Ю.В. // Лаб. діагностика. - 1997. - № 1. - С. 17-21.
- 76.Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.
- 77.Комаров Б.Д., Лужников Е.А., Шиманко И.И. Особенности неотложной терапии при острых отравлениях // Сов. мед. – 1994. – № 1. – С. 20-24.
- 78.Корж Е.В., Хиль Ю.Н., Яйцева П.А. О диагностической ценности чрезмерного угнетения процессов перекисного окисления липидов крови // Лік. справа. - 2000. - № 5. - С. 101-103.

- 79.Король Л.В. Ферменти антиоксидантної системи у крові хворих на термінальну ниркову недостатність та після трансплантації нирки // Фізіол. журн.- 1996. – Т 42, № 3-4. - С. 120-121.
- 80.Кругликов Г. О., Штурман Ц.М. Глутатіонпероксидазна та глутатіонредуктазна активність печінки після введення селеніту натрію // Укр. біохім. журн. - 1976. –Т. 48, № 2. – С. 227-233.
- 81.Кубант Р.М. Вікові особливості порушень енергозабезпечувального окиснення у печінці щурів уражених хлоридом кадмію і солянокислим гідразинном та їх корекція за допомогою металокомплексів. // Вісник наук. дослідж. - 2001.- № 2 (22). - С. 86-88.
- 82.Кубант Р.М. Порівняльна характеристика гістидину та його металокомплексів хемілюмінесцентним методом // V Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених: Тези доп. - Тернопіль, 2001. - С. 54.
- 83.Кузьменко С.А., Бойчук Б.Р., Локай Б.А. Клінічна діагностика та профілактика отруень шапинковими грибами // Методичні рекомендації. - Тернопіль, 1997. - 19 с.
- 84.Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатиона // Успехи современ. биологии. - 1990. - Т 110, № 1(4). - С. 20-33.
- 85.Курапов Е.П., Минина К.З., Иващенко О.В. и др. Интенсивная терапия отравления грибами и веществами, содержащимися в них // Матеріали III Національного конгресу анестезіологів України “Біль, знеболювання і інтенсивна терапія” – Одеса, 2000р.- С.109 – 111.
- 86.Кухарчук О.Л., Кокощук Г.І., Магальяс В. М. Та інш. Біохімічні механізми нефротоксичної дії важких металів// Наук. вісн. Чернівець. ун-ту. - 1998. - Вип. 20. – С. 23-28.
- 87.Кучеренко А.Г., Маткеримов Д., Марков Х.М. и др. Оксид азота при хроническом гломерулонефрите у детей // Педиатрия. - 2002. - № 2. - С. 17-20.

- 88.Левицкий Е.Л. Экопротекторы в клинической практике // Журн. практ. врача. - 1996. - № 1. - С. 36- 37.
- 89.Логинов А.С., Матюшин Б.Н., Ткачев В.Д. Клиническое значение системы глутатиона печени при ее хронических поражениях // Тер. архив. - 1997. - Т. 69, № 2. - С. 25 - 27.
- 90.Локай Б. А. Зміни вмісту метаболітів гліколізу в крові, інкубованій з отрутою блідої поганки і пеніциліном // Мед. хім. – 2000. – Т.2, № 3, - С.51-53.
- 91.Лудевиг Р., Лос К. Острые отравления / Пер. с нем. – М.: Медицина, 1994. – 180 с.
- 92.Лужников Е.А. Клиническая токсикология. - М.: Медицина, 1996 - 368 с.
- 93.Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Широкова М.И. Реаниматологические аспекты сорбционной детоксикации в практике лечения острых экзогенных отравлений // Анест. и реаним. - 1997. - № 5. - С. 35-37.
- 94.Лужников Е.А., Ильяшенко К.К., Голиков П.П., и др. Нарушения процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы крови при острых отравлениях психотропными препаратами // Анестезиология и реаниматология. - 2002. - № 2. - С. 20-23.
- 95.Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. Острые отравления. – М.: Медицина, 1989. – 432 с.
- 96.Луцкий Я.М. Неотложные состояния у детей // Материалы 6-го конгресса педиатров России. – Москва, 2000. – С.14-15.
- 97.Майданик В.Г., Малкоч А.В. Значення оксиду азоту в клінічній нефрології // Збірник наукових праць “Актуальні проблеми нефрології”. – Київ. - 1999. - вип.3. - С. 30-43.
- 98.Макаренко С.В., Тушкин В.В. Интенсивность перекисного окисления липидов в почках при миогемоглобинурической недостаточности // Пат. физ. и эксперим. тер. – 1994. - № 4. - С. 43-44.
- 99.Маринчин С.І. Оксид азоту у фізіології та патології нирок // Хист. - 2002. - Вип. 3. - С. 88-96.

100. Матсукура Т., Танака Х. Применение комплекса L-карнозина с цинком в медицине // Биохимия. - 2000. –Т. 65, Вып.7.– С. 961-967.
101. Меншикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Успехи совр. биол. - 1994. -Т. 113, № 4. - С. 442-455.
102. Мерзляк С.В. Динаміка змін деяких показників гомеостазу у хворих на гострий пієлонефрит під впливом тіотриазоліну // Урологія. - 1999. - Т.3, № 2. - С. 13-15.
103. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк , Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
104. Мещишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Бук. мед. вісник. - 1998. - Т. 2, № 1. - С. 159-160.
105. Мещишен І.Ф., Польовий В.П. Механізм окислювальної модифікації білків // Бук. мед. вісник - 1999.- Т. 3, № 1.- С.196-205.
106. Михеева А.И., Богодарова И.А. К методике определения общего белка в моче на ФЭК-Н-56 // Лаб. дело. – 1969. - № 7. – С.441-442.
107. Мищук И.И. Изменения и коррекция реологических свойств крови у больных с отравлением ядовитыми грибами // Анест. и реаним. – 1997. – № 3. – С. 44-48.
108. Могош Г. Острые отравления: диагноз, лечение. - Бухарест: Мед. издательство, 1984. – 579 с.
109. Мусселиус С.Г. Острые отравления грибами // Фельдшер и акушерка. - 1989. - № 6. - С. 35-40.
110. Мухин И.В., Николенко В.Ю., Игнатенко Г.А. Роль оксида азота в патогенезе хронического гломерулонефрита (обзор литературы) // Нефрология. - 2003. - Т. 7, № 1. - С. 41- 45.
111. Мухин И.В., Никоненко В.Ю., Игнатенко Г.А. Роль оксида азота в патогенезе хронического гломерулонефрита // Нефрология.- 2003. – Т. 7, № 1. - С. 41-45.

112. Назаренко А.А., Кузьміна Н.С., Османов С.К. и др. Плазменный церулоплазмин у больных с печеночно-почечной недостаточностью // Лаб. дело. - 1990. - № 12. - С. 55-59.
113. Наточин Ю.В. Основы физиологии почки. – Л.: Медицина, 1982. – 207 с.
114. Наумов В.З., Ющенко А.А., Теплый Д.Л. и др. Сравнительное изучение антиоксидантного действия солюсульфона и а- токоферола // Бюлл. эксперим. биол. и мед. - 2000. - Т. 129, № 1. - С.48-49.
115. Неверов Н.И., Козловская Л.В. Свободнорадикальные процессы и перекисное окисление липидов при заболеваниях почек // Тер. архив. - 1994. - Т. 63, № 11. - С. 42-44.
116. Неотложная урология и нефрология / А.В.Люлько, А.А. Люлько, Ю.И. Удовицкий, Т.Р.Кадири, С.И. Баранник, В.П. Стусь / Под. ред. А.В. Люлько. - К.: "Здоровя", 1996. - 286 с.
117. Нефедов Л.Н., Дорошенко Е.М., Хомич Т.Н. и др. Аминокислотный фонд печени на фоне активации синтеза глутатиона // Укр. биохим. журн. - 1995. - Т. 67, № 4. - С. 24-29.
118. Никулина Г.Г., Баран Е.А., Король Л.В. Активность перекисного окисления и ферментов-антиоксидантов как критерий жизнеспособности почечного аллотрансплантата // Материалы международного симпозиума "Кислород и свободные радикалы". - Гродно, 1996. - С.81-82.
119. Никулина Г.Г., Король Л.В., Саговникова Е.В. Достижения и перспективы исследования антиоксидантной системы при урологических и нефрологических болезнях // Биохимия. - 1999. - Т. 64, № 1. - С. 3-7.
120. Нікуліна Г.Г., Король Л.В. Активність антиоксидантних та реноспецифічних ферментів в крові при нирковій недостатності // Матеріали 7-го Українського біохімічного з'їзду. - Київ, 1997. - С. 59-60.
121. Нікуліна Г.Г., Король Л.В. Клініко-експериментальне дослідження мембранної патології та її значення в трансплантології нирки // Урологія. 1997. - № 1. - С. 27-32.

122. О роли оксидантного стресса в развитии апоптоза при экспериментальной острой почечной недостаточности / Е.А. Орлова, И.А. Комаревцева, Е.Г.Петров, Л.С. Деркач // Укр. мед. альманах. - 2003. - Т. 6, № 1. - С. 83-85.
123. Острая почечная недостаточность / П.С.Серняк, А.Ф.Возианов, Н.В.Коваленко, Л.В.Логвиненко. - К.: Здоров'я, 1988. - 144 с.
124. Патент 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. Заявлено 25.11.03. Опубл. 16.08.04. Бюл. № 8 – 3 с.
125. Патогенез поліуричної стадії нефротоксичної гострої ниркової неостаточності / А.І. Гоженко, Ю.Є. Роговий, О.С. Федорук, І.А. Кузьменко // Журн. АМН України. – 2000. –Т.6, № 4. – С.775-782.
126. Піняжко О.Р. , Кайдашев І.П., Стець О.В. Корекція тіотриазоліном функції нирок за умов гострої етиленліколевої інтоксикації // Практична медицина. - 1997. - № 5-6. - С. 119- 121.
127. Передій В.Г. Матеріали про грибні отруєння серед населення України. – К., 1997. – 66 с.
128. Польовий В.П., Польова С.П. Стан перекисного окислення ліпідів та окислювальної модифікації білків при місцевому перитоніті // Бук. мед. вісн. - 2000.- Т. 4, № 4.- С. 175-178.
129. Попова С.П. Порівнювальний аналіз ефективності впливу акупунктури та α -токоферолу на процеси ліпопероксидації й антиоксидантного захисту організму щурів при експериментальному виразковому процесі в гастродуоденальній ділянці // Бук. мед. вісник. - 2002. - Т. 6, № 3. - С. 181- 185.
130. Пузик С.Г. Тіотриазолін у комплексному лікуванні хронічної серцевої недостатності, обумовленої артеріальною гіпертензією // Журн. прак. лікаря. - 2003. - № 2. - С. 58-61.

131. Руденко С.С., Боднар Б.М., Кухарчук О.Л. та ін. Вплив селену на функціональний стан нирок білих щурів при алюмінієво-кадмієвій інтоксикації // Укр.біохим.журн. - 1998. - Т. 70, № 6. - С. 98-105.
132. Рябов С.И., Куликова А.И., Тугушева Ф.А. Перекисне окислення ліпидів і система антиоксидантної захисти у больних хронічним гломерулонефритом // Тер. архив. - 1995. - Т. 67, № 12. - С. 33-36.
133. Рябов С.И., Наточин Ю.В. Функціональна нефрологія - Спб. ; Лань, - 1997. - 304 с.
134. Серняк П.С., Логвиненко Л.В. Остра почечная недостаточность при отравлении ядовитыми грибами // Врач. дело. - 1988. - № 12. - С. 78-80.
135. Сетко Н.П., Боев В.М. Современные аспекты использования антиоксидантов для повышения резистентности организма при воздействии химических загрязнителей окружающей среды. Обзор // Гиг. и санит. – 1997. – № 6. – С. 53 – 56.
136. Симоненко В.Б. Антиоксиданты в комплексной терапии инфаркта миокарда // Клинич. медицина. - 1998. - № 11. - С. 49-50.
137. Слишков В.В., Сахарова Т.С., Сальникова С.І., Сарбаш Т.Ф. Порівняльний аналіз ефективності антрацію та тіотриазоліну за умов експерименту// Ліки - 1994.- № 1-3, - С. 34-37.
138. Сопель О.М. Вплив отрути блідої поганки на функціональний стан нирок // Матеріали всеукр. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених "Актуальні проблеми клінічної, експериментальної, профілактичної медицини та стоматології". - Донецьк, 2003. - С. 153.
139. Сопель О.М. Вплив тіотриазоліну на зміни вмісту в крові і нирках оксиду азоту при отруєнні блідою поганкою // Вісник наук. дослідж. - 2004. - № 2 (35). - С. 25-26.
140. Сопель О.М. Вплив тіотриазоліну на процеси перекисного окислення ліпідів, білків та стан антиоксидантної системи в крові і нирках при амоніта- фаллоїдиновому отруєнні. // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту; серія "Медицина". - 2004. - Вип. 23. - С. 32-36.

141. 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.
142. Сопель О.М. Порушення процесів перекисного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації білків у нирках та крові при отруєнні блідою поганкою // Мед. хімія. - 2004. - Т. 6, № 2. - С. 77-80.
143. Сопель О.М. Характеристика нефротоксичного впливу аманіта-фаллоїдинового токсину // Клінічна та експериментальна патологія. - 2004. - Т. 3, № 2. – С. 448-449.
144. 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.
145. 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.
146. Среднемолекулярные пептиды спинномозговой жидкости при гнойных менингитах / В.О. Оськина, К.И. Чекалина, Н.И. Габриелян, В.В. Малив // Лаб. дело. - 1987. - № 2. - С. 23-25.
147. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современ. методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 66-68.
148. Стець О.В., Піняжко О.Р. Вплив тіотриазоліну на функцію нирок і показники ПОЛ при експериментальному нефролітазі // Фармакол. вісник. - 1998. - № 2. – С. 72- 73.
149. Сторожок С.А. Содержание гидроперекисей в липидах, активность супероксиддисмутазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы эритроцитов

- при алкогольної інтоксикації // Вопр. мед. химии. - 1995. - № 6. - С. 31-34.
150. Тефтьєва Н.Б., Мещишен І.Ф. Перекисне окиснення ліпідів та стан антиоксидантної системи крові щурів за умов токсичного гепатиту та дії настоянки перстачу прямостоячого // Мед. химия. - 2003. - Т. 5, № 4. - С. 75-78.
151. Тимочко М.Ф., Кобилінська Л.І. Вільнорадикальні реакції та їх метаболічна роль // Мед. химия. - 1999. - Т. 1, № 1. - С. 19-24.
152. Труніна Т.Л. Ендотоксикоз у патогенезі тяжких форм псоріазу та його корекція комплексною терапією із застосуванням Силарду П та фітозборів // Лікарська справа. – 1997. – № 2 . – С. 126 – 130.
153. Ткачук С.С. Стрес індуковані зміни окиснювальної модифікації білків в структурах мозку щурів // Бук. мед. вісник. - 1999. - Т. 3, №1. - С. 191-195.
154. Тогарбаєв А.А., Кургузкин А.В., Рикун Н.В. и др. Способ диагностики эндогенной интоксикации // Лаб. дело. - 1988. - Т. 4, № 9. - С. 22-25.
155. Топчий И.И. Роль оксида азота в регуляции функции почек при прогрессирующих гломерулопатиях // Укр. терапев.журн. - 2002. - Т.4, № 2. - С. 72 - 77.
156. Трибрат Т.А. Тіотриазоліно-ентеросорбентний комплекс у лікуванні ішемічної хвороби серця з супутнім хронічним гепатитом // Ліки. –1999. - № 1. - С. 45-47.
157. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих: Пер. с англ. - М.: Мир, 1975. - 324 с.
158. Фартушний А.Ф., Сухин А.П., Фартушная Е.А. Химико-токсикологические исследования при отравлении грибами // Суд.- мед. эксперт.- 2000. - №2. – С.21 – 24.
159. Фартушний А.Ф., Циганков В.О., Руських С.Л. та ін. Хіміко-токсикологічні дослідження при отруєнні блідою поганкою // Фармацевтичний журнал. – 1999. – С. 74- 76.

160. Фартушный А.Ф., Чеснокова Л.Н. Судебно-химическая диагностика отравлений грибами // Суд.-мед. экспертиза. - 1995. - № 4. - С. 21-24.
161. Федоровцев А.Л., Лопатин В.А. Применение метода эмиссионной спектрографии при диагностике смертельных отравлений бледной поганкой // Суд.-мед. экспертиза. - 1995. - № 2. - С. 50.
162. Хворостинка В.Н., Моисеенко Т.А. Антиоксиданты в экспериментальной и клинической гепатологии // Врач. дело. - 1994. - № 7. - С. 17- 22.
163. Циганенко О.І., Матасар І.Т., Григор`ева Л.І. Матеріали про грибні отруєння серед населення України. – Київ, 1997. – 100 с.
164. Чевари С., Чаба И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале // Лаб. дело. - 1985. - №11. - С. 678-681.
165. Чекман І., Горчакова Н., Олійник С. та ін. Динаміка перекисного окислення ліпідів в органах щурів при опроміненні та антиоксидантний ефект суфану // Галиц. лікар. вісник. - 2000.- Т. 7, № 2. - С. 85-88.
166. Чекман І.С. Метаболічні препарати в сучасній експериментальній та клінічній фармакології // Збірники наукових статей “Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики”. - Випуск 8 - 2002. - С. 11-17.
167. Шахман Е.В., Донченко Г.В., Даценко З.М. Активность супероксиддисмутазы в микросомах функционально различных тканей крыс при недостаточности витамина Е // Укр. биохим. журн. - 1995. - Т. 67, № 6. - С. 88- 92.
168. Шиманко И.И., Мусселиус С.Г., Милованов Ю.С. Активные методы лечения острых отравлений ядовитыми грибами // Советская медицина. - 1994. - № 1. - С. 96-99.
169. Шиманко И.И., Мусселиус С.Г., Рималис Б.Ц. Принципы и методы лечения острой печеночно-почечной недостаточной // Анест. и реаним. - 1998. - № 5. - С.10-14.

170. Шувалова Е.П., Антонова Т.В. Прогностическое значение функционального состояния и интенсивности липопероксидации мембран эритроцитов при вирусных гепатитах // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. - 1997. - Т. 7, № 2. - С. 46-50.
171. Шюк О. Функциональное исследование почек- Прага: Авиценум, 1981.- 344с.
172. Эффективные методы лечения острых отравлений / И.К. Деденко, А.В. Стариков, В.А. Литвинюк, В.Ф.Торбин / - К.: Нора- принт, 1997. - 336 с.
173. Ю.Є.Роговий, Є.С.Степанова, І.С.Давиденко та ін. Поліурична стадія гострої ниркової недостатності як прояв синдрому“no-reflow” // Бук. мед. вісник. - 2001. - Т.5, № 1. - С.179-183.
174. Юлдашева И.А., Арипова М.И. Роль оксида азота и процессов липопероксидации в формировании обструкции бронхов при бронхиальной астме // Клинич. лаб. диагностика. - 2003. - № 5. - С. 3-4.
175. Юлдашева И.А., Архипова М.И. Роль оксида азота и процессов липопероксидауии в формировании обструкции бронхов при бронхиальной астме // Клин. лаб. диагностика. - 2003. - № 5. - С. 3-6.
176. Юрченко Н.М. Ліпопероксидації при свинцево-стронцієвій інтоксикації та корекції фламідаром // Фізіол.журн. – 1998. – Т. 44, № 1-2. – С. 64-70.
177. Яковлева Л.М. Клініко-мофологічні зміни при отруєнні грибами // Практична медицина .- 1998. - № 3-4. – С. 103-106.
178. Яковлева Л.М. Отруєння блідою поганкою // Укр. медич. альманах. – 1999. – Т. 2, № 1. – 153-155.
179. Aji D.Y., Caliskan S., Nayir A. Haemoperfusion in Amanita phalloides poisoning // Trop Pediatr. – 1995. – Vol.41, № 6. – P. 371-374.
180. Alexandre B.T., Linas MT., Kruckeberg W.S., Granger J. P. L – arginine attenuates hypertension in pregnant rats with reduced uterine perfusion pressure // Hypertension .-2004.-Vol.43, №4.– P.832-836.

181. Alves A., Gouvêla Ferreira, Paulo M. et al. Mushroom poisoning with *Amanita phalloides* – a report of four cases // *European Journal of internal medicine*. – 2001. – Vol. 12, № 1. – P. 64-66.
182. Aslan M., Freeman B.A. Oxidant – mediated impairment of nitric oxide signaling in sickle cell disease – mechanisms and consequences // *Cell Mol. Boil.* – 2004. – Vol. 50, №1. – P. 95-105.
183. Attia D.M., Feron O., Goldschmeding R., et al. Hypercholesterolemia in rats induces podocyte stress and decreases renal cortical nitric oxide synthesis via an angiotensin II type 1 receptor-sensitive mechanism // *Nephrol.* – 2004. – Vol. 15, № 4. – P. 949 - 957.
184. Balls M., Clothier R.H. Comments on the scientific validation and regulatory acceptance of in vitro toxicity tests // *Toxicol. in vitro*. - 1994. – Vol. 5, № 5-6, - P. 535-538.
185. Bankir L., Kriz W., Goligorsky M. et al. Vascular contributions to pathogenesis of acute renal failure // *Ren. Fail.* – 1998. - Vol. 20. - P. 663.
186. Baran E.Ya., Nikulina G.G., Korol L.V. Relationship between peroxidation antioxidant disbalance and renal specific enzymemia in chronic renal failure // *Nephrology J.* 1997. – Vol. 3, № 1. – P. 380.
187. Baran E.Ya., Nikulina G.G., Korol L.V. The state of antioxidant system enzymes in terminal renal failure and after kidney allograft // *Abstract book XXIII Cong. of the European Renal Association Europ. Dialysis and Transplant. Assoc.* - Amsterdam. - 1996. - P. 103.
188. Basscatre J.V. Mechanism of ischemic acute renal failure // *Kidney Int.* – 1994. – Vol. 43, № 1. – P. 60-78.
189. Basscatre J.V. Mechanism of ischemic acute renal failure // *Kidney Int.*- 1993. - Vol. 43, № 1. - P. 60-78.
190. Bayorn M.A., Ganafa F.F., Soccs R.R., et al. The role of oxidative stress in salt-induced hypertension // *Am. J. Hypertens.*–2004.–Vol.17, № 1.– P.31-36.

191. Bazzani C., Arletti R., Bertolini A. alfa-Amanitin prevents the positive inotropic effect of cardiac glycosides in vitro // *J. Pharm. Pharmacol.* – 1994. – Vol.35, № 8. – P. 541-542.
192. Beer J. Der falsche Pilz. Diagnose und Therapie der Pilzvergiftungen, speziell der Knollenblätterpilzvergiftung // *Schweizerische Medizinische Wochenschrift. Journal Suisse de Medecine.* – 1994. – Vol.123, (17). – P. 892-905.
193. Bonnet MS, Basson PW. The toxicology of *Amanita phalloides* // *Homeopathy.* -2002 . – Vol.91, № 4. – P.249-254.
194. Brecht D.S. Endogenous nitric oxide synthesis // *Biological functions and pathophysiology // Free Radic. Res.* - 1999. - Vol. 31.- P. 577.
195. Brent J.A., Rumack B.H. Role of free radicals in toxic hepatic injury. I. Free radical biochemistry // *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* - 1995. – Vol. 31, № 1. - P. 139 -171.
196. Cattel V. Nitric oxide in glomerulonephritis // *Semin. Nephrol.* - 1999. -Vol. 19. - P. 277.
197. Cattel V., Cook M.T., Ebrahim et al. Anti-GBM glomerulonephritis in mice lacking nitric oxide synthase type 2 // *Kidney Int.* – 1998. - Vol. 53, № 4. - P. 932-936.
198. Chade A.R., Rodriguez-Porcel M., Herrmann J., et al. Antioxidant intervention blunts renal injury in experimental renovascular disease // *J Am. Soc. Nephrol.* – 2004. – Vol. 15, №4. – P. 958-966.
199. Crisal J.P., Vela C., Maggi M.F. et al. Oxidative stress in renal transplantation: is there a linkage with chronic rejection? // *Abstract book XXIII Cong. of the European Renal Assotiation Europ. Dialysis and Transplant. Assoc.* - Amsterdam. - 1996. - P. 182.
200. Croteau D.L., Bohr V.A. Repair of oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNA in mammalian cells // *J. Biol. Chem.* - 1997. - Vol. 41, № 20. - P. 25409-25412.

201. Datta P. K., Lianos E.A. Retinoic acid inhibits inducible nitric oxide synthase expression in mesangial cells // *Kidney Int.* – 1999. – Vol. 40. – P. 425-429.
202. Dean R.T., Nicholson P. The action of nine chelators on iron-dependent radical damage // *Free Radic. Res.* - 1994. – Vol. 20, № 2. - P. 83 - 101.
203. Eiselt I., Rasek I., Holecek V., Opatrny K. The long term effect of hemodialysis and acetate-free biofiltration on lipid peroxidation and the antioxidant system // Abstract book XXIII Cong. of the European Renal Association Europ. Dialysis and Transplant. Assoc. - Amsterdam. - 1996. - P.312.
204. Elman G.I. Tissue sulfhydryl groups // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – Vol. 83. – P.70-77.
205. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. - 1986. - № 123.– 52 p.
206. Eyer F, Felgenhauer N, Zilker T. The development of a toxic megacolon due to *Amanita phalloides* poisoning. // *Dtsch Med Wochenschr.*- 2004. – Vol. 129, № 4. – P. 137-40.
207. Feher J., Vereckei A., Lengyel G. Role of free-radical reactions in liver diseases // *Acta Physiol. Hung.* - 1994. – Vol. 80, № 1-4. - P. 351 - 361.
208. Feinfeld D., Mofenson H., Caraccio T., Kee M. Poisoning by amatoxin-containing mushrooms in suburban New York report of four cases // *Journal of Toxicology – Clinical Toxicology.* – 1994. – Vol. 32, № 6. – P. 715-721.
209. Fineschi V., Di Paolo M., Centini F. Histological criteria for diagnosis of *amanita phalloides* poisoning // *Forensic Sci.*- 1996. – Vol.41, № 3. – P. 429-432.
210. Friedman A., Brewe T., Feld L. et al. Nitric oxide: from molecular biology to clinical nephrology // *Pediatr. Nephrol.* - 1998. -Vol. 12, № 6. - P. 504-511.

211. Furusu A., Miyazaki M., Abe K. et al. Expression of endothelial and inducible nitric oxide synthase in human glomerulonephritis // *Kidney Int.* - 1998. -Vol. 53. - P.1760.
212. Gage FA., Vogovotz Y. Normalization of nitric oxide flux improves physiological parameters of porcine kidneys maintained on pulsatile perfusion // *Nitric Oxide.*—2003.—Vol.9, №3.— P.141-147.
213. Gijkeson G., Cannon C., Oates J. et al. Correlation of serum measures of nitric oxide production with lupus disease activity // *Rheumatol.* - 1999. -Vol. 26, № 2. - P. 318-384.
214. Goligorsky M.S., Noiri E. Duality of nitric oxide in acute renal injury // *Semin. Nephrol.* - 1999. - Vol. 19. - P. 263.
215. Gonmori K, Yoshioka N. The examination of mushroom poisonings at Akita University // *Leg Med (Tokyo).* 2003 Mar;5 Suppl 1:S83-6.
216. Goonasekera C.D.A., Dillon M.J. Vascular endothelium and nitric oxide in childhood hypertension // *Pediatr. Nephrol.* - 1998. -Vol. 12, № 8. - P. 676-689.
217. Goyer R. A. Toxic and essential metal interactions // *Annu Rev Nutr.* - 1997. - 17. - P. 37-50.
218. Green L.S, David A.W, Glogovski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N] nitrate in biological fluids // *Analit. Biochem.* – 1982. – Vol. 126, № 1. – P. 131- 138.
219. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence? // *Lancet.* - 1994. - Vol.344, № 8924. - P. 721-724.
220. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free radicals and antioxidant protection: mechanisms and significance in toxicology and disease // *Human. Toxicol.* - 1997. – Vol. 27, № 1. - P. 7 - 13.
221. Kang D.H., Yu E.S., Yoon K.I., Johnson R. The impact of gender on progression of renal disease: potential role of estrogen-mediated vascular

- endothelial growth factor regulation and vascular protection // *Am. J. Pathol.* – 2004. - Vol. 164, № 2. – P. 679-688.
222. Kaysen G.A., Eiserich J.P. The role of oxidative stress-altered lipoprotein structure and function and microinflammation on cardiovascular risk in patients with minor renal dysfunction // *J Am. Soc. Nephrol.* – 2004. – Vol. 15, № 3. – P.538-548.
223. Kielstein J.T., Impraïm B., Simmel S. et al. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans // *Circulation.* – 2004. – Vol. 109, № 2. – P.172-177.
224. Komarietseva I.O., Orlova O.A., Blahodarenko I.A. Level of nitric oxide in the kidneys during apoptosis activation // *Ukr. Biokhim. Zh.* – 2002. - Vol. 74, № 4. – P.116-117.
225. Kone B.C., Baylis C. Biosynthesis and homeostatic role of nitric oxide in the normal kidney // *Am. J. Physiol.* - 1997. - Vol. 272. - P. 561.
226. Lee Y., Yang J., Rudich S.M. et al.. Improved planar amperometric nitric oxide sensor based on platinumized platinum anode. 2. Direct real-time measurement of NO generated from porcine kidney slices in the presence of L-arginine, L-arginine polymers, and protamine // *Anal. Chem.* – 2004. – Vol. 76, № 3. – P.545-551.
227. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., Amidi A. Determination of carbonyl in oxidatively modified proteins // *Methods in Enzymol.* - 1990. - V. 186, №2. - P.464-485.
228. Liebertal W. Experimental models of acute renal failure: imperfect but indispensable // *Physiol.* - 2002. - Vol. 278, № 1. - P.1-12.
229. Lian M., Knox F.G. Nitric oxide enhances paracellular permeability of opossum kidney // *Kidney Int.* - 1999. - Vol. 55, № 6. - P. 2215-2223.
230. Logadottir Y.R., Ehren I., Fall M. et al. Intravesical nitric oxide production discriminates between classic and nonulcer cystitis // *Urol.* – 2004. – Vol. 171, № 4. – P.832-836.

231. Majid DS, Nishiyama A, Jackson KE, Castillo A. Inhibition of nitric oxide synthase enhances superoxide activity in canine kidney // *Am. J Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*– 2004. – Vol. 5, № 1. – P. 85-91.
232. Mannaioni P.F., Di-Bello M. , Raspanti S. et al. Activation of xenobiotics into free radicals by prostaglandin-H-synthase and by rat liver microsomes // *Adv. Prostaglandin. Thromboxane. Leukot. Res.* - 1995. – Vol. 23, № 4. - P. 215 - 217.
233. Mikos B., Biro E. Amanita phalloides poisoning in a 15-year case load of a pediatric intensive care unit. // *Orvosi Hetilap.* – 1994. – Vol. 134, № 17. – P. 907-910.
234. Montanini S., Sinardi D., Pratico C. et al. Use of acetylcysteine as the life-saving antidote in Amanita phalloides (death cap) poisoning // *Arzneimittelforschung.* – 1999. – Vol. 49, №12. – P. 1044-1047.
235. Nagy I., Pogatsa-Murray G., Zalanyi S. et al. Amanita poisoning during the second trimester of pregnancy. A case report and a review of the literature // *Clinical Investigator.* – 1994. – Vol. 72, № 10. – P. 794-798.
236. Oxidant stress leads to impaired regulation of renal cortical oxygen consumption by nitric oxide in the aging kidney / S.Adler, H. Huang, M.S. Wolin, P.M.Kaminski // *J. Am. Soc. Nephrol.*–2004.-Vol.15, №1.– P.52-60.
237. Papa S., Skulachev V. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging // *Molec. Cell. Biochem.* - 1997. – Vol 4. - P. 305-319.
238. Partland J.M., Vilgalys R.J., Cubeta M.A. Mushroom poisoning // *Am Fam Physician.* – 1997. – Vol. 55, № 5. – P. 1797-1800.
239. Peresleni T., Noiri E., Baiion W.F., Goligursky M.S. Antisense oligodeoxynucleolides to inducible NO synthase rescue epithelial cells from oxidative stress injury // *Am. J. Physiol.* - 1999. - Vol. 270.- P.971-977.
240. Rao J., Jagadeesan V. Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in iron deficiency and effect of carcinogen feeding // *Free Radic Biol Med.* - 1996. - Vol 21, № 1. - P. 103-108.

241. Renal failure caused by mushroom poisoning /A.M. Leathem, R.A. Pursell, V.R. Chan , P.D. Kroeger / *Toxicol Clin Toxicol.* – 1997. – Vol.35, № 1. P.67-75.
242. Ronson R.S., Nacamura M., Vinten-Johansen J. The cardiovascular effects and implications of peroxynitrite // *Cardiovasc. Res.* - 1999. - Vol. 44. - P.47.
243. Sabeel I., Kurkus J., Lindholm T. Intensive hemodialysis and hemoperfusion treatment of Amanita mushroom poisoning // *Mycopathologia.* – 1995. – Vol.131, № 2.- P. 107-114.
244. Sandhir R., Gill K.D. Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats // *Biol. Trace. Elem. Res.* - 1995. – Vol. 48, № 1. - P. 91 - 97.
245. Saura M., Lopes S., Rodrigues Puyol M. et al. // *Kidney Intern.* - 1995. - Vol. 47, № 2. – P.500.
246. Schiodt F., Ott P., Bondesen S. Poisoning by green and white mushrooms at a special hepatology unit, 1989-1994 // *Ugeskrift for Laeger.* – 1995. – Vol. 157, № 31.- P. 4350-4354.
247. Sen S., Karban G., Erol H. et al. Beneficial effect of short and long term erythropoietin on radical Ometabolites and antioxidants in hemodialysis patients // *Abstract book XXIII Cong. of the European Renal Assotiation Europ. Dialysis and Transplant. Assoc.* - Amsterdam. - 1996. - P.362.
248. Shi Y., He J., Chen S. et al. MARS: optimistic therapy method in fulminant hepatic failure secondary to cytotoxic mushroom poisoning-a case report // *Liver.*- 2002.- Vol. 22, № 2.– P.78-80.
249. Sierralta A., Jeria M., Figueroa G. et al. Mushroom poisoning in the IX region. Role of Amanita gemmated. // *Revista Medica de Chile.* – 1994. – Vol.122, № 7.- P. 795-802.
250. Solhaug M.j., Ballvre L.d., Guignard J.P. et al. Nitric oxide in the developing kidney // *Pediatr. Nephrol.* - 1996. -Vol. 10, № 4. - P. 529-539.
251. Tokuyama H., Hayashi K., Matsuda H. et al. Role of nitric oxide and prostaglandin E2 in acute renal hypoperfusion // *Nephrology.* – 2003. – Vol.8, №2. – P.65-71.

252. Uhlenius N., Tikkanen I., Tikkanen T. et al. Chronic inhibition of nitric oxide synthase in Heymann nephritic // *Nephron*. - 1996. -Vol. 74. - P. 144-149.
253. Vetter Janos. Toxins of *Amanita phalloides* // *Toxicon*.-1998.- Vol. 36, № 1. – C. 13-24.
254. Waddington S., Cook M.T., Reaveley D. et. al. L-arginine depletion inhibits glomerular nitric oxide synthesis and exacerbates rat nephrotoxic nephritis // *Kidney Int*. - 1996. - Vol. 49. - P. 1090-1096.
255. Wang J.S., Tseng H.H., Shih D.F. et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and apoptosis in human lupus nephritis // *Nephron*. - 1997. -Vol. 77, № 4. - P. 404-411.
256. Warden C.R., Benjamin D.R. Acute renal failure associated with suspected *Amanita smithiana* mushroom ingestions: a case series // *Acad Emerg Med*. – 1998. – Vol.5, № 8. - P. 808-812.
257. Wieland T. The Toxic peptide from *Amanita* mushrooms // *Intern. Journal of Peptide and Protein Research*. – 1983.- Vol. 22.- P. 257-276.
258. Wieland H., Hallermayer R. Uber die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes. VI Amanitin, das Hauptgift des Knollenblätterpilzes // *Liebig`s Ann. Chem*. – 1941. – Vol. 548. – P. 1-18.
259. Zwolinska D., Grzeszak W., Polak-Jonkisz D. et al. Vitamin C in children with chronic renal failure // *Abstract book XXIII Cong. of the European Renal Assotiation Europ. Dialysis and Transplant. Assoc.* – Amsterdam, 1996. - P.181.