

# КОРЕКЦІЯ ТІОЛОВОГО СТАТУСУ В КРОВІ ТА ТКАНИНАХ НИРОК ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ГОСТРОГО ПІЕЛОНЕФРИТУ ТА СУПУТНЬОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ II ТИПУ

*С.О. Борисов, Ф.І. Костєв, О.В. Борисов*

*Одеський національний медичний університет*

**Вступ.** Сучасні літературні дані про оксидантно-антиоксидантний стан в організмі хворих на піелонефрит та супутній цукровий діабет (ЦД) досить суперечливі. Незважаючи на певні зрушення в дослідженні патогенезу згаданих патологічних станів, чимало не вирішених питань щодо підвищення ефективності комплексного лікування гострого піелонефриту при супутньому цукровому діабеті [1–7]. Відомо, що цукровий діабет сприяє розвитку гіпоксичного стану в тканинах нирок, що, в свою чергу, викликає деякі метаболічні порушення в їх клітинних структурах [8].

Доведено, що при гіперглікемії через активізацію процесів аутоокислення глюкози збільшується рівень вільних радикалів та знижується вміст НАДФН, сприяючи виснаженню вмісту відновленої форми глутатіону в тканинах. У свою чергу, гіперінсулінемія опосередковано через збільшення продукції вільних радикалів сприяє зниженню тіолового потенціалу в організмі [8, 9].

Виходячи з вищевикладеного подальше вивчення можливостей корекції препаратами багатовекторної дії тіолового статусу в крові та тканинах нирок щурів при експериментальному гострому піелонефриті (ГП) та супутньому стрептозотоциновому (ЦД) II типу уявляється важливою задачею сучасної урологічної науки.

**Мета роботи:** дослідження ефективності корекції тіолового статусу в крові та тканинах нирок щурів при ГП та супутньому стрептозотоциновому ЦД II типу.

**Матеріали і методи дослідження.** Експериментальні дослідження проводилися на щурах лінії Вістар, вагою 200–300 г віком 8–9 міс. Експеримент був здійснений відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», які схвалені 3-м Національним конгресом (Київ, 2007) і відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших цілей» (Страсбург, 1986).

Тварини були розділені на 5 груп: до першої групи входили контрольні щури – 30 тварин (норма), до другої – тварини з ГП (35 щурів), до третьої – тварини з ЦД II типу та ГП без медикаментозного впливу (50 щурів), до четвертої – тварини з ЦД II типу і ГП при традиційному медикаментозному впливі (ТМВ) (50 щурів), до п'ятої – тварини з ЦД II типу ГП при запропонованому медикаментозному впливі (ЗМВ) (50 щурів).

Цукровий діабет II типу викликали шляхом інтраперитоніальної ін'єкції стрептозотоцином в 10 мМ цитратному буфері (рН 4,5) двократно в дозі 35 мг на 1 кг. (Байрашева В.К., 2015). При моделюванні стрептозотоцинового ЦД II типу, тварини отримували висококалорійну жирову їжу. Інсулін вводився діабетичним тваринам з метою запобігання смертності та зниження ваги за умов підтримки гіперглікемії.

У тварин з підтвердженим цукровим діабетом моделювали гострий піелонефрит (Авер'янова Н.К., 2008). Щурам одноразово ректально вводили ізолят *Escherichia coli* (ступінь бактеріурії в 1 мл  $10^7$  КОЕ), отриманий з сечі пацієнта з клінічною картиною гострого піелонефриту. На другу добу тварини підлягали холодовому стресу при температурі  $0+2$  °С протягом 2 годин. Спосіб забезпечує отримання моделі, яка максимально наближена до перебігу гострого піелонефриту в клінічних умовах.

При ТМВ у групі тварин з ЦД та ГП застосовували внутрішньом'язово антибіотик «Гепациф» в дозі 30 мг на кг ваги тварини 2 рази на добу протягом 14 днів після моделювання гострого піелонефриту.

При ЗМВ, тварини групи із ЦД та ГП, крім антибіотика «Гепациф» у дозі 30 мг на кг ваги тварини 2 рази на добу, отримували *per os* метаболізмкоригуючий енерготропний препарат – кислота рибонуклеїнова «Нуклекс» з розрахунку на кг ваги по 7 мг 3 рази на добу та внутрішньом'язово препарат – інгібітор вільнорадикальних процесів, мембранопротектор,

(2-етил-6-метил-3-гідроксіпірідін сукцинат) «Армадин» 1,5 мг на кг ваги 3 рази на добу протягом 14 днів після моделювання ГП.

Через 14 діб після моделювання шурів виводили з експерименту з попередньою анестезією тіопенталом натрію (50 мг препарату на кг ваги).

У крові та тканині нирок спектрофотометрично визначали вміст відновленого та окисленого глутатіону [10].

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми Statistica 5.5.

**Результати та їх обговорення.** При вивченні вмісту відновленого глутатіону в крові та тканинах нирок при моделюванні ГП у шурів встановлено, що вміст відновленого глутатіону в досліджуваних тканинах вірогідно знижувався на 24,8% і 20,6% відповідно по відношенню до норми (табл. 1).

При експериментальному ГП на тлі ЦД II типу виявлено більш виражене зниження рівня

відновленого глутатіону на 40,0% у крові і на 34,9% у тканині нирок відносно норми ( $p < 0,05$ ) та на 20,2% і 18% відповідно по відношенню до показників тварин, у яких моделювали ГП ( $p < 0,05$ ).

Суттєве зниження рівня відновленого глутатіону в крові та нирках шурів з ГП та з ГП на тлі супутнього ЦД II типу пов'язано з інтенсифікацією вільно-радикальних процесів та накопиченням продуктів перекисного окислення ліпідів, зниженням продукції відновленої форми НАДФ, яка необхідна для регенерації глутатіону як при запальному процесі, так і при діабеті. Зазначені патохімічні зміни виснажують антиоксидантну та детоксикаційну системи організму, особливо при прогресуванні перебігу запального процесу в нирках.

При ТМВ щодо тварин з ГП та супутнім ЦД II типу спостерігалась лише тенденція до підвищення рівня відновленого глутатіону на 17,5% у крові і на 16,6% у нирках порівняно з тваринами, які не отримували МВ. Порівнюючи

Таблиця 1

Вміст відновленого глутатіону в крові та тканині нирки шурів з гострим пієлонефритом в умовах супутнього цукрового діабету II типу та при медикаментозному впливі

Досліджувані тканини	Статистичні показники	Умови експерименту				
		норма	ГП	діабет II типу+ГП		
				без МВ	традиційне МВ	ЗМВ
Кров(мкмоль/л)	n	30	35	37	37	43
	M	875,23	658,17	525,14	617,04	747,45
	m	60,40	42,13	32,16	35,26	40,30
	p	—	<0,01	<0,001	<0,001	>0,05
	%	100,0	75,2	60,0	70,5	85,4
	p <sub>1</sub>	—	—	<0,05	>0,05	>0,05
	% <sub>1</sub>	—	100,0	79,8	93,8	113,6
	p <sub>2</sub>	—	—	—	>0,05	<0,001
	% <sub>2</sub>	—	—	100,0	117,5	142,3
	p <sub>3</sub>	—	—	—	—	<0,05
% <sub>3</sub>	—	—	—	100,0	121,1	
Нирки(мкмоль/г)	n	30	35	37	37	43
	M	5,45	4,33	3,55	4,14	4,95
	m	0,34	0,28	0,22	0,25	0,27
	p	—	<0,05	<0,001	<0,01	>0,05
	%	100,0	79,4	65,1	76,0	90,8
	p <sub>1</sub>	—	—	<0,05	>0,05	>0,05
	% <sub>1</sub>	—	100,0	82,0	95,6	114,3
	p <sub>2</sub>	—	—	—	>0,05	<0,001
	% <sub>2</sub>	—	—	100,0	116,6	139,4
	p <sub>3</sub>	—	—	—	—	<0,05
% <sub>3</sub>	—	—	—	100,0	119,6	

Примітки: p – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до норми; p<sub>1</sub> – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «ГП»; p<sub>2</sub> – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «без МВ»; p<sub>3</sub> – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «ТМВ».

з контрольною групою тварин (норма), слід зазначити, що рівень відновленого глутатіону залишався вірогідно зниженим в крові (на 29,5%) і в тканині нирок (на 24,0%).

При застосуванні препаратів багатовекторної дії рівень відновленого глутатіону вірогідно підвищувався в крові на 21,1% і нирках на 19,6% по відношенню до групи з традиційним лікуванням, та на 42,3% і на 39,4% відповідно, у порівнянні з групою тварин без МВ. При цьому, рівень відновленого глутатіону в крові і нирках тварин з ГП та супутнім ЦД II типу при ЗМВ не відрізнявся від норми ( $p > 0,05$ ).

Нами також встановлено підвищення рівня окисленого глутатіону в тканинах у тварин з ГП в крові на 26,8% і в нирках на 22,4% ( $p < 0,05$ ), а при ГП на тлі супутнього ЦД II типу в крові на 51,5% і в нирках на 44,9% ( $p < 0,001$ ) відносно норми (табл. 2).

Рівень окисленого глутатіону в крові та нирках тварин з ГП та при стрептозотоциновою

му ЦД II типу був підвищений на 19,5% і на 18,3% відповідно по відношенню до групи тварин з ГП ( $p < 0,05$ ).

При ТМВ тварин з ГП та супутнім ЦД II типу рівень окисленої форми глутатіону залишався вірогідно підвищеним відносно норми: у крові на 34,5% і в нирках на 31,6% ( $p < 0,01$ ). По відношенню до інших груп позитивні зміни вмісту окисленого глутатіону в крові, і в нирках однак не мали вірогідного характеру.

Слід зауважити, що застосування препаратів багатовекторної метаболічної дії при ГП з супутнім ЦД II типу сприяло поліпшенню тіолового статусу в крові та нирках, при цьому рівень окисленого глутатіону вірогідно не відрізнявся від показників норми. Слід зазначити, суттєве зниження вмісту окисленого глутатіону на 28,6% в крові і на 26,8% в нирках, порівнюючи з відповідними показниками в групі тварин без МВ ( $p < 0,01$ ), та на 19,5% в крові і на 19,4% в нирках відносно даних групи тварин з ТМВ.

Таблиця 2

Вміст окисленого глутатіону в крові та тканині нирки щурів з гострим пієлонефритом в умовах супутнього цукрового діабету II типу та при медикаментозному впливі

Досліджувані тканини	Статистичні показники	Умови експерименту				
		норма	ГП	діабет II типу+ГП		
				без МВ	традиційне МВ	ЗМВ
Кров(мкмоль/л)	n	30	35	44	45	48
	M	208,12	263,89	315,36	279,90	225,19
	m	15,20	18,54	16,02	18,24	16,07
	p	—	<0,05	<0,001	<0,01	>0,05
	%	100,0	126,8	151,5	134,5	108,20
	p <sub>1</sub>	—	—	<0,05	>0,05	>0,05
	% <sub>1</sub>	—	100,0	119,5	106,1	85,3
	p <sub>2</sub>	—	—	—	>0,05	<0,01
	% <sub>2</sub>	—	—	100,0	88,8	71,4
	p <sub>3</sub>	—	—	—	—	<0,05
% <sub>3</sub>	—	—	—	100,0	80,5	
Нирки(мкмоль/г)	n	30	35	44	45	48
	M	0,98	1,20	1,42	1,29	1,04
	m	0,06	0,08	0,07	0,08	0,06
	p	—	<0,05	<0,001	<0,01	>0,05
	%	100,0	122,4	144,9	131,6	106,1
	p <sub>1</sub>	—	—	<0,05	>0,05	>0,05
	% <sub>1</sub>	—	100,0	118,3	107,5	86,7
	p <sub>2</sub>	—	—	—	>0,05	<0,001
	% <sub>2</sub>	—	—	100,0	90,8	73,2
	p <sub>3</sub>	—	—	—	—	<0,05
% <sub>3</sub>	—	—	—	100,0	80,6	

Примітки: p – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до норми; p<sub>1</sub> – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «ГП»; p<sub>2</sub> – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «без МВ»; p<sub>3</sub> – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «ТМВ».

Розраховане співвідношення відновленої форми глутатіону до її окисленої форми в крові та тканині нирки щурів з ГП знижувалось в 1,7 та в 1,5 рази відповідно по відношенню до норми (табл. 3).

При ГП на тлі супутнього ЦД II типу це співвідношення зменшилось у крові та нирках у 2,5 та у 2,2 рази відповідно до норми. ТМВ сприяв підвищенню співвідношення відновленої форми глутатіону до її окисленої форми в крові, і в

Таблиця 3

Співвідношення відновленої форми глутатіону до її окисленої форми в крові та тканині нирки щурів з гострим піелонефритом в умовах супутнього цукрового діабету II типу та при медикаментозному впливі

Досліджувані тканини	Умови експерименту				
	норма	ГП	діабет II типу+ГП		
			без МВ	традиційне МВ	ЗМВ
Кров	4,21	2,49	1,67	2,20	3,32
Нирки	5,56	3,61	2,50	3,21	4,76

тканині нирки щурів з ГП та ЦД. Найбільш позитивні зміни тіолового статусу у досліджуваних тканинах відзначалися при застосуванні препаратів багатовекторної дії – підвищення майже в 2 рази по відношенню до групи тварин без лікування.

Беручи до уваги вищевикладене, нами встановлена патогенетично вагома роль супутнього стрептозотоцинового ЦД II типу в суттєвому порушенні тіолового статусу в плазмі крові та тканинах нирок тварин з ГП, у яких відзначалось зниження рівня важливого компонента антиоксидантної та детоксикаційної системи організму – відновленого глутатіону.

Важливу роль у механізмі порушення тіолового статусу в крові і тканинах нирок щурів при моделюванні запального процесу в нирках в умовах супутнього ЦД II типу відіграє розвиток оксидативного та карбонільного стресу, а також зниження процесів синтезу та регенерації глутатіону в організмі експериментальних тварин.

Препарати багатовекторної дії сприяли нормалізації тіолового статусу в тканинах тварин з ГП та з супутнім ЦД II типу за рахунок підвищення рівня відновленої форми глутатіону та зниження вмісту його окисленої форми в крові і в тканинах нирки тварин.

Зазначені позитивні зміни тіолового статусу в досліджуваних тканинах при гострому піелонефриті на тлі супутнього цукрового діабету II типу ймовірно сприятимуть поліпшенню детоксикаційної функції, та функціональних властивостей ультраструктурних елементів ниркової тканини.

#### Висновки

1. Виявлено, що при гострому піелонефриті в крові та нирках щурів суттєво знижується

рівень відновленого глутатіону на 24,8% і 20,6% та підвищується рівень окисленої форми на 26,8% і 22,4% відповідно по відношенню до норми.

2. Встановлено, що при моделюванні гострого піелонефриту та цукрового діабету II типу у щурів рівень відновленого глутатіону вірогідно знижувався в крові на 20,2% і в тканині нирок на 18,0%, а окисленого глутатіону підвищувався в крові на 19,5% і тканині нирок на 18,3% порівняно з відповідними показниками групи з гострим піелонефритом.

3. Виявлено, що при гострому піелонефриті суттєво порушується тіоловий статус в крові та нирках тварин на 41,0% та 35,1% відповідно по відношенню до норми. Наявність супутнього цукрового діабету II типу при гострому піелонефриті сприяла подальшому зниженню цього показника в крові на 32,9% та нирках щурів на 30,7%, порівнюючи з групою тільки з гострим піелонефритом.

4. Застосування препаратів багатовекторної дії при моделюванні гострого піелонефриту з супутнім цукровим діабетом II типу викликало вірогідне підвищення рівня відновленого глутатіону в крові і нирках на 21,1% і 19,6% та зниження окисленої форми на 19,5% і 19,4% відповідно по відношенню до групи з традиційним медикаментозним впливом.

5. Виявлене відновлення тіолового статусу в крові та в нирках у щурів при гострому піелонефриті та супутньому цукровому діабеті II типу завдяки застосуванню препаратів багатовекторної дії ймовірно сприятиме нормалізації функціональної спроможності нирок. Встановлена патогенетично вагома роль супутнього цукрового діабету II типу в суттєвому порушенні тіолового статусу в плазмі крові та тканинах

нирок тварин з гострим пієлонефритом, у яких відзначалось зниження рівня важливого компо-

нента антиоксидантної та детоксикаційної системи – відновленого глутатіону.

## Список літератури

1. Ефремова Е.Д., Ботвинева Л.А. Сахарный диабет: современные достижения и перспективные направления в профилактике и лечении. *Материалы Всерос. науч. -практич. конф., посвященной 60-летию ФГБУ СКФНКИЦ ФМБА России.* – Пятигорск: РИА-КМВ, 2017. – С. 77–86.
2. Omer Evirgen, Ahmet Guçke, Oktay Hasan Ozturk et al. *Effect of Thymoquinone on Oxidative Stress in Escherichia coli – Induced Pyelonephritis in Rats // Current Therapeutic Research.* – 2011. – V. 72, N 5. – P. 204–215.
3. Emin Ozbek. *Induction of Oxidative Stress in Kidney // International Journal of Nephrology.* – 2012, Article ID 465897, 9 pages. doi:10.1155/2012/465897.
4. Nasri H. *Antioxidant therapy to ameliorate chronic kidney disease induced by oxidative stress; an updated mini-review. J. Prev. Epidemiol.* 2017; 2(1): e04.
5. Drachuk V. M., Zamorskii I. I., Goroshko O. M. *The influence of glutathione on the prooxidant-antioxidant activity in kidneys and blood of rats with rhabdomyolytic model of acute kidney injury // Укр. біофарм. журн.* 2016;4(45);20–123.
6. Franco R. , Cidowski J. A. *Apoptosis and Glutathione: Beyond an Antioxidant // Cell Death and Differentiation.* – 2009. – V. 16. – P. 1303–1314.
7. Derai El-hadjela, Kechrid Zine, Bouhafis Leila. *The beneficial effect of combined administration of vitamins C and E on renal function and selected parameters of antioxidant system in diabetic rats fed zinc-deficient diet // Afr. J. Biotechnol.* – 2013. – Vol. 12(43). – P. 6240–6232.
8. Yumi Takiyama, Masakazu Haneda. *Hypoxia in Diabetic Kidneys // BioMed Research International.* – 2014. –Article ID 837421, 10 pages. doi:10.1155/2014/837421.
9. Bergmeyer H.U. *Methoden der enzymatischen Analyse / H.U. Bergmeyer.* – Berlin: Akademie-Verlag, 1970. – 2220 p.

## Реферат

КОРРЕКЦИЯ ТИОЛОВОГО СТАТУСА В КРОВИ И ТКАНЯХ ПОЧЕК КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОГО ПИЕЛОНЕФРИТА И СОПУТСТВУЮЩЕГО САХАРНОГО ДИАБЕТА II ТИПА

С.А. Борисов, Ф.И. Костев,  
А.В. Борисов

Проведенное исследование является экспериментально-клиническим, проведено на лабораторных крысах и посвящено определенной эффективности коррекции тиолового статуса в крови и тканях почек крыс при остром пиелонефрите и сопутствующем стрептозотоциновом сахарном диабете II типа. Применение препаратов многовекторного действия при моделировании острого пиелонефрита с сопутствующим сахарным диабетом II типа вызвало достоверно повышение уровня восстановленного глутатиона в крови и почках и снижение окисленной по отношению к группе с традиционным медикаментозным воздействием.

Обнаруженное восстановление тиолового статуса в крови и почках крыс при указанной

## Summary

CORRECTION OF THIOL STATUS IN BLOOD AND TISSUES OF KIDNEY OF RATS IN THE DESIGN OF ACUTE PYELONEPHRITIS AND CONCOMITANT DIABETES MELLITUS TYPE II

S.A. Borisov, F.I. Kostyev,  
A.V. Borisov

The conducted research is experimental-clinical, conducted in laboratory rats and is devoted to the determination of the effectiveness of correction of thiol status in blood and tissues of kidney of rats in acute pyelonephritis and concomitant streptozotocin-type diabetes mellitus type II.

The use of multi-vector drugs in the modeling of acute pyelonephritis with concomitant type 2 diabetes caused a likely increase in the level of reduced glutathione in the blood and kidneys and decreased oxidized in relation to the group with the traditional medication effect. Recovery of thiol status in blood and kidneys of rats in this pathology due to the use of multi-vector drugs will help to normalize the functional capacity of the kidneys. The pathogenetically important role of

патологии благодаря применению препаратов многовекторного действия будет способствовать нормализации функциональной способности почек. Установлена патогенетически весомая роль сопутствующего сахарного диабета II типа в существенном нарушении тиолового статуса в плазме крови и тканях почек животных с острым пиелонефритом, в которых отмечалось снижение уровня важного компонента антиоксидантной и детоксикационной системы – восстановленного глутатиона.

**Ключевые слова:** острый пиелонефрит, тиоловый статус, оксидативный стресс, сахарный диабет, течение, медикаментозная коррекция, детоксикация.

#### **Адреса для листування**

С.О. Борисов

E-mail: borisov-urol@ukr.net

Ф.І. Костев

E-mail: prof.Kostev@gmail.com

О.В. Борисов

E-mail: borisovurol@gmail.com

concomitant type 2 diabetes mellitus in a significant violation of the thiol status in blood plasma and kidney tissues of animals with acute pyelonephritis was established, which showed a decrease in the level of an important component of the antioxidant and detoxification system - reduced glutathione.

**Keywords:** acute pyelonephritis, thiol status, oxidative stress, diabetes mellitus, flow, medication correction, detoxification.