

ПАТОГЕНЕТИЧНА РОЛЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ N-АЦЕТИЛ- β -D-ГЛЮКОЗАМІНІДАЗИ У МОНІТОРИНГУ ФАРМАКОКОРЕКЦІЇ ПРИ ГОСТРОМУ ПІЕЛОНЕФРИТІ, УСКЛАДНЕНОМУ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

С.О. Борисов

Одеський національний медичний університет

Вступ. Беручи до уваги безперечну актуальність вивчення проблеми співдружного перебігу гострого піелонефриту (ГП) та цукрового діабету (ЦД), які обумовлюють загрозу незворотного розвитку діабетичної нефропатії (ДН), уявляється важливим подальше дослідження активності лізосомального фермента N-ацетил- β -D-глюкозамінідази – раннього маркера пошкодження ниркових ультраструктур у плазмі крові та тканині нирки за умов медикаментозного впливу в експерименті [1,2].

У сучасній літературі спостерігається деяка розбіжність поглядів на роль N-ацетил- β -D-глюкозамінідази сироватки крові у хворих на цукровий діабет [3, 4–10]. Так, у наукових дослідженнях встановлено виразне підвищення в сироватці крові N-ацетил- β -D-глюкозамінідази при ЦД [7, 8]. Однією з причин активації цього ферменту при цукровому діабеті може бути накопичення в судинах глікозаміногліканів та глікокон'югатів, в деградації яких N-ацетил- β -D-глюкозамінідаза бере участь [11, 12]. Проте в деяких роботах повідомляється, що підвищена активність N-ацетил- β -D-глюкозамінідази та її ізоформ у крові може бути зумовлена дією патогенних чинників, а також білково-синтетичними змінами за умов гіперглікемії і може бути лише обмежено використана для контролю розвитку ускладнень при ЦД [9].

Мета дослідження: дослідити вплив порушення мембранних структур лізосом нирок на перебіг ГП при супутньому цукровому діабеті на підставі вивчення активності фермента N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в плазмі крові, тканині нирок та сечі при медикаментозному впливі за умов експеримента.

Матеріали та методи дослідження. Експериментальні дослідження проводились на 122 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 розподілені на 8 груп: контрольна група – норма (n=14), тварини з гострим піелонефритом (ГП) (n=18), дві групи тварин з ГП та ЦД I типу (n=15) та II типу (n=16), дві групи тварин з ГП та ЦД I типу (n=16) та II типу (n=14) з етіотропним медикаментозним впливом (ЕМВ), дві групи тварин з ГП та ЦД I типу (n=14) та II типу (n=15) з етіопатогенетичним медикаментозним впливом (ЕПМВ). Воду та їжу протягом всього експерименту тварини отримували *ad libitum*.

Діабет II типу викликали шляхом інтраперітоніальної ін'єкції стрептозотоцином в 10 мМ цитратному буфері (рН 4,5) дворазово в дозі 35 мг на 1 кг протягом тижня, а діабет I типу одноразовою дозою 55 мг на 1 кг ваги (Байрашева В.К., 2015). При моделюванні стрептозотоцинового діабету II типу тварини отримували висококалорійну жирну їжу. Загальний стан тварин оцінювали кожного дня, а рівень глюкози в плазмі крові тварин контролювали через добу протягом експерименту та реєстрували помірну гіперглікемію, появу надлишкової ваги, дисліпідемію та альбумінурію. Модель ЦД I типу характеризувалася вираженою гіперглікемією >30 ммоль/л. Інсулін вводився діабетичним тваринам з метою запобігання смертності та зниження ваги за умови тільки критичної гіперглікемії. Гострий піелонефрит моделювали за методикою Авер'янової 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. Експериментальна мо-

дель ГП максимально наближена до протікання гострого пієлонефриту в клінічних умовах.

Починаючи з 10-ї доби (період стабільної гіперглікемії) у тварин, моделювали гострий пієлонефрит за вище наведеною методикою. Через 4 доби після початку моделювання ГП в умовах підвищеного рівня лейкоцитів в периферичній крові тварин застосовували ЕМВ та ЕПМВ.

При ЕМВ в групах тварин з діабетом I та II типу при ГП застосовували внутрішньом'язово антибіотик «Гепациф» у дозі 60 мг/кг ваги тварини на добу протягом 14 днів після моделювання ГП.

При ЕПМВ у групах тварин при ГП на тлі цукрового діабету I та II типу, крім внутрішньом'язового введення антибіотика «Гепациф» в дозі 60 мг/кг ваги тварини на добу, отримували метаболізмкоригуючі лікарські засоби: перорально препарат «Нуклекс» (кислота рибонуклеїнова) з розрахунку по 21 мг/кг на добу та внутрішньом'язово препарат «Армадин» (інгібітор вільнорадикальних процесів та мембранопротектор 2-етил-6-метил-3-гідроксіпірідін-сукцинат) 4,5 мг/кг ваги на добу протягом 14 днів після моделювання гострого пієлонефриту.

Через 28 діб після початку моделювання, щурів виводили з експерименту в стані глибокого наркозу з попередньою анестезією тіопенталом натрію (50 мг препарату на кг ваги). У плазмі крові, в лізосомах тканини нирок та сечі

щурів визначали активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази. Кров з хвостової вени щурів збирали в пробірки з антикоагулянтном-гепарином. Центрифугували при 2500 об/хв. протягом 20 хв. при 4 °С. В надосадовій рідині-плазмі крові визначали активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази.

Зразки ранкової сечі щурів були зібрані до пробірок Епендорфа після спонтанного сечовиділення під час легкого масажу задніх кінцівок. Після чого її центрифугували при 900 об/хв. протягом 10 хв. при 4 °С. У надосадовій рідині визначали активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази.

Для отримання лізосом з гомогенату тканини нирок використовували диференціальне центрифугування, тобто на кожному етапі центрифугування збільшували центробіжне прискорення, відокремлюючи отриманий осад ядер, мітохондрій від надосадової рідини. Осад лізосом отримували останнім, центрифугуючи надосадову рідину при 16 300 г протягом 20 хв. [13].

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми Statistica.

Результати та їх обговорення. Нами встановлено, що у щурів з ГП підвищувалась активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в плазмі крові на 39,5% (p<0,01) по відношенню до норми (табл. 1,2).

При моделюванні ГП на тлі супутнього цукрового діабету I типу, у щурів без МВ (табл. 1) виявлена активація N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в плазмі крові на 94,2% відповід-

Таблиця 1

Активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в плазмі крові щурів з гострим пієлонефритом в умовах супутнього цукрового діабету I типу та медикаментозному впливі (нкат/л)

Статистичні показники	Умови експерименту				
	Норма	ГП	ГП +Діабет I типу		
			Без МВ	ЕМВ	ЕПМВ
n	14	18	15	16	14
M	427,42	596,25	830,06	725,76	565,48
m	28,37	39,06	73,12	57,34	34,70
p	—	<0,01	<0,001	<0,001	<0,01
%	100,0	139,5	194,2	169,8	132,3
p ₁	—	—	<0,05	>0,05	>0,05
% ₁	—	100,0	139,2	121,7	94,8
p ₂	—	—	—	>0,05	<0,01
% ₂	—	—	100,0	87,4	68,1
p ₃	—	—	—	—	<0,01
% ₃	—	—	—	100,0	77,9

Примітки: p – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до норми; p₁ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «ГП»; p₂ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «без МВ»; p₃ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи тварин з ЕМВ.

Активність N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в плазмі крові шурів з гострим пієлонефритом в умовах супутнього цукрового діабету II типу та медикаментозному впливі (нкат/л)

Статистичні показники	Умови експерименту				
	Норма	ГП	ГП + Діабет II типу		
			Без МВ	ЕМВ	ЕПМВ
n	14	18	16	14	15
M	427,42	596,25	767,65	653,10	521,18
m	28,37	39,06	62,43	48,92	31,68
p	—	<0,01	<0,001	<0,001	<0,05
%	100,0	139,5	179,60	152,8	121,9
p ₁	—	—	<0,05	>0,05	>0,05
% ₁	—	100,0	128,7	109,5	87,4
p ₂	—	—	—	>0,05	<0,01
% ₂	—	—	100,0	85,1	67,9
p ₃	—	—	—	—	<0,05
% ₃	—	—	—	100,0	79,8

Примітки: p – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до норми; p₁ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «ГП»; p₂ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «без МВ»; p₃ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи тварин з ЕМВ.

но до норми (p<0,001) та на 39,2% по відношенню до групи з ГП (p<0,05).

Слід зауважити, що в плазмі крові шурів з ГП при цукровому діабеті II типу, активність N-ацетил- β -D-глюкозамінідази була нижчою: по відношенню до норми – зросла на 79,6% (p<0,001), а по відношенню до групи тварин з ГП – на 28,7% (p<0,05) (табл. 2).

При дослідженні лізосомальної N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в тканині нирок шурів з ГП було встановлено зниження активності цього ферменту на 22,4% (p<0,01) порівняно з нормою (табл. 3, 4). У групах тварин з ГП при супутньому цукровому діабеті I та II типу без МВ, активність N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в лізосомах нирок становила 54,9% та 60,4% відпо-

Таблиця 3

Активність лізосомальної N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в нирках шурів з гострим пієлонефритом в умовах супутнього цукрового діабету I типу та медикаментозному впливі (нкат/г)

Статистичні показники	Умови експерименту				
	Норма	ГП	ГП + Діабет I типу		
			Без МВ	ЕМВ	ЕПМВ
n	14	18	15	16	14
M	126,62	98,25	69,48	75,87	91,56
m	7,18	5,38	5,13	4,64	5,82
p	—	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001
%	100,0	77,6	54,9	59,9	72,3
p ₁	—	—	<0,01	<0,05	>0,05
% ₁	—	100,0	70,7	77,2	93,2
p ₂	—	—	—	>0,05	<0,05
% ₂	—	—	100,0	109,2	131,8
p ₃	—	—	—	—	<0,05
% ₃	—	—	—	100,0	120,7

Примітки: p – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до норми; p₁ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «ГП»; p₂ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «без МВ»; p₃ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи тварин з ЕМВ.

Активність лізосомальної N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в нирках щурів з гострим піелонефритом в умовах супутнього цукрового діабету II типу та медикаментозному впливі (нкат/г)

Статистичні показники	Умови експерименту				
	Норма	ГП	ГП +Діабет II типу		
			Без МВ	ЕМВ	ЕПМВ
n	14	18	16	14	15
M	126,62	98,25	76,48	85,06	102,82
m	7,18	5,38	4,72	5,16	6,08
p	—	<0,01	<0,001	<0,001	<0,05
%	100,0	77,6	60,4	67,2	81,2
p ₁	—	—	<0,05	>0,05	>0,05
% ₁	—	100,0	77,8	86,6	104,7
p ₂	—	—	—	>0,05	<0,01
% ₂	—	—	100,0	111,2	134,4
p ₃	—	—	—	—	<0,05
% ₃	—	—	—	100,0	120,9

Примітки: p – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до норми; p₁ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «ГП»; p₂ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «без МВ»; p₃ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи тварин з ЕМВ.

відно до норми (p<0,001), а порівняно з даними групи тварин з ГП – 70,7% (p<0,01) та 77,8% (p<0,05) відповідно.

При дослідженні N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в сечі щурів з гострим піелонефритом встановлено значне підвищення її активності на 118,7% (p<0,001) по відношенню до норми (табл. 5, 6).

При моделюванні цукрового діабету I типу у щурів з ГП виявлено більш значне зростання активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в сечі на 228,4% відповідно до норми (p<0,001), а по відношенню до групи тварин з ГП її активність становила 150,2% (p<0,001).

При застосуванні ЕМВ у тварин з ГП та супутнім цукровим діабетом I типу активність

Таблиця 5

Активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в сечі щурів з гострим піелонефритом в умовах супутнього цукрового діабету I типу та медикаментозному впливі (нкат/л)

Статистичні показники	Умови експерименту				
	Норма	ГП	ГП +Діабет I типу		
			Без МВ	ЕМВ	ЕПМВ
n	14	18	15	16	14
M	82,13	179,62	269,70	225,14	147,02
m	7,40	13,04	20,13	17,30	11,45
p	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01
%	100,0	218,7	328,4	274,1	179,0
p ₁	—	—	<0,001	<0,05	<0,05
% ₁	—	100,0	150,2	125,3	81,9
p ₂	—	—	—	>0,05	<0,001
% ₂	—	—	100,0	83,5	54,5
p ₃	—	—	—	—	<0,05
% ₃	—	—	—	100,0	65,3

Примітки: p – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до норми; p₁ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «ГП»; p₂ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «без МВ»; p₃ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи тварин з ЕМВ.

Активність N-ацетил- β -D-глюкозамінідази
в сечі щурів з гострим пієлонефритом в умовах супутнього
цукрового діабету II типу та медикаментозному впливі (нкат/л)

Статистичні показники	Умови експерименту				
	Норма	ГП	ГП + Діабет II типу		
			Без МВ	ЕМВ	ЕПМВ
n	14	18	16	14	15
M	82,13	179,62	244,85	207,32	122,78
m	7,40	13,04	18,32	14,48	9,32
p	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01
%	100,0	218,7	298,1	252,4	149,4
p ₁	—	—	<0,001	>0,05	<0,01
% ₁	—	100,0	136,3	115,4	68,4
p ₂	—	—	—	>0,05	<0,001
% ₂	—	—	100,0	84,7	50,1
p ₃	—	—	—	—	<0,001
% ₃	—	—	—	100,0	59,2

Примітки: p – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до норми; p₁ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «ГП»; p₂ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи «без МВ»; p₃ – рівень вірогідності різниці даних по відношенню до групи тварин з ЕМВ.

N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в сечі була суттєво підвищена по відношенню до норми (274,1%, p<0,001) та до групи тварин з ГП (125,3%, p<0,05). При цьому відповідно до даних групи тварин з супутнім стрептозоточиновим цукровим діабетом I типу при ГП (без медикаментозного впливу), виявлена лише тенденція до зниження активності N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в сечі.

Застосування ЕПМВ у групі тварин з супутнім стрептозоточиновим цукровим діабетом I типу при ГП викликало вірогідне зниження активності N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в сечі до 179,0% відповідно до норми та до 81,9% по відношенню до групи тварин з ГП. При цьому активність N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в сечі при ЕПМВ становила 54,5% порівняно з групою тварин без МВ та 65,3% відносно групи щурів з ЕМВ (p<0,05).

При моделюванні стрептозоточинового цукрового діабету II типу при ГП зміни активності N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в сечі щурів були дещо меншими. Так, активність цього ферменту в сечі щурів цієї групи була підвищена на 198,1% відповідно до норми (p<0,001) та на 36,3% (p<0,001) порівняно з групою тварин, у яких моделювали тільки ГП.

При застосуванні ЕМВ активність N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в сечі щурів вірогідно не відрізнялась від відповідних даних групи тварин з ГП при супутньому цукровому діабеті II типу та лише з ГП, а по

відношенню до норми була вірогідно підвищена на 152,4%.

При застосуванні ЕПМВ, незважаючи на те, що активність N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в сечі щурів з ГП при супутньому цукровому діабеті II типу була вірогідно підвищена по відношенню до норми (149,4%), у порівнянні з даними групи тварин без МВ вона суттєво знижувалась до 50,1%, а відносно групи щурів, які отримували ЕМВ активність виявилась вірогідно зниженою до 59,2%.

Таким чином, виявлено, що супутній цукровий діабет I типу при ГП сприяє більшому пошкодженню мембран лізосом клітин тканини, що викликало зниження активності лізосомальної N-ацетил- β -D-глюкозамінідази нирок за рахунок вивільнення ферменту з цих субклітинних органел та підвищення активності в плазмі крові та особливо в сечі.

Нами встановлено, що порушення цілісності мембранних структур лізосом нирок при ГП на тлі супутнього ЦД сприяло подальшому пошкодженню клітин тубулярного епітелію проксимальних каналців нефрону, та одночасно, лізосомальна N-ацетил- β -D-глюкозамінідаза, яка вивільнюється, бере участь у процесах біодеградації глікозаміногліканів та глікокон'югатів, які накопичуються в судинах за умови гіперглікемії.

Застосування ЕМВ у тварин з ГП при супутньому ЦД обумовлювало лише тенденцію до зниження активності N-ацетил- β -D-глюкозамі-

нідази в плазмі крові, та підвищення активності цього ферменту в лізосомах тканини нирок при порівнянні з відповідними даними групи щурів без МВ (табл. 1–4). При цьому, активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в плазмі крові тварин з ГП при ЦД I типу була підвищена на 69,8% ($p < 0,001$) та на 52,8% ($p < 0,001$) при ЦД II типу, а активність лізосомальної N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в тканинах нирок була знижена на 40,1% ($p < 0,001$) при ГП на тлі ЦД I типу та на 32,8% ($p < 0,001$) при ГП на тлі ЦД II типу по відношенню до норми.

Встановлено, що застосування ЕПМВ в групі тварин з ГП при супутньому стрептозотоциновому ЦД I та II типу сприяло подальшому зниженню активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в плазмі крові та підвищенню активності цього ферменту в лізосомах тканини нирок (табл. 1–4). Так, активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в плазмі крові тварин з ГП була знижена 22,1% ($p < 0,01$) при ГП на тлі ЦД I типу та на 20,2% ($p < 0,05$) при ГП на тлі ЦД II типу по відношенню до групи щурів, які отримували ЕМВ. Активність лізосомальної N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в тканинах нирок була підвищена на 20,7% ($p < 0,05$) при ГП на тлі ЦД I типу та на 20,9% ($p < 0,05$) при ГП на тлі ЦД II типу відносно тварин з ЕМВ.

Нами встановлена вірогідна різниця активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в групі тварин з ГП при супутньому стрептозотоциновому ЦД з ЕПМВ при порівнянні з відповідними даними щурів без МВ: активність ферменту в плазмі крові тварин з ГП була знижена на 31,9% ($p < 0,01$) при ЦД I типу та на 30,9% ($p < 0,01$) при ЦД II типу, активність в лізосомах тканини нирок була підвищена на 31,8% ($p < 0,05$) при ЦД I типу та на 34,4% ($p < 0,01$) при ЦД II типу.

Таким чином, на підставі отриманих даних можна стверджувати про наявність доказового позитивного впливу застосування ЕПМВ у щурів з ГП та ЦД на стабілізацію лізосомальних мембран нирок, незважаючи на наявність вірогідної різниці отриманих даних порівняно з нормою: збереження підвищення активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в плазмі крові на 32,3% ($p < 0,01$) при ГП, ускладненому ЦД I типу та на 21,9% ($p < 0,05$) при ГП на тлі ЦД II типу, а також зниження активності цього ферменту в лізосомах тканини нирок 27,7% ($p < 0,001$) при ГП на тлі ЦД I типу та на 18,8% ($p < 0,05$) при ГП на тлі ЦД II типу.

Таким чином, зважаючи на зміни активності лізосомального ферменту N-ацетил-β-D-

глюкозамінідази, як маркера пошкодження клітин тубулярного епітелію проксимальних канальців нефрону, у щурів з ГП на тлі супутнього цукрового діабету, слід вважати, що застосування ЕПМВ уявляється експериментально обґрунтованим та ефективним щодо корекції метаболічних порушень та відновлення функціональної здатності гломерулярного та канальцевого апарату нирок за умов співдружного перебігу ГП та ЦД, особливо при II його типі.

Слід вважати, що зазначені позитивні ефекти застосування ЕПМВ обумовлені ефективною протимікробною дією, та вираженими антигіпоксичними, антиоксидантними та мембранопротекторними властивостями застосованих метаболізмкоригуючих лікарських засобів, що обумовлює процес стабілізації мембранних структур клітин ниркової тканини [14–17].

З огляду на сукупність отриманих даних уявляється можливим характеризувати вплив супутніх ГП та ЦД I типу на активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в тканинах нирки, плазмі крові та у сечі тварин, що пов'язано із дестабілізацією мембранних структур епітелію проксимальних канальців, яке більш альтераційне у порівнянні із впливом супутнього цукрового діабету II типу. Одночасно слід підкреслити, що відновлення ферментативної активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази та цілісності згаданих мембранних ультраструктур під впливом етіотропно-патогенетичного медикаментозного впливу при супутньому цукровому діабеті II типу відбувається більш повною мірою.

Отримані результати свідчать про значну мембранопротекторну дію, антиоксидантну та антигіпоксичну ефективність ЕПМВ, що обґрунтовує доцільність подальшого його дослідження та застосування.

Висновки

1. При експериментальному гострому пієлонефриті виявлено зниження активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази у лізосомах нирок на 22,4% та підвищення активності ферменту в плазмі крові на 39,5%, по відношенню до норми, що свідчить про порушення цілісності лізосомальних мембран клітин, та створює негативний вплив на функціональні властивості нирок.

2. Встановлено патогенетичну роль супутнього цукрового діабету за умов експерименту у розвитку ниркових ускладнень при гострому пієлонефриті: при діабеті I та II типів активність N-ацетил-β-D-глюкозамінідази знижувалась у лізосомах нирок на 45,1% та на 39,6%, а в плазмі крові підвищувалась на 94,2% та на 79,6% відповідно по відношенню до норми. При порівнянні

з відповідними показниками групи тварин з гострим пієлонефритом активність ферменту в лізосомах нирок становила 70,7% при I типі та 77,8% при II типі діабету, а в плазмі крові відповідно 139,2% та 128,7%, що свідчить про суттєве пошкодження лізосомальних мембранних структур клітин проксимальних канальців нирок.

3. При моделюванні гострого пієлонефриту в сечі щурів виявлено підвищення активності N-ацетил- β -D-глюкозамінідази на 118,7% по відношенню до норми, а при супутньому цукровому діабеті активність ферменту істотно зросла при діабеті I типу на 228,4% по відношенню до норми і на 50,2% відносно групи тварин з гострим пієлонефритом і меншою мірою при пієлонефриті, ускладненому діабетом II типу – на 198,1% та 36,3% відповідно, що проявляється у вираженій ферментуурії.

4. Застосування етіотропно-патогенетичного медикаментозного впливу при ГП та супутньому цукровому діабеті суттєво підвищувало активність N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в лізосомах тканин нирок на 31,8% при діабеті I типу та на 34,4% при діабеті II типу по відношенню до показників групи тварин без медикаментозного впливу. При порівнянні з відповідними показниками групи тварин що піддавалися етіотропному медикаментозному впливу, виявлено позитивний ефект етіотропно-патогенетичного медикаментозного втручання на активність N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в тканині нирок – підвищення на 20,7% при супутньому діабеті I типу та на 20,9% при діабеті II типу, і в плазмі крові зниження на 22,1% при

супутньому діабеті I типу та на 20,2% при діабеті II типу, що обумовлено ефективною протизапальною дією та вираженими антигіпоксичними, антиоксидантними та мембранопротекторними властивостями застосованих метаболізмкоригуючих лікарських засобів.

5. Встановлено, що застосування етіопатогенетичного медикаментозного впливу, сприяло зменшенню ферментуурії при гострому пієлонефриті, ускладненому супутнім цукровим діабетом: активність N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в сечі при супутньому діабеті I та II типів знижувалась на 45,5% та на 49,9% відповідно, по відношенню до групи тварин без медикаментозного впливу та на 34,7% і 40,8% відповідно до групи тварин, що отримували етіотропний медикаментозний вплив.

6. Виявлений виражений позитивний вплив етіопатогенетичного втручання на активність N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в лізосомах ниркової тканини, плазми крові та сечі у щурів з відтвореним гострим пієлонефритом та супутнім цукровим діабетом I та II типів зумовлений антиоксидантною, мембраностабілізуючою, протизапальною дією застосованих лікарських засобів, що довели ефективний нефропротективний вплив, який реалізується шляхом нормалізації метаболічних процесів у нирковій тканині та відновлення цілісності мембранних структур епітелію проксимальних канальців нефрона – експериментальним підтвердженням доцільності запропонованого нами медикаментозного впливу при досліджуваному патологічному стані.

Список літератури

1. Mohkam M. et al. Urinary N-Acetyl-Beta-D-Glucosaminidase as a Diagnostic in Acute Pyelonephritis. *Iranian Journal of Kidney Diseases*. 2008. Vol. 2, No. 1. P. 24–28.
2. Skalova S. The Diagnostic Role of Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) Activity in the Detection of Renal Tubular Impairment. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2005. Vol. 48, No. 2. P. 75–80.
3. Люлько О.В., Люлько О.О., Бачурін Г.В., Павлюк С.О. Особливості перебігу, діагностики і лікування гострого пієлонефриту у хворих на цукровий діабет. *Урологія*. 2004. № 4. С. 15–23.
4. Ткаченко Е.И. Питание, эндоэкология человека, здоровье, болезни. Современный взгляд на проблему их взаимосвязей. *Терапевтический архив*. 2004. № 2. С. 67–71.
5. Михальчук Л.М., Єфімов А.С. Діабетична нефропатія: погляд на проблему. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2009. № 3(21). С. 75–81.
6. Маніщенкова Ю.О., Шкала Л.В. Метаболічні порушення у хворих на цукровий діабет 2-го типу та загострення хронічного пієлонефриту. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. 2010. Т. 4, № 33. С. 18–22.
7. Skrha J., Hilgertova J. Relationship of serum N-acetyl-beta-glucosaminidase activity to oxidative stress in diabetes mellitus. *Clin. Chim. Acta*. 1999. Vol. 282, No. 1–2. P. 167–174.
8. Mandic L., Filipovic D. Changes of isoenzymes of serum N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in relation to different types of diabetes. *Int. Biochem. Mol. Biol.* 1998. Vol. 45, No. 3. P. 545–554.

9. Jovanovic V.B., Dimitrijevic-Sreckovic V.S., Mandic L.M. Serum N-Acetyl-beta-D-Glucosaminidase Profiles in Type 1 Diabetes Secondary Complications: Causes of Changes and Significance of Determination. *J. of Clinical Laboratory Analysis*. 2008. Vol. 22. P. 307–313.
10. Takumi T., Kodama S., Takahashi T., Matsuo T. N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in serum, kidney and liver of streptozotocin-induced diabetic rat. *Enzyme*. 1985. Vol. 34, No. 3. P. 166–173.
11. Weitgasser R., Schnoell F., Gappmayer B., Kartnig I. Prospective evaluation of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase with respect to macrovascular disease in elderly type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 1999. Vol. 22. P. 1882–1886.
12. Komosinska-Vassev K., Olczyk K., Kozma E.M. et al. Alterations of glycosaminoglycan metabolism in the development of diabetic complications in relation to metabolic control. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2005. Vol. 43. P. 924–929.
13. Лавренова Т.П. Определение активности ферментов мочи при поражениях почек. *Лабораторное дело*. 1986. № 7. С. 430–432.
14. Воронина Т.А. Мексидол. Отечественный препарат нового поколения, основные эффекты, механизм действия, применение. *Журн. неврологии и психиатрии*. 2003. № 5. С. 34–38.
15. Лукьянова Л.Д., Германова Є.Л., Чернобаева Г.Н., Цыбина Т.А. Энерготропное действие сукцинат-содержащих производных 3 оксипиридина. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2009. № 10. С. 388–392.
16. Левченкова О.С., Новиков В.Е., Пожилова Е.В. Фармакодинамика и клиническое применение антигипоксантов. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2012. Т. 10, № 3. С. 3–12.
17. Горошко О.А., Кукес В.Г., Прокофьев А.Б. и др. Клинико-фармакологические аспекты применения антиоксидантных лекарственных средств. *Международ. журн. прикладных и фундаментальных исследований*. 2016. № 4–5. С. 905–912.

References

1. Mohkam, M., et al. (2008). Urinary N-Acetyl-Beta-D-Glucosaminidase as a Diagnostic in Acute Pyelonephritis. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 2, 1, 24–28.
2. Skalova, S. (2005). The Diagnostic Role of Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) Activity in the Detection of Renal Tubular Impairment. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 48, 2, 75–80.
3. Skrha, J., & Hilgertova, J. (1999). Relationship of serum N-acetyl-beta-glucosaminidase activity to oxidative stress in diabetes mellitus. *Clin. Chim. Acta.*, 282, 1–2, 167–174.
4. Mandic, L., Filipovic, D. (1998). Changes of isoenzymes of serum N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in relation to different types of diabetes. *Int. Biochem. Mol. Biol.*, 45, 3, 545–554.
5. Jovanovic, V.B., Dimitrijevic-Sreckovic, V.S., & Mandic, L.M. (2008). Serum N-Acetyl-beta-D-Glucosaminidase Profiles in Type 1 Diabetes Secondary Complications: Causes of Changes and Significance of Determination. *J. of Clinical Laboratory Analysis*, 22, 307–313.
6. Takumi, T., Kodama, S., Takahashi, T., & Matsuo, T. (1985). N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in serum, kidney and liver of streptozotocin-induced diabetic rat. *Enzyme*, 34, 3, 166–173.
7. Weitgasser, R., Schnoell, F., Gappmayer, B., & Kartnig, I. (1999). Prospective evaluation of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase with respect to macrovascular disease in elderly type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 22, 1882–1886.
8. Komosinska-Vassev, K., Olczyk, K., Kozma, E.M., et al. (2005). Alterations of glycosaminoglycan metabolism in the development of diabetic complications in relation to metabolic control. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 43, 924–929.

Реферат

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ N-АЦЕТИЛ-β-D-ГЛЮКОЗАМИНИДАЗЫ В МОНИТОРИНГЕ ФАРМАКОКОРРЕКЦИИ ПРИ ОСТРОМ ПИЕЛОНЕФРИТЕ, ОСЛОЖНЕННОМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

С.А. Борисов

Инфекционно-воспалительные заболевания такие как острый пиелонефрит и сопутствующий сахарный диабет у 50,0% больных СД приводит к рецидивирующей инфекции почек с постепенным развитием тяжелых морфологических изменений, как признаки высокой вероятности развития диабетической нефропатии (ДН), проявляющихся в 15,0% упомянутой группы больных. Именно ДН, которой страдает около трети взрослых лиц с СД, чаще всего приводит к ХПН, сопровождается существенными сердечно-сосудистыми осложнениями и смертностью. Целью исследования было определение эффективности патогенетически ориентированного медикаментозного воздействия на течение острого пиелонефрита и сопутствующего сахарного диабета в эксперименте, на основании изучения изменений активности фермента N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы лизосомах ткани почки, сыворотке крови и в моче крыс. Определено, что активность изучаемого лизосомального фермента канальцев, в моче крыс с ОП при сопутствующем сахарном диабете II типа была достоверно повышена по отношению к норме (151,8%), по сравнению с данными группы животных без медикаментозного воздействия она существенно снижалась до 51,3%, а относительно группы крыс, получавших ЭМВ активность оказалась достоверно сниженной до 61,5%. Таким образом, несмотря на изменения активности лизосомального фермента N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы, как маркера повреждения клеток тубулярного эпителия проксимальных канальцев нефрона, у крыс с ОП на фоне сопутствующего сахарного диабета, следует считать, что применение ЕПМВ представляется экспериментально обоснованным для коррекции метаболических нарушений и восстановления функциональной способности гломерулярного и канальцевого аппарата почек в условиях сопутствующего течения ОП и СД.

Применение этиопатогенетического медикаментозного воздействия, способствовало раз-

Summary

PATHOGENIC ROLE OF N-ACETYL-β-D-GLUCOSAMINIDASE ACTIVITY IN MONITORING PHARMACO-CORRECTION IN ACUTE PYELONEPHRITIS COMPLICATED BY DIABETES MELLITUS IN EXPERIMENT

S.O. Borisov

Infection-inflammatory diseases such as acute pyelonephritis and concomitant diabetes mellitus in 50.0% of patients with diabetes leads to recurrent kidney infection with the gradual development of severe morphological changes, as signs of a high probability of developing diabetic nephropathy (DN), manifested in 15.0% of the said group sick. Namely, DN, which affects about a third of adults with diabetes, most often leads to chronic renal failure, is accompanied by significant cardiovascular complications and mortality. The aim of the study was to determine the effectiveness of pathogenetically oriented drug exposure on the course of acute pyelonephritis and concomitant diabetes mellitus in an experiment, based on a study of changes in the activity of the enzyme N-acetyl-β-D-glucosaminidase in rat's kidney, blood and urine. It was determined that the activity of the studied tubular lysosomal enzyme in the urine of rats with OP with concomitant type II diabetes mellitus was significantly increased relative to the norm (151.8%), compared to the data of the group of animals without drug exposure, it significantly decreased to 51.3 %, and relative to the group of rats receiving EMV activity was significantly reduced to 61.5%. Thus, despite changes in the activity of the lysosomal enzyme N-acetyl-β-D-glucosaminidase, as a marker of damage to the cells of the tubular epithelium of the proximal tubule of the nephron, in rats with OP on the background of concomitant diabetes mellitus, it should be considered that the use of EPMB seems experimentally justified for correction metabolic disorders and restoration of the functional ability of the glomerular and tubular apparatus of the kidneys in conditions of concomitant course of OP and diabetes.

The use of etiopathogenetic drug exposure contributed to the development of a pronounced tendency to normalize the activity of N-acetyl-β-D-glucosaminidase in kidney tissue, blood and urine in acute pyelonephritis complicated by concomitant type I and type II diabetes mellitus, which is experimental confirmation of the effectiveness of the drug exposure we proposed for the studied pathological conditions.

виту вираженої тенденції к нормалізації активності N-ацетил- β -D-глюкозамінідази в лизомах печочної ткани, сыворотки крові і моче при остром піелонефриті, ускладненому супутнім сахарним діабетом I і II типів, являється експериментальним підтвердженням ефективності пропонуваного нами медикаментозного впливу при досліджуваних патологічних станах.

Ключеві слова: гострий піелонефрит, сахарний діабет, лизосомальні ферментопатія, метаболічні порушення, медикаментозне вплив.

Адреса для листування

С.О. Борисов

E-mail: borisov-urol@ukr.net

Keywords: acute pyelonephritis, diabetes mellitus, lysosomal fermentopathy, metabolic disturbances, drug exposure.

Надійшла 30.09.2020.
Акцептована 09.11.2020.