

УДК: 616.61-002.3:616.153.915.  
©Ш.К.Шорахмедов

**ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ИНТЕНСИВНОСТИ ПЕРЕКИСНОГО  
ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ  
ФЕРМЕНТОВ ПРИ ПИЕЛОНЕФРИТЕ И ВОЗМОЖНОСТЬ ПЕРЕНОСА  
ЭТИХ ИЗМЕНЕНИЙ ЛИМФОИДНЫМИ КЛЕТКАМИ**

**Ш.К.Шорахмедов**

Второй Ташкентский Государственный медицинский институт  
700109, Республика Узбекистан, Ташкент, ул. Фароби, 2; факс: (+99871) 1339306.  
эл.почта: tashmi2@online.ru

Введение крысам-реципиентам лимфоидных клеток крыс-доноров с острым пиелонефритом изменяет интенсивность процессов ПОЛ и активность АОФ сопоставимо с изменениями этих параметров при пиелонефрите. В крови крыс-реципиентов интенсифицируются процессы ПОЛ, на фоне существенного угнетения активности СОД и менее выраженного - каталазы. Выявленные изменения в определенной мере характерны и для экспериментального пиелонефрита, вызванного патогенными штаммами *E.coli*. Высказано предположение о возможности аллогенного переноса неспецифической информации о метаболических сдвигах лимфоидными клетками.

**Ключевые слова:** пиелонефрит, лимфоидные клетки, перекисное окисление липидов, супероксиддисмутаза, каталаза.

**ВВЕДЕНИЕ.** Пиелонефрит - неспецифический воспалительный процесс, в который вовлекаются не только чашечно-лоханочный сегмент, но и, главным образом, паренхима почек с преимущественным поражением её интерстициальной части. В его развитии приоритетное значение имеют патогенные свойства микроорганизмов и нарушение урогемодинамики [1,2]. Наряду с нарушениями структурной и функциональной целостности верхних мочевых путей для пиелонефрита характерен ряд патологических процессов, затрагивающих иммунную систему, клеточные мембраны, ткани не только почек, но и других органов [3-5].

В последние годы появляются все новые сведения о роли лимфоидных клеток в хронизации процесса и развитии аутоиммунных реакций [6]. Известно, что помимо непосредственного участия в иммунных процессах, лимфоидные клетки выполняют различные функции в процессах жизнедеятельности организма. Проведено достаточно много исследований, посвященных способности лимфоидных клеток влиять на регенераторные процессы, их регуляторной роли в процессах гемопоэза [7-10]. Получены результаты, позволяющие полагать, что при развитии некоторых форм соматической патологии лимфоидные клетки сохраняют своеобразную память о патологическом процессе. Известно, например что лимфоидные клетки способны переносить признаки аноксического и иммобилизационного стресса [11], а также паркинсонического синдрома [12] интактным реципиентам.

Цель настоящего исследования - изучение возможности переноса информации о нарушениях в системе антиоксидантных ферментов (АОФ) и реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ), характерных для пиелонефрита, путем введения интактным животным взвеси лимфоидных клеток от доноров с экспериментальным острым пиелонефритом.

**МЕТОДИКА.** Эксперименты выполнены на 160 белых беспородных половозрелых крысах-самцах с массой тела 180-220 г, содержащихся на обычном лабораторном рационе. Проведены 2 серии экспериментов. В первой серии у 38 крыс острый пиелонефрит воспроизводили пережатием левого мочеточника в верхней трети и введением в чашечно-лоханочный сегмент взвеси кишечной палочки в дозе 500 микробных тел в 1 мкл. В этой серии экспериментов контролем служили 36 ложнооперированных животных.

Известно, что у млекопитающих среди иммунных органов по процентному содержанию лимфоцитов лимфатические узлы занимают второе место после тимуса. Содержание лимфоцитов составляет 90-95%: В-лимфоцитов 35-40%, Т-лимфоцитов 55-65% [13,14]. Поэтому во второй серии эксперимента у 10 крыс аналогичным образом моделировали пиелонефрит, на 7 сутки их декапитировали, извлекали брыжеечные лимфатические узлы. В асептических условиях лимфатические узлы отделяли от жировой ткани и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе со слабо притертым пестиком. Полученный гомогенат суспензировали, пропускали через капроновый фильтр. Взвесь клеток лимфатических узлов дважды отмывали в среде 199. Число жизнеспособных клеток в полученных суспензиях определяли методом окраски 0,1%-ным раствором трипановой сини и использовали при наличии в них не менее 95% жизнеспособных клеток. 38 крысам реципиентам взвесь лимфоидных клеток вводили внутривенно в боковую вену хвоста в дозе  $5 \cdot 10^6$  в 0,5 мл (число клеток подсчитывали в камере Горяева). Животным контрольной группы (38 крыс) вводили соответствующую дозу клеток лимфатических узлов интактных крыс.

Исследования проводили через 1, 3, 7, 14, 21 и 30 суток после воспроизведения модели пиелонефрита в первой, и после введения адаптированных лимфоидных клеток во второй серии экспериментов.

Оценка перекисного метаболизма базировалась на спектрофотометрическом определении малонового диальдегида (МДА) и активности ферментов антиоксидантной защиты - супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы. Содержание МДА в сыворотке крови определяли по его взаимодействию с тиобарбитуровой кислотой [15]. Измерения проводили при длине волны 532 нм против контроля. Расчет содержания продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, проводили с учетом молярной экстинкции МДА, равной  $1,56 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ . Активность СОД определяли по проценту восстановления синего нитротетразолия в ксантин [16]. Принцип метода основан на способности фермента СОД тормозить реакцию восстановления нитротетразолия синего в щелочной среде. Активность каталазы определяли по способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкое желтое окрашивание [17]. Интенсивность окрашивания измеряли при длине волны 410 нм. Активность фермента рассчитывали по разнице абсорбции между холостой и опытной пробой с использованием коэффициента молярной экстинкции  $22,2 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ . Белок определяли микробиуретовым методом. Цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** У животных с экспериментальным пиелонефритом содержание МДА в плазме через 1 и 3 сутки эксперимента практически не отличается от показателей интактной и контрольной групп (табл.1). Активность же АОФ плазмы претерпевает некоторые изменения: активность СОД плазмы снижается на 27,9 и 19,7% соответственно от контроля, изменение активности каталазы было менее выраженным. Более поздние стадии эксперимента характеризовались некоторым увеличением содержания МДА в плазме. Так, уровень МДА на 7 сутки эксперимента достоверно превышал

#### ПОЛ ПРИ ПИЕЛОНЕФРИТЕ

значения контроля в плазме на 44,6%. Такая направленность изменений сохранялась на протяжении всего эксперимента. Определенная динамика изменений была характерна и для активности СОД. Начиная с 7 суток эксперимента и на протяжении всего периода исследований, активность этого фермента в плазме остается достоверно ниже значений контроля и интактных животных. Так активность СОД была ниже значений контроля на 51,9, 36,7, 46,8 и 37,5% соответственно на 7, 14, 21 и 30 сутки эксперимента. Изменения активности каталазы были выражены лишь на 7 сутки, когда у экспериментальных животных активность ее была ниже значений контроля на 31,9%.

Результаты наших исследований в определенной мере согласуются с данными авторов, выявивших увеличение продуктов ПОЛ в крови и моче, а также

Таблица 1. Содержание МДА и активность ферментов антиоксидантной защиты крови у животных с экспериментальным пиелонефритом

Срок исследования, сутки	Содержание МДА, нмоль/мл	Активность ферментов	
		СОД, усл.ед/ мин/мг белка	каталаза, мкмоль $H_2O_2$ мин/мг белка
интактные	5,853±0,284	8,661±0,518	0,179±0,022
1	6,017±0,316	7,536±0,569 <sup>a</sup>	0,200±0,027
	5,594±0,401	10,452±0,731 <sup>b</sup>	0,249±0,024 <sup>b</sup>
3	5,477±0,680	7,846±0,663	0,177±0,019
	5,085±0,44	9,920±0,817	0,194±0,031
7	9,319±0,523 <sup>a, b</sup>	3,614±0,293 <sup>a, b</sup>	0,141±0,009 <sup>a, b</sup>
	6,446±0,375	7,515±0,486	0,207±0,020
14	8,207±0,641 <sup>a, b</sup>	5,023±0,743 <sup>a, b</sup>	0,167±0,023
	6,079±0,494	7,936±0,691	0,185±0,016
21	8,618±0,532 <sup>a, b</sup>	5,706±0,592 <sup>a, b</sup>	0,170±0,019
	6,188±0,337	8,847±0,833	0,211±0,022
30	7,564±0,793 <sup>a, b</sup>	5,892±0,443 <sup>a, b</sup>	0,162±0,010
	5,931±0,307	9,430±0,522	0,198±0,021

Примечания: В числителе приведен показатель опытной группы, в знаменателе - контрольной; а - значимость различий по сравнению с контрольными животными -  $p < 0,05$ ; б - значимость различий по сравнению с интактными животными -  $p < 0,05$ .

угнетение системы антиоксидантной защиты организма при активном микробно-воспалительном процессе в почках [18].

Введение лимфоидных клеток интактных крыс реципиентам практически не отразилось на интенсивности процессов ПОЛ в плазме крови. Однако, при этом отмечено резкое повышение активности ферментов антиоксидантной защиты: СОД и каталазы (табл.2). Уже к 7 суткам эксперимента исследованные параметры (за исключением активности СОД) у контрольной группы животных нормализовались и не отличались от значений интактных животных. Установленные нами изменения в контрольной группе животных, видимо, связаны с неспецифической ответной реакцией организма реципиентов на введение чужеродных клеток.

В опытной группе содержание МДА в плазме уже через 1 сутки превысило показатели контрольных животных более чем в 2 раза, а показатели интактных животных на 54,1%. Такая динамика изменений была характерна и на 3 сутки исследований. Через 7 суток после введения лимфоидных клеток уровень МДА снизился до уровня показателей интактных животных. Однако по мере увеличения срока исследований уровень МДА прогрессивно повышался и превышал контрольные значения на 28,6, 20,3 и 36,9%, соответственно, на 14, 21 и 30 сутки эксперимента.

Одним из факторов, способствующих интенсификации ПОЛ у опытных животных, явилось резкое угнетение активности СОД, которая уже через сутки

Таблица 2. Содержание МДА и активность ферментов антиоксидантной защиты крови у животных после переноса адаптированных лимфоцитов

Срок исследования, сутки	Содержание МДА, нмоль/мл	Активность ферментов	
		СОД усл.ед/ мин·мг белка	Каталаза мкмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> мин·мг белка
интактные	5,853±0,284	8,661±0,518	0,179±0,022
1-е	9,017±1,379 <sup>а,б</sup>	5,246±0,479 <sup>а,б</sup>	0,243±0,018 <sup>б</sup>
	4,301±0,369	13,884±1,025	0,248±0,020 <sup>б</sup>
3-ьи	8,028±1,138 <sup>а,б</sup>	8,578±0,745 <sup>а</sup>	0,345±0,024 <sup>б</sup>
	4,563±0,546	13,312±1,012 <sup>б</sup>	0,320±0,019 <sup>б</sup>
7-е	5,712±0,603	3,189±0,222 <sup>а,б</sup>	0,148±0,012 <sup>а</sup>
	5,425±0,307	11,461±0,772 <sup>б</sup>	0,187±0,017
14-е	7,159±0,774 <sup>а,б</sup>	4,448±0,351 <sup>а,б</sup>	0,186±0,027 <sup>а</sup>
	5,567±0,248	9,811±0,677	0,278±0,019 <sup>б</sup>
21-е	6,742±0,291 <sup>а</sup>	4,866±0,381 <sup>а,б</sup>	0,210±0,019 <sup>а</sup>
	5,605±0,167	9,819±0,603	0,308±0,029 <sup>б</sup>
30-е	7,963±1,039 <sup>а,б</sup>	6,534±0,501 <sup>а,б</sup>	0,189±0,013 <sup>а</sup>
	5,817±0,347	9,437±0,545	0,245±0,022 <sup>б</sup>

Примечания те же, что и к таблице 1.

после введения лимфоидных клеток снижалась по сравнению с контролем на 62,2%. Через 3 суток экспериментов активность СОД восстанавливалась до значений интактных животных, но все же оставалась ниже значений контроля. Затем отмечалось довольно выраженное угнетение активности этого фермента, и такая тенденция сохранялась до конца исследований. Активность каталазы изменялась в меньшей степени, снижаясь на 20,8, 36,3, 35,7 и 22,8% по сравнению с контролем на 7, 14, 21 и 30 сутки эксперимента.

Динамика изменений интенсивности процессов ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов, вызванная лимфоцитами, во многом схожа с изменениями, характерными для экспериментального пиелонефрита. Активизация ПОЛ у реципиентов, получавших клетки лимфатических узлов от крыс с пиелонефритом, возможно, связана с изменениями, которые происходят в организме доноров. Присутствие патогенных бактерий и их рост приводят к миграции в воспалительный очаг полиморфноядерных клеток, макрофагов, лимфоцитов, где они активизируются и выделяют цитокины, свободные радикалы кислорода, лизосомальные ферменты, медиаторы воспаления, поражающие не только бактерии, но и клетки хозяина [19-22]. Эти сдвиги определяют изменение структурной организации мембран: в липидной фазе мембран накапливаются продукты деградации фосфолипидов, холестерина (особенно эфирсвязанных форм) в период обострения заболевания. Кроме этого имеются исследования [23], в которых выявлены изменения, касающиеся непосредственно лимфоцитов при пиелонефрите. Установлено, что в липидном спектре мембранных структур лимфоцитов превалируют лизофосфолипиды: лизофосфатидилхолин и лизофосфатидилэтаноламин - липиды с очень высокой биологической активностью, которые изменяя фазовое состояние мембран, вызывают гибель клеток. Возможно, перенос информации такого характера адаптированными лимфоцитами и приводит к интенсификации ПОЛ на фоне подавления системы антиоксидантной защиты у интактных крыс-реципиентов.

**ВЫВОДЫ:** 1. Введение клеток лимфатических узлов крыс с пиелонефритом вызывает у реципиентов сдвиги в системе ПОЛ-АОФ, которые сопоставимы с аналогичными изменениями при экспериментальном пиелонефрите.

2. В плазме крови крыс-реципиентов существенно интенсифицируются процессы ПОЛ во все сроки исследования.

3. У крыс-реципиентов существенно угнетается активность СОД и менее выражено - каталазы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Румянцев А.Ш., Гончарова Н.С. (2000) Нефрология, 4. №3, 41-52.
2. Bergeron M.G. (1995) Med. Clin. North Amer. Antimicrobial Therapy, 79, 619-649.
3. Жмуров В.А., Крылов В.И., Кашуба Э.А., Чимаров В.М. (1993) Нефропатии (аспекты мембранологии), Тюмень.
4. Цветчих В.Е., Крылов В.И., Лернер Г.Я. (1992) Тер. архив, 62, №11, 80-82.
5. Цветчих В.Е., Крылов В.И., Лернер Г.Я. (1991) Тер. архив, 63, №2, 105-107.
6. Боженов Ю.А., Учайкин Г.Ф., Сапега Е.Ю., Овчинникова Т.Н. (2000) Дальневосточный медицинский журнал, №1, 21-23.
7. Бабаева А.Г. (1985) Регенерация и система иммуногенеза. М. Медицина.
8. Арсентьева В.В. (1998) Вестник новых медицинских технологий, 5, №3-4, 54-56.
9. Базарий В.В. (1999) В кн.: Очерки экспериментальной патофизиологии. Екатеринбург. с.116-121.
10. Попугайло М.В. (1999) В кн.: Очерки экспериментальной патофизиологии. Екатеринбург. с.122-144.
11. Кузнецов С.И., Семенова И.В. (1997) Патол. физиол. и эксперим. № 2, 27-29.
12. Крыжановский Г.Н., Давыдова Т.В., Фомина В.Г. и др. (1994). Бюлл. эксперим. биол. мед. 117, №3, 232-234.
13. Ярилин А.А. (1999). Основы иммунологии. М. Медицина.
14. Сапин М.Р., Этинген Л.Е. (1996). Иммунная система человека. М. Медицина.
15. Андреева Л. И., Кожемякин Л.А., Кушкин А.А. (1989) Лаб. дело, №1, 41-43.
16. Мхитарян В.Г., Бадалян Г.Е. (1978) Жур. эксперим. клин. мед., №6. 7-11.
17. Коралюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. (1988) Лаб. дело, №1, 16-19.
18. Млынчик Е. В. (1990) Экспер. клин. мед. №4, 314-319.
19. Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. (1990) Усп. биол. химии. 31, 180-208.
20. Тиунов Л.А. (1995) Вестник РАМН, №3, 9-13.
21. Ахмедов Р.Н. (1999) Патогенетические аспекты морфо-функциональных нарушений при различных формах экспериментальной патологии почек и пути их коррекции. Ташкент. Автореф. дис. д-ра мед. наук.
22. Цветчих В.Е., Бердичевский Б.А., Султанбаев В.Р. и др. (2000) Урология, №3, 13-15.
23. Булыгин Г.В., Камзалакова Н.И., Андрейчиков А.В. (1999) В кн.: Метаболические основы регуляции иммунного ответа. Новосибирск, с. 301-313.

Поступила 04.07.2002

TIME-COURSE OF LIPIDS PEROXIDATION INTENSITY AND ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITY IN EXPERIMENTAL PYELONEPHRITIS AND POSSIBILITY OF TRANSFER OF THESE CHANGES BY ADOPTED LYMPHOID CELLS

Sh. K. Shorahmedov

Second Tashkent State Medical Institute, Tashkent, Republic of Uzbekistan  
Farobi Street 2; Tashkent, 700109. Republic of Uzbekistan; fax: (+99871) 1339306,  
e-mail: tashmi2@online.ru

Administration of lymphoid cells of donor rats with acute pyelonephritis to recipient rats results in development of metabolic changes characteristic for pyelonephritis. Similar changes were also observed for experimental pyelonephritis induced by pathogen strains *E. coli*.

**Key words:** pyelonephritis, lymphoid cells, lipid peroxidation (LPO), superoxide dismutase (SOD), catalase.