РЕФЕРАТ

Об'єкт дослідження: нирки та сеча щурів

Мета роботи: дослідження впливу різних способів введення протипухлинної системи Реній-Платина та її компонентів на діагностичні маркери функціонального стану нирок щурів з моделі пухлинного росту.

Методи дослідження: спектрофотометричні, колориметричні, статистичні.

В процесі експерименту виявлено, що розвиток пухлини призводив до збільшення концентрації загального білку в сечі, при введенні цисплатину у розчині та ренієвої сполуки у ліпосомній формі спостерігалося збільшення швикості гломерулярної фільтрації і зменшення виходу діагностичних ферментів в сечу, яким вводився тільки цисплатин: лактатдегідрогенази, гама-глутамілтранспептидази при їхній активації у нирковій тканині. При введенні наноліпосомних форм комплексних сполук Ренію щурам з пухлиною відмічалось зниження біохімічних маркерів в сечі, а саме: концентрації загальних протеїнів в середньому, активності лактатдегідрогенази, активності гама-глутамілтранспептидази , при їхній активації у тканині нирок.

Результати експерименту можуть бути застосовані у діагностиці та лікувальній практиці.

Ключові слова: нирки, кластерні сполуки ренію, цисплатин, протипухлинні препарати, нефротоксичність

RESUME

graduation research of 4 th year student (DNU by Oles Gonchar, Department of biophisics and biochemistry) deals with research antitumor the Rhenium-Platinum system to.object of research was level of diagnostie markers of the kidney foeilure in write and tissue.purpose work was examine the effect of kidney function in rats with carcinoma.of research - colorometric, spectrophotomethrick and statistic.

KEY WORDS: kidney, cluster rhenium compound, cisplatin, anticancer drugs nephrotoxicity.

ПЕРЕЛІК CКОРОЧЕНЬ

ШКФ-швидкість клубочкової фільтрації

ЛЗ-лікарські засоби

ГГТП-гама-глутамілтранспептидаза

АСТ-аспартатамінотрансфераза

АЛТ-аланінамінотрансфераза

ЛДГ-лактатдегідрогеназа

Т8- тварини з карциномою Герена

сPt- цисплатин

[cpt]nl- цисплатин у наноліпосомах- сполуки ренію

[Re]nl- наноліпосомну форма ренію

[Re+cpt]np- реній та цисплатин у системі наночасток

Вступ

Нефротоксичність - це властивість хімічних речовин, діючи на організм немеханічним способом, викликати структурно-функціональні порушення нирок. Нефротоксичність може бути наслідком прямої дії хімічних речовин чи їхніх метаболітів на нирки або опосередкованої дії - через вплив на гемодинаміку, кислотно-основний стан, масивне утворення продуктів руйнування клітинних елементів (гемоліз, рабдоміоліз), які блокують канальцевий апарат нирок.

За деякими даними, близько 20-30% зареєстрованих випадків гострої ниркової недостатності та близько третини випадків хронічної ниркової недостатності є наслідком дії хімічних чинників , зокрема, приблизно 18-27% випадків є наслідком фармакотерапії.

Найбільшим нефротоксичним ефектом характеризуються препарати платини. Ці сполуки, маючи цитотоксичну дію, викликають цитоліз епітеліальних клітин канальців нирок, фібропроліферацію та запалення органу [36,16]. Тому існує необхідність пошуку нових або корекції існуючих схем протипухлинної терапії, з менш токсичними побічними ефектами та посиленням лікувального ефекту.

У попередніх роботах нашої наукової групи було описано нову протипухлинну систему Re-Pt, в якій токсична дія цисплатину була знижена за наявністю комплексів диренію (III), а лікувальний ефект підвищувався [21]. Така система була використана в якості ефективних препаратів проти розвитку карциноми Герена Т8 у щурів [21].

Впровадження нових протипухлинних препаратів вимагає дослідження їх антиоксидантних та антирадикальних властивостей в природніх умовах.

Метою даної роботи було дослідити вплив різних способів введення протипухлинної системи Реній-Платина та її компонентів на діагностичні маркери функціонального стану нирок.

1.1 Основні клінічні прояви ураження нирок

Основними клінічними та лабораторними проявами токсичного ураження нирок є [3, 9] поява в сечі невластивих для неї молекул внаслідок пошкодження стінки клубочкових капілярів і зростання вмісту білка в сечі. Протеїнурія може мати: а) гломерулярне походження (в сечі виявляються переважно високомолекулярні білки - з молекулярною масою понад 40 000 Да); б) канальцеве походження (в сечі виявляються переважно низькомолекулярні білки). Гломерулярна протеїнурія вказує на руйнування клубочків, канальцева - на пошкодження проксимальних відділів канальців;

- зменшення кількості виділеної сечі (олігурія);

підвищення в плазмі крові рівня азотовмісних низькомолекулярних речовин (азотемія), таких як сечовина, креатинін, сечова кислота та ін.;

набряки, що в разі відсутності серцевої недостатності чи цирозу печінки вказує на різке зниження вмісту альбуміну та інших білків у крові;

порушення електролітного обміну;

артеріальна гіпертензія, що розвивається внаслідок гломерулосклерозу.

Токсичні ураження нирок різняться за механізмами виникнення, морфологічними проявами і тяжкістю перебігу. Вважається, що токсичні ураження нирок можна звести до 4-5 синдромів, які мають більш-менш чітко окреслені клінічну картину та лабораторні прояви [3, 9, 18].

Ксенобіотики викликають:

• гостру ниркову недостатність, яка характеризується пригніченням функції нирок з азотемією та олігурією;

• нефротичний синдром, що характеризується тяжкою протеїнурією, гіпопротеїнемією, набряками, гіперліпідемією та іншими проявами;

• тубулярну дисфункцію, яка проявляється дисфункцією канальців (протеїнурія канальцевого типу, ацидоз сечі, втрата солей, зниження осмолярності сечі та ін.);

• хронічна ниркова недостатність - перманентне порушення функції нирок з азотемією, ацидозом, анемією, артеріальною гіпертензією та низкою інших порушень;

• швидкопрогресуючий гломерулонефрит, що проявляється гематурією та олігурією і призводить до швидкого розвитку ниркової недостатності.

За перебігом розрізняють гострі та хронічні ураження нирок. Останні розвиваються внаслідок тривалого надходження нефротоксичних агентів.

Найчастіше їх пов’язують зі зловживанням нестероїдних протизапальних засобів (фенацетином, парацетамолом), кокаїном, героїном, тривалою терапією препаратами літію, імунодепресантами (циклоспорином, сиролімусом), противірусними лікарськими засобами (цидофовіром, ацикловіром, індинавіром) тощо [6, 19].

Хронічна нефротоксичність в основному має дозозалежний характер, а ступінь пошкодження нирок визначається дозою та тривалістю прийому нефротоксичного агента.

Морфологічні зміни в нирках при хронічних ураженнях унаслідок дії анальгетиків характеризуються розвитком вогнищевих ішемічних, некротичних та фіброзних змін, атрофією канальцевого апарату нирок.Сиролімус викликає в нирках фіброзні зміни, що розвиваються на фоні облітеруючої артеріолопатії та колапсу ниркових канальців. Під впливом препаратів літію розвиваються інтерстиціальний фіброз і нефрогенний нецукровий діабет, із появою в корковому та мозковому шарах нирок тубулярних кіст, ділянок гломерулосклерозу і тубулоінтерстиціальних пошкоджень. Ці зміни носять незворотний характер і призводять до формування хронічної ниркової недостатності, а в разі дії анальгетиків - і до злоякісних новоутворень нирок та сечових шляхів. Хронічне ураження нирок супроводжується стерильною піурією, помірною протеїнурією, а в пацієнтів із папілярними некрозами може спостерігатися гематурія. Виявляються порушення азотовидільної та концентраційної функцій нирок, у частини хворих розвивається ниркова артеріальна гіпертензія.

1.2. Преренальні порушення

Преренальна азотемія гострої ниркової недостатності є наслідком суттєвого зменшення кровотоку через нирки. Тому патологічні стани чи лікарські засоби, які здатні зменшувати абсолютний чи відносний об’єм циркулюючої крові та знижувати артеріальний тиск, можуть викликати послаблення фільтраційної функції нирок і підвищення концентрації сечовини та креатиніну в крові [15, 26, 27].

Такі порушення викликають діуретики, високоосмолярні рентгеноконтрастні засоби, циклоспорин і такролімус, не стероїдні протизапальні засоби, інтерлейкін-2, інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту.

Оскільки функціональна здатність нирок залишається збереженою, а погіршується лише їх кровопостачання, то нирка реагує на зниження перфузії більш інтенсивною реабсорбцією води та іонів натрію в канальцях, що призводить до затримки води і зростання. Такий тип порушень супроводжується зменшенням об’єму виділеної сечі та зниженням елімінації натрію із сечею (фракційна екскреція натрію менше 1%) при високому осмотичному тиску сечі (понад 450 мОсм/кг).

Сечовий осад - без циліндрів, еритроцитів, лейкоцитів і білка. У сироватці крові зростає рівень залишкового азоту, переважно за рахунок сечовини. При цьому співвідношення азоту сечовини до азоту креатиніну перевищує 20:1 (у нормі - 10:1). Більш значне підвищення рівня сечовини порівняно з креатиніном зумовлене не лише зниженням швидкості клубочкової фільтрації, але й посиленням канальцевої реабсорбції сечовини, яка спряжена з реабсорбцією натрію (на відміну від креатиніну).

До типових лікарських засобів , здатних викликати преренальні порушення ниркової функції, належать не стероїдні протизапальні засоби , які блокують синтез простагландинів з арахідонової кислоти, пригнічуючи активність циклооксигенази [16, 17, 26].

Гемодинамічна ниркова недостатність може виникати і при застосуванні інгібіторів ангіотензинперетворювального ферменту та блокаторів рецепторів ангіотензину ІІ [4, 13]. Ці лікарські засоби знижують системний артеріальний тиск, за рахунок чого зменшується перфузія нирок кров’ю, а відтак і їхня фільтраційна здатність.

Преренальна гемодинамічна ниркова недостатність може виникати і при поєднанні діуретиків різних класів (наприклад, петльових та осмолярних чи калійзберігаючих) чи при їх комбінуванні з інгібіторами ангіотензинперетворювального ферменту або блокаторами рецепторів ангіотензину ІІ.

Преренальні гемодинамічні порушення є потенційно зворотними, і в більшості випадків для їх корекції достатньо припинення прийому лікарських засобів, що їх викликають, однак вчасно нерозпізнана преренальна ниркова недостатність може призвести до тяжкого пошкодження тубулярного апарату нирок і навіть до тубулярних некрозів.

1.3 Васкулярні та тубулярні ушкодження нирок

Васкулярні порушення проявляються тромботичною мікроангіопатією та оклюзією судин нирок частинками холестеринових бляшок. При сильних порушеннях судин нирок відмічається наявність еритроцитів в сечі (гематурія). Гематурія може бути наслідком ушкодження будь-якої ділянки нефроциту, а у випадку ушкодження гломерул еритроцити в сечі мають аномальну форму [12].

Холестеринові емболи. Антикоагулянти (варфарин та гепарин) і тромболітики (стрептокіназа і тканинний активатор плазміногену) можуть викликати руйнування холестеринових бляшок, а утворені емболи - оклюзію невеликих артерій нирок (дугових, міжчасточкових, термінальних артеріол, гломерулярних капілярів). Це спричиняє ішемію та некротизацію тканин нирок із розвитком запальної реакції в інтерстиціальній тканині та порушенням функціонального стану нирок [11,20].

Ці порушення виникають тоді, коли первинною мішенню стають клітини тубулярного епітелію [6, 12, 17]. Найчастішою причиною гострого тубулярного некрозу, не пов’язаного з дією токсичних субстанцій, є тривала ішемія нирок, яка виникає при тяжких септичних станах, дихальних та циркуляторних розладах. Токсичні форми гострого тубулярного некрозу пов’язують з ендогенними речовинами (міоглобіном, гемоглобіном, легкими ланцюгами мієломних білків) та численними лікарськими засобами.

Гострий тубулярний некроз проявляється раптовим зниженням швидкості клубочкової фільтрації, виникненням азотемії, нездатністю нирок регулювати гомеостаз води, натрію та інших електролітів, підтримувати кислотно-основний баланс. Морфологічними ознаками гострого тубулярного некрозу є альтерація та деструкція тубулярного епітелію [1].

Гострий інтерстиціальний нефрит виникає внаслідок індукованого лікарського засобу та токсикантами імунного ураження нирок [24,2,10].

Доведено, що гострий інерстиціальний нефрит здатний викликати як ниркові антигени (білки базальної мембрани канальців та білки, що секретуються ними), так і екстраренальні, а лікарські засоби та їх метаболіти можуть виступати в ролі гаптенів чи імітувати (молекулярна мімікрія) ниркові антигени. Модифіковані екстраренальні білки (альбумін, агреговані гамаглобуліни) також можуть ставати антигенами, якщо вони затримуються в нирках. Імовірно, аутоімунне ураження нирок опосередковується Т-лімфоцитами, котрі продукують прозапальні та профібротичні цитокіни, які й ушкоджують клітинні елементи нирок.

Морфологічно гострий інерстиціальний нефрит проявляється інтенсивним набряком та інфільтрацією запальних клітин, включаючи лімфоцити, плазматичні клітини, макрофаги, еозинофіли і поліморфноядерні лейкоцити [12].

Клінічно тубулоінстерстиціальні пошкодження спочатку проявляються лише незначними порушеннями функції нирок, і першою їх ознакою можуть стати артеріальна гіпертензія та поступово прогресуючі явища ниркової недостатності.

Серед нефротоксикантів, які найчастіше асоціюються з розвитком хронічного тубулоінтерстиціального пошкодження нирок, фігурують токсичні метали (свинець, кадмій, золото, платина, ртуть, літій, срібло, мідь, залізо), анальгетики та нестероїдні протизапальні засоби. Із мікотоксинами, такими як охратоксин, пов’язують розвиток ендемічної балканської нефропатії - варіанта тубулоінтерстиціального нефриту.

Характеризується тяжким ураженням нирок унаслідок ішемії їхнього мозкового шару і сосочків чи прямої токсичної дії нефротоксинів на ці структури. Таке ураження нирок спричиняється анальгетиками, зокрема фенацетином та парацетамолом, метаболіти яких накопичуються в папілярній тканині [4, 24], а також нестероїдні протизапальні засоби , котрі, блокуючи синтез вазодилататорних PG у нирці, викликають ішемічні ниркові некрози [28,6].

Пряму гломерулярну токсичність викликають речовини, що можуть затримуватися базальною мембраною клубочків чи накопичуватись у мезангіальних клітинах (наприклад, частинки золота чи кремнезему).

Окрім золота та кремнезему, на мембрани клубочків токсично впливають також пеніциламін, інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту, фоскарнет, α-інтерферон, нестероїдні протизапальні засоби [10,23,7]. Зокрема, мефенамінат та фенопрофен здатні ініціювати запальні зміни в капілярах клубочків, оскільки вони блокують циклооксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти і спрямовують його по ліпоксигеназному шляху, що призводить до утворення прозапальних лейкотрієнів. Кокаїн та героїн також викликають запалення в клубочках, яке проявляється тромбозом капілярів, руйнуванням їх стінок, зменшенням кількості епітеліоцитів, проліферацією мезангіальних клітин, що відповідає картині мембранопроліферативного гломерулонефриту.

Ці зміни можуть завершуватися розвитком вогнищевого гломерулосклерозу та амілоїдозу нирок [15].

1.4 Постренальні ураження нирок

Постренальні токсичні ушкодження нирок частіше виникають унаслідок випадіння кристалів лікарських засобів і сечових каменів у просвіті дистальних канальців, що створює механічні перешкоди руху сечі [3,22,7]. Осадження кристалів у паренхімі нирок здатне пошкоджувати судинну мережу і викликати порушення ниркового кровотоку.

Менш частою причиною постренальних токсичних уражень нирок є механічна обструкція сечоводів унаслідок індукованих лікарських засобів ретроперитонеального фіброзу.

1.5. Хвороби, викликані електролітними порушеннями

Гіпонатріємія розвивається при використанні тіазидних діуретиків, які посилюють сечову екскрецію натрію, стимулюють продукцію антидіуретичного гормона та альдостерону, збільшують реабсорбцію вільної води.

Гіпернатріємія розвивається при тривалому застосуванні манітолу, при нефрогенному нецукровому діабеті, викликаному літієм та демеклоцикліном.

Гіпокаліємія часто поєднується з гіпомагніємією і виникає при лікуванні тіазидними та тіазидоподібними діуретиками (гідрохлоротіазидом, циклометіазидом, хлорталідоном, клопамідом, індапамідом), а також лікарських засобів, що токсично діють на тубулярний апарат нирок (гентаміцином, цисплатином і карбоплатином). Ці електролітні розлади здебільшого є наслідком підвищеної екскреції із сечею калію та магнію, а їх частота та вираженість прямо пропорційні дозі діуретика чи нефротоксину.

Гіперкаліємія найчастіше є наслідком застосування калій зберігаючих діуретиків та лікарських засобів, що впливають на ренін-ангіотензин-альдостеронову систему чи обмежують реабсорбцію натрію .

Проксимальний тубулярний ацидоз розвивається внаслідок зменшення реабсорбції нирками бікарбонату під впливом ацетазоламіду, дорзоламіду (інгібіторів карбоангідрази). Іншими причинами метаболічного ацидозу є зниження екскреції нирками іонів водню, що викликається амфотерицином, літієм, анальгетиками, високими дозами вітаміну D, та зменшення продукції альдостерону або чутливості до нього, що спричиняється циклоспорином і такролімусом [2,28,5].

Метаболічний алкалоз виникає при застосуванні петльових та тіазидних діуретиків і пов’язаний із посиленням екскреції з сечею іонів водню та калію.

1.6 Біохімічні маркери ушкодження нирок

.6.1 Креатинін. Кліренс креатиніну

Методи, засновані на дослідженні очисної функції нирки (кліренс) вважаються найбільш надійними. Кліренс, як метод дослідження функції нирок, введений Rehberg (кліренс креатиніну, 1926 р.) і Molly McJntoch і Van Slyke (кліренс сечовини, 1928 р.). Під нирковим кліренсом мається на увазі те кількість сироватки (плазми) крові (в мл), яке очищується цілком за одиницю часу від якогось екзогенного або ендогенного речовини [27,11,2].

Розрізняють такі види кліренсу:

. Фільтраційний кліренс, коли речовина виділяється в результаті фільтрації і не реабсорбується в канальцях. Такий кліренс має креатинін. Він визначає величину клубочковой фільтрації.

. Екскреціонний кліренс, коли речовина виділяється фільтрацією або канальцевої екскрецією, без реабсорбції. Цей кліренс визначає кількість пройшла через нирку плазми.

. Реабсорбційну кліренс, при якому речовина виділяється фільтрацією і повністю реабсорбується в канальцях.

. Змішаний кліренс спостерігається при здатності фільтруючого речовини до часткової реабсорбції. Таким кліренсом володіє сечовина.

# Кожна речовина має свій кліренс, тобто концентраційна здатність нирки різна для різних речовин і може варіювати залежно його концентрації в плазмі [1,9,28].

# Кліренс можна охарактеризувати як коефіцієнт очищення плазми (крові). Кліренс визначається речовини відповідає різниці між вмістом цієї речовини в сечі і в плазмі хв.

Найбільш часто для виявлення дисфункції нирок (функціональної здатності клубочків і канальців), а також з метою диференціальної діагностики нефропатій використовують креатинін і сечовину. Підвищення концентрації в крові креатиніну і сечовини, супутніх нирковій дисфункції - ознака патогномонічної ниркової недостатності, однак концентрація креатиніну в крові підвищується раніше, ніж сечовини. Визначення його для ідентифікації ниркової дисфункції більш показово [18].

Креатинін - кінцевий продукт обміну креатину. Креатинін утворюється в організмі з креатину, який міститься в основному в м'язовій тканині, де його похідне - фосфокреатин служить резервом, витрачається при скороченні м'язів [9,22,30].

1.6.2 Протеїнурія

Обов'язковим і важливим елементом дослідження сечі є визначення білка. У сечі здорової людини білок можна виявити методами дослідження, якими користуються для його виявлення при загальному аналізі (проба з сульфосаліциловою кислотою - для якісного, біуретовая реакція - для кількісного аналізу), хоча в добовому об'ємі сечі в нормі його міститься від 10 до 50 мг , а за деякими даними до 100 мг[47].

Якщо в сечі виявлено залишки білку або концентрація його становить 0,033 г / л, необхідно повторити аналіз, оскільки наявність білку навіть у мінімальних кількостях може свідчити про можливе захворювання нирок або сечових шляхів. У сумнівних випадках слід визначити добову кількість білка,який екскретується з сечею [51,23].

Якісна проба (з сульфосаліциловою кислотою) на білок стає позитивною, якщо концентрація його становить не менше 10 мг/100 мл сечі.

Визначення білку в сечі має важливе значення не тільки в діагностиці багатьох первинних і вторинних захворювань нирок, а є одним з головних ознак протеїнурії [32,18].

1.7 Ферментативні маркери сечі

.7.1 Гама-глутамілтранспептидаза

Гама-глутаміттранспептидаза (ГГТП) каталізує перенесення γ-глутаміл з глутатіону на амінокислоту або пептид.

У нирках фермент відіграє головну роль в реабсорбції амінокислот з первинної сечі[3,16].

Розташовується в основному на мембранах клітин, що володіють високою секреторною активністю, в епітеліальних клітинах, що вистилають жовчні шляхи, печінкових канальцях , проксимальних канальцях нефрона, панкреатичній екзокринній тканині, вивідних протоках , ворсинчастих клітинах тонкої кишки [25,7,3].

Припускають, що в печінці гамаглутаматтранспепдидаза зв'язує молекули речовин, які необхідно екскретуватися.

Підвищення активності ГГТП супроводжує захворювання печінки. Найбільш часто збільшення активності ГГТП при захворюваннях печінки і жовчовивідних шляхів вважають результатом порушення відтоку жовчі і підвищення вмісту ГГТП в гепатоцитах. Регургітація жовчі, надходження її в кровотік, з одного боку, звільняє ГГТП з мембран епітелію, що вистилає жовчні шляхи, з іншого - підвищує активність ферменту в крові.

Збільшення активності ГГТП завжди супроводжується внутрішньо поза печінковою обтурацією жовчних проток, а також вторинним залученням печінки в онкологічні процеси організму шляхом метастазування.

Жовтяниця завжди супроводжується збільшенням активності ГГТП. Висока активність ферменту пов'язана з порушенням прохідності жовчних проток, менш висока відповідає гострого гепатоцелюлярній поразці [19,4,8].

При гострому вірусному гепатиті багаторазове дослідження активності ГГТП дозволяє стежити за перебігом хвороби, постійне підвищення активності ГГТП свідчить про розвиток хронічної форми захворювання[5].

Найбільш високу активність ГГТП (в 5-30 разів вище референтного інтервалу) спостерігають при внутрішньо і поза печінковому холестазі. Дещо менші значення активності ферменту реєструють при первинних пухлинах печінки. При злоякісних пухлинах іншої локалізації поступове збільшення активності ГГТП вказує на наявність метастазів у печінку. Активність ГГТП може бути використана в якості маркера раку підшлункової та передміхурової залози, так як відображає ремісії і рецидиви.

Активність ферменту визначається в сечі експериментальних тварин з різними нефропатіями навіть при відсутності гіпоперфузії нирки, тому відображає навіть незначні зміни у канальцевих клітинах.

Необхідно ще раз зауважити, що ГГТП багатозначна в діагностичному відношенні [21,30].

1.7.2 Лактатдегідрогеназа

Активна сечова лактат дегідрогеназа у людини була широко вивчена при нормальних і патологічних станах. Активна сечова лактат дегідрогеназа може виникати з декількох джерел, що показує її поділ на ізоферменти. Лактатдегідрогеназна активність виникає із сироватки крові, клітини нирок, клітини крові або з секрету передміхурової залози.

Одним з напрямів дослідження локального ушкодження нирок є дослідження екскреції ензимів з сечею (ензимурія) [36,31]. Пропонується велика кількість ензиматичних маркерів для відображення ураження нирок. Але найбільш часто використовуються ГГТП і ЛДГ, що у великих кількостях містяться в нирках і не фільтруються з крові [31]. Збільшення активності цих ферментів у сечі при нефропатіях виявляється вже в перші години, задовго до розвитку клінічно значимих змін у екскреції протеїнів з сечею, креатиніну в плазмі крові та інших ниркових маркерів [36].

ЛДГ є цитозольним ензимом, який розподілений впродовж всього нефрону, але переважна кількість його знаходиться у дистальному канальці [36]. Оскільки пряма взаємодія cPt з ЛДГ відсутня [49], то є можливим його використання у якості маркера нефротоксичної дії cPt [46,31].

Збільшення сечової лактатдегідрогенази не паралельно сумарній протеїнурії або гематурії , оскільки в більшості випадків залучаються інші патологічні фактори, що задіюють інші джерела виникнення сечової лактатдегідрогенази [2,22].

Опущення нирки може бути діагностовано за допомогою порівняння активності лактатдегідрогенази в сечі, що продукується при вертикальному положенні пацієнта, з сечею, що продукується в лежачому стані; при опущенні, утворена сеча містить набагато більшу ферментативну активність.

Виключно висока активність сечової лактатдегідрогенази зустрічається у хворих зі злоякісними пухлинами урогенітального тракту - рак нирки, рак сечового міхура , а також рак шийки матки і рак передміхурової залози . Ці результати говорять про великий серії досліджень для визначення наявності активності сечової лактат дегідрогенази, що може бути використана як маркер злоякісних пухлин сечостатевої системи, а в деяких випадках, навіть при скритих карциномах (без патологічних змін в сечі) свідчили про підвищення активності сечової лактат дегідрогенази [10,2,7].

Однак ці результати не можуть ствреджувати про діагностичну цінність визначення сечової лактатдегідрагенази для злоякісних новоутворень в урогенітального тракту:

Лактатдегідрогеназна активність в сечі не підвищується в кожному конкретному випадку, а в деяких серіях, відсоток був нижче за 75% ;

Відсутність істотної різниці у рівні активності сечової лактат дегідрогенази при злоякісних і доброякісних утвореннях в урогенітальному тракті;

Збільшення активності сечової лактат дегідрогенази у хворих на злоякісні новоутворення урогенітального тракту обумовлено насамперед неспецифічними факторами (запалення, клітини крові в сечі, прискорений обміну в нормальних клітинах) і лише в малому ступені підвищенням виділенням в сечу лактатдегідрогенази з пухлинних клітин , що було підтверджено комбінованими біохімічними і цитологічними дослідженнями [19,8,21].

Сьогодні, визначення активності сечовогї лактатдегідрогенази здається цінним скринінг-тестом на виявлення наявності злоякісних пухлини сечостатевого тракту, але тільки за відсутністю піурії (наявність гною в сечі при запальних процесах, наприклад запалення легень, нирок і т.д.).

1.8 Профілактика та лікування нефротоксичної дії

З метою зниження ризику розвитку медикаментозної нефротоксичності лікар має бути добре поінформований про небажані впливи лікарських засобів на функцію видільних органів, уникати призначення потенційно небезпечних лікарських засобів без очевидної потреби (у разі ж необхідності - призначати на якнайкоротший строк) [13,24,4].

Лікувальна тактика в разі виникнення ураження нирок здебільшого полягає у припиненні введення відповідного підозрюваного лікарського засобу. Преренальні ушкодження потребують обов’язкового відновлення об`єму циркулюючої крові. Внутрішньониркові ушкодження (наприклад, тромботична мікроангіопатія, холестеринові емболи, тубулярний некроз, рабдоміоліз) поряд із припиненням уведення підозрюваного лікарського засобу та підтримувальною терапією передбачають проведення плазмоферезу за показаннями. У частині випадків для компенсації функції нирок відміна лікарських засобів виявляється недостатньою і хворі потребують проведення гемодіалізу.

При обструктивних ураженнях нирок (кристалурії, нефролітіазі) поряд зі зниженням дози або повною відміною лікарських засобів слід проводити залуження сечі (особливо в разі використання сульфаніламідів). Хронічні ураження нирок, зокрема облітеруючу артеріопатію і фіброз сечоводів, лікують, за можливості, зниженням дози підозрюваного лікарського засобу та підтримувальною терапією [2,7].

При порушеннях електролітного балансу та нефрогенному нецукровому діабеті, крім припинення вживання нефротоксиканта, на фоні підтримувальної та відновлювальної терапії необхідна корекція вмісту калію та натрію: обмеження вживання рідини в разі гіпонатріємії, призначення препаратів калію та магнію при дефіциті останніх, низькокалійна дієта в разі гіперкаліємії. Метаболічний алкалоз потребує відновлення об’єму циркулюючої крові, тубулярний ацидоз - заміщення HCO3-.

Однак слід зазначити, що наразі в арсеналі лікаря практично відсутні специфічні ЛЗ, які б запобігали побічним нефротоксичним реакціям або лікували їх (пошуки в цій галузі ще не вийшли за межі експериментальних досліджень). Такий підхід (підтримувальна терапія) з успіхом використовується в онкологічній практиці при застосуванні високотоксичних засобів хіміотерапії [26,13].

Таким чином, небажана та токсична дія ксенобіотиків на функцію видільних органів залишається досить серйозною проблемою, що пов’язано з різноманітністю проявів та відсутністю дієвих засобів терапії цієї патології. Тому сьогодні основним шляхом розв’язання вказаної проблеми є раціональне використання потенційних нефротоксикантів, у тому числі й медикаментозного походження, а також пошук лікарських засобів для зменшення або усунення нефротоксичності.

нефротоксичний маркер пухлинний нирка

Розділ II. Матеріали та методи

.1 Збір сечі у дослідних тварин

Збір сечі у дослідних тварин проводили вранці, натще, в умовах індукованого діурезу із використанням 1% водного навантаження відповідно до методики описаної Берхіним Є. Б. та Івановим Ю. І. у 1972 році [29].

2.2 Приготування плазми крові

Одержання плазми крові.

Кров беруть натщесерце з вени гострою сухою голкою з широким діаметром, без шприца (для запобігання гемолізу). При заборі крові перші 5-6 крапель відкидають.

Для цілей отримання плазми крові в пробірки додають літієву або натрієву сіль гепарину в пропорції до що забирається в пробірку кров'ю 15-20 МО/1 мл, що є гарантією повної інактивації згортання крові і не спотворює досліджувані параметри. Еритроцити зберігаються в зразку крові до 8 годин. Не можна використовувати для проведення аналізів зразки крові, що зберігався більше 48 годин навіть в умовах холодильника (+4ºС). Для отримання якісного результату аналізу необхідно: негайно після взяття крові обережно перевернути пробірку 5-7 разів для кращого перемішування крові і гепарину. Плазма відділяється після центрифугування. Нормальні швидкості центрифугирования - 1000-1500G (2000-3000 про/хв). При необхідності допускається центрифугування з прискоренням 4000G c кришечкою та до 12000G без кришки [2,30].

2.3 Метод визначення концентрації загального білку у сечі щурів

Визначення концентрації загального білку проводили за допомогою діагностичних наборів реактивів виробництва «Філісіт-Діагностика» (Україна, Дніпропетровськ). Принцип методу полягає у реакції білків з пірогалоловим червоним/молібдатом забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення реакційного розчину прямо пропорційна концентрації білків в аналізуємому розчині [5].

Реактиви:

Монореагент:

,0 ммоль/л пірогалолового червоного

,040 ммоль/л молібдату натрію

Калібрувальний розчин альбуміну 1 г/л

Хлорид натрію 0,9%

Хід визначення:

Перед аналізом зразки свіжозібраної сечі центрифугували при 900 g і перевіряли рН. Визначення концентрації білку проводили згідно схеми, представленої в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 Схема визначення білку в сечі

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Відміряємий розчин, мл | Дослідна проба | Калібрувальна проба | Холоста проба |
| Монореагент | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| Аналізуємий розчин | 0,02 | - | - |
| Калібрувальний розчин | - | 0,02 | - |
| Дистильована вода | - | - | 0,02 |
| Перемішати, витримати 10 хв при кімнатній температурі, фотометрувати проти холостої проби при довжині хвилі 540 нм. Забарвлення стабільне протягом 30 хв. |

Розрахунок концентрації глюкози проводили за формулою:

С=1000× Еоп/Екал (мг/л)

де С - концентрація білку у дослідній пробі, мг/л;

- концентрація білку в калібрувальному розчині, мг/л;

Еоп - оптична щільність дослідної проби, од. опт.щільності;

Екал - оптична щільність калібрувальної проби, од. опт.щільності;

Достовірність отриманих результатів контролювали за допомогою атестованої контрольної сироватки «Філісіт-КГБС» (Україна).

.4 Метод визначення концентрації креатиніну в плазмі крові та сечі щурів

Визначення креатиніну проводили за допомогою діагностичних наборів реактивів виробництва «Філісіт-Діагностика» (Україна, Дніпропетровськ). Принцип методу полягає у реакції пікринової кислоти з креатиніном і утворенні у лужному середовищі продукт жовтого-червоного кольору (похідне 2,4,6-три-нітроциклогексадієну). Інтенсивність забарвлення дослідного розчину прямо пропорційна концентрації креатиніну у пробі. У сироватці крові креатинін досліджується після депротеїнування розчином три хлороцтової кислоти, у сечі - після розведення [5,8].

Реактиви:

,04 моль/л розчин пікринової кислоти

,22 моль/л розчин три хлороцтової кислоти

,15 Н гідроокис натрію

, 4 мкмоль/л калібрувальний розчин креатиніну

Визначення концентрації креатиніну проводили згідно з таблицею 2.2.

Таблиця 2.2 Схема проведення аналізу в плазмі крові

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Відміряємий розчин, мл | Дослідна проба | Калібрувальна проба | Холоста проба |
| Сироватка | 0,5 | - | - |
| Дистильована вода | 1,0 | 1,0 | 1,5 |
| Калібрувальний розчин | - | 0,5 | - |
| Розчин ТХО кислоти | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Перемішати, центрифугувати 5 хв при 3000об/хв |
| Надосадова рідина | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Розчин гідроокису натрію | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Розчин пікринової к-ти | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Перемішати, витримати 20 хв при кімнатній температурі, фотометрувати проти холостої проби. Забарвлення стабільне протягом 20 хв. |

Визначення концентрації креатиніну в сечі проводили згідно з таблицею 2.3.

Таблиця 2.3 Схема проведення аналізу в сечі

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Відміряємий розчин, мл | Дослідна проба | Калібрувальна проба | Холоста проба |
| Дистильована вода | - | 2,0 | - |
| Калібрувальний розчин | - | 1,0 | - |
| Розчин ТХО кислоти | - | 1,0 | - |
| Перемішати, центрифугувати 5 хв при 3000об/хв.. Перед аналізом розвести сечу у 100 разів (до 1 мл сечі додати 99 мл дистильованої води). |
| Надосадова рідина | - | 2,0 | - |
| Розведена сеча | 1,0 | - | - |
| Розчин ТХО кислоти | 0,5 | - | 0,5 |
| Дистильована вода | 0,5 | - | 1,5 |
| Розчин гідроокису натрію | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Розчин пікринової кислоти | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Перемішати, витримати 20 хв при кімнатній температурі, фотометрувати проти холостої проби при 440 нм. Забарвлення стабільне протягом 20 хв. |

Розрахунок концентрації креатиніну у пробі проводять за формулою:

С= Едос/Екал \*442

Де С - концентрація креатиніну в пробі, мкмоль/л

- калібрувальна концентрація креатиніну, мкмоль/л

Едос - оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності

Екал - оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. Щільності

2.5 Метод визначення загальної активності лактатдегідрогенази в гомогенаті та сечі щурів

Визначення активності лактатдегідрогенази проводили за допомогою діагностичних наборів реактивів виробництва «Філісіт-Діагностика» (Україна, Дніпропетровськ).

Принцип методу базується на оптимізованому стандартному методі відповідно до вимог DGKS ( Німецького Товариства Клінічної Хімії ) і модифікований відповідно до рекомендацій SCE ( Скандинавського комітету по ензимам) [5,8].

Піруват+НАДН+Н←→Лактат+НАD+

НАДН та NAD- дві форми β-нікотинамін аденін дінуклеотиду

Піруват перетворюється в лактат з одночасним окислюванням НАДН.Швидість зменшення абсорбції при 340 нм,що зв`язана з окислюванням НАДН,прямо пропорційна активності ЛДГ у пробі [5].

Реактиви:

.Буферний розчин ЛДГ (P1) ph ( 7,4 ± 0,2) - 4 флакони з ( 20±1) мл

ТРІС( 62,5± 3,125) ммоль/л;

Піруват ( 1,5±0,075) ммольл;

ЕДТО ( 6,25 ±0,3125) ммольл; 1 флакон з (20±1)мл;

.Стабілізуючий розчин

гідроокис натрію 0,01 Н

.Субстрат НАДН 1 мікропробірка з ( 16±2)мг

Проведення аналізу:

Перед початком реакції кювету і розчини нагріти до необхідної температури протягом 5 хв.При вимірюванні оптичної щільності потрібно підтримувати постійну температуру ( ±0,5ºС).

Дослідження проводили за схемами,що представлені в таблицях 2.4., 2.5, 2.6.

Таблиця 2.4 Запуск реакції з субстратом

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Температура | Плюс 25ºС чи плюс 30ºС | плюс 37 ºС |
| Піпетувати,мкл | макро | мікро | макро | мікро |
| Буферний розчин ( Р1) Зразок | 4000 100 | 1000 20 | 4000 50 | 1000 10 |
| Перемішати,інкубувати 1 хв,потім додати |
| Розчин субстрату (Р2) | 1000 | 250 | 1000 | 250 |

Таблиця 2.5 Запуск реакції зразком

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Температура | Плюс 25ºС чи плюс 30ºС | Плюс 37ºС |
| Піпетувати,мкл | макро | мікро | макро | мікро |
| Монореактив ( Р1)+(Р2) Зразок | 5000 100 | 1000 20 | 5000 50 | 1000 10 |
| В обох випадках перемішати,визначити абсорбцію інкубаційної суміші 1,2 і 3 хв проти повітря або дистильованої води. Обчислити швидкість зміни оптичної щільності реакційного розчину- ΔΕ/хв. |
| Запуск реакції субстратом | Плюс 25ºС або 30ºС | Плюс 37ºС |
| Довжина хвилі,нм | Макро | Мікро | Макро | Мікро |
| 340 334 365 | 8095 8250 15000 | 10080 10275 18675 | 16030 16345 29705 | 20000 20390 37060 |
| Запуск реакції зразком | Плюс 25ºС або 30ºС | Плюс 37ºС |
| Довжина хвилі,нм | Макро або мікро | Макро або мікро |
| 340 334 365 | 8095 8250 15000 | 16030 16345 29705 |

Таблиця 2.6 Схема проведення аналізу з субстратом

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Запуск реації субстратом | Плюс 25ºС або 30ºС | Плюс 37ºС |
| Довжина хвилі,нм | Макро | Мікро | Макро | Мікро |
|  | 134,92 137,50 250,00 | 168,0 171,25 311,25 | 267,17 272,42 495,08 | 333,33 339,83 617,67 |
| Запуск реакції зразком | Плюс 25ºС або 30ºС | Плюс 37ºС |
| Довжина хвилі,нм | Макро або мікро | Макро або мікро |
| 340 334 365 | 134,92 168,0 137,50 171,25 250,00 311,25 | 267,17 333,33 272,42 339,83 495,08 617,67 |

2.6 Метод визначення активності гама-глутамілтранспептидази в гомогенаті та сечі щурів

Визначення активності гама-глутамілтранспептидази проводили за допомогою діагностичних наборів реактивів виробництва «Філісіт-Діагностика» (Україна, Дніпропетровськ).

Принцип методу: під дією гамма-глутамілтранспептидази глютаміновий залишок з γ L(+)-глутаміл-4-нітроаніліда переходить на діпептидний акцептор-гліцилгліцин. При цьому вилучається хромоген 4-нітроаналін.

Оптичну щільність реакційного розчину вимірюють після гальмування ферментативної реакції оцтовою кислотою.

Реактиви:

.Буферний розчин рН ( 8,0-8,3) 1 флакон з ( 50±2) мл

гліцилгліцин (0,5±0,005) ммоль/л

тріс(гідроксиметил)мінометан( 0,5±0,05) моль/л

.Оцтова кислота 2 флакони по ( 50±2) мл

.Калібратор

П-нітроанілін ( 5,4±0,06) ммоль/л 1 ампула (5,1±0,5) мл

.Субстрат наважкою або у розчині ( 10±0,5) мл 4 мікропробірки

γ-L-глутамілнітроанілід ( 240±5) 1 флакон

Проведення аналізу проводили за схемою,описана в табл.2.7.

Таблиця 2.7 Схема проведення аналізу

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Відміряти у пробірку,мл | Макро аналіз | Напів мікро аналіз |
|  | Дослідна проба | Холоста проба | Калібрувальна проба | Проба порівняння | Дослідна проба | Холоста проба | Калібрувальна проба | Проба порівняння |
| Робочий субстрат ний розчин | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Інкубують 5 хв при температурі плюс 37ºС |
| Сироватка крові | 0,10 | - | - | - | 0,5 | - | - | - |
| Інкубують точно 15 хвилин притемпературі плюс 37 ºС |
| Калібратор Розчин оцтової кислоти Сироватка крові Дистильована вода | - 6,00 - - | - 6,00 0,10 - | 0,05 6,00 - 0,05 | - 6,00 - 0,1 | - 3,00 - - | 0,05 3,00 - 0,025 | - 3,00 - 0,05 | - 3,00 0,05 0,05 |

Витримують 5 хв при кімнатній температурі.Вимірюють оптичну щільність дослідної проби Едосл- проти холостої проби.Оптичну щільність калібрувальної проби-проти проби порівняння.Забарвлення стабільне протягом 30 хв.

Розрахунок результатів:

Розрахунок результатів ведуть за формулою:

С= Едосл/Екал · 3,0 мккат/л

Де С-активність гамма-глутамілтранспептидази,мкат/л

,0-фактор перерахування,мкат/л

Едосл-оптична щільність дослідної проби,од.оптичної щільності

Екал-оптична щільність калібрувальної проби,од.опт.щільності

мкмоль( с ·л)=мкат/л=60 Мод/л( U/L)=3,6мкмоль/(год·мл)

2.7 Статистична обробка результатів

Статистичну обробку проводили з використанням програми Microsoft Exel з використанням методів математичної статистики, які розроблено для малих вибірок. Визначали середнє арифметичне , як більш вірогідне значення вимірюваної величини за формулою



де Σ- знак суми, Хi - результати окремого спостереженя, n - число варіанту.

З метою кількісної оцінки мінливості розраховували середнє квадратичне відхилення



де δ - середнє квадратичне відхилення, Хi - результати окремого спостереженя, n - число спостережень.

Середню квадратичну похибку сердньох арифметичної визначали за формулою



де m - середня похибка, δ - середнє квадратичне відхилення, n - число варіантів [26].

РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Зміна функціонального стану нирок при розвитку пухлини

За результатами дослідження було встановлено, що розвиток пухлини призводив до збільшення ваги нирок відносно ваги тіла щурів на 20% (в 1,2 рази) (рис.3.1).



\* - Р<0,05, відносно контрольної групи

Рис.3.1. Відносна вага нирок щурів, %

Введення всіх дослідних сполук зберігало цей показник на рівні групи Т8, а введення змішаних наночасток збільшувало відносну вагу нирок на 175% (в 2,75 рази), порівняно з контролем.

Такі зміни підтверджуються результатами досліджень, що вказують на збільшення відносної ваги нирок в 1,3 рази на десятий день після одноразового введення cPt щурам [52]. Це явище детально описано у сучасній нефрології і має назву компенсаторної гіпертрофії нирок [46]. Вважають, що збільшення ваги нирок пов’язане із адаптивним збільшенням розмірів нефрону, яке відбувається у відповідь на часткову втрату функціонуючих нефронів. Цей процес активується при дії токсичних речовин і ліків, метаболічних розладах організму, а також захворюваннях (цукровий діабет, пухлини, хвороби нирок) [29].

Існує думка, що головним механізмом ниркової гіпертрофії є прискорення синтезу протеїнів (структурні компоненти, сполучна тканина, ензими, стресові білки) та/або зниженням швидкості їхньої деградації [54]. Це є основною адаптивною відповіддю клітин на ушкодження, яка розвивається вже на 3 день після введення різних нефротоксикантів такі як протипухлинні сполуки, антибіотики, солі важких металів та інші [46].

Активація компенсаторних механізмів при токсичному ушкодженні нирок проявляються у прискоренні швидкості потоку плазми в гломерулах і підвищенням гломерулярного гідравлічного тиску [33,29]. Це має довготривалі шкідливі наслідки для нефронів, що зберегли свою цілісність, оскільки в кожному окремому нефроні відбувається зростання швидкості фільтрації, а також реабсорбції води і розчинених речовин [34]. Як наслідок, змінюється проникність плазматичних мембран, швидкість біохімічних процесів і хімічний склад внутрішньоклітинного і позаклітинного середовищ. Однією з найбільш достовірних ознак ураження паренхіми нирок є екскреція протеїнів з сечею (протеїнурія). За вираженістю протеїнурії оцінюють ступінь активності ураження нирок [46,51].

За результатами дослідження було встановлено, що розвиток пухлини призводив до збільшення концентрації загального білку в сечі на 145,7% (в 2,5 рази), порівняно з контролем (рис.3.2).



Рис.3.2.Зміна концентрації загального білку в сечі, мк/л

\* - P<0,05, відносно групи Т8

За результатами дослідження було встановлено, що розвиток пухлини призводив до збільшення концентрації загального білку в сечі на 145,7% (в 2,5 рази), порівняно з контролем.

Хоча, за літературними даними введення cPt щурам у терапевтичній дозі викликає збільшення концентрації протеїнів у сечі в 2 рази [51], нами не було знайдено даних щодо зміни цього показника. Нефротоксична дія cPt перш за все пов’язана зі специфічним накопиченням сполук платини в нирках. Є дані щодо наявності кореляції між акумуляцією платини в корі нирок і кількістю ушкоджених клітин [35]. Цей протипухлинний засіб переважно накопичується у нирках в перші 24 години і його концентрація зберігається впродовж наступних 72 годин, після чого відбувається повне виведення препарату з організму [55]. Отже, можна припустити, що по мірі виведення cPt з нирок відбувається регенерація ниркової тканини і поновлення їхнього функціонування та біохімічних процесів. Але, механізм протеїнурії складний і має багато причин. На ранніх стадіях розвитку більшості нефропатій до сечі потрапляють переважно низькомолекулярні плазматичні білки. Це обумовлено порушенням процесів фільтрації і ушкодженням гломерул (гломерулярна протеїнурія), або може бути пов’язане з канальцевим ушкодженням і змінами у процесі реабсорбції (тубулярна протеїнурія) [41,52]. Визначення ж протеїнів з високою молекулярною вагою більш характерно для вираженого ураження нирок [41]. Окрім цього, поява білків у сечі можлива через збільшення концентрації низькомолекулярних білків у плазмі крові (легкі ланцюги імуноглобулінів, гемоглобіну і міоглобіну), порушення у статевих залозах [41,52].

Тому, хоча цей показник найпершим реагує на будь-які зміни ниркового гомеостазу, але може використовуватись лише у якості загального маркеру стану сечостатевої системи, оскільки не вказує ні на ступінь ушкодження, а ні на локалізацію ушкодження [39].

Нефротоксична дія лікарських засобів та хімічних сполук часто носить локальний характер[38]. Більшість нефропатій, що супроводжуються протеїнурією асоційовані з прогресивним запаленням гломерул, що в кінцевому результаті призводить до їхнього лізису [55].

3.2 Зміна концентрації креатиніну в плазмі та сечі щурів

Стандартним маркером ушкодження гломерулярного апарату є рівень креатиніну в плазмі крові [35,46]. Ця сполука утворюється шляхом неферментативної дегідратації м’язового креатину. При цисплатиновій інтоксикації у тварин і людей концентрація цієї речовини збільшується в 2-3 рази вже через 2 доби [53], а найбільша концентрація відмічається на 4-5 добу після введення cPt у дозі 7,5 мг/кг. В цей період рівень креатиніну в плазмі крові збільшений у 5 разів порівняно з контрольною групою. В подальшому відбувається компенсаторне відновлення функції нирок і вже на сьому добу цей показник знижується вдвічі [41]. За результатами нашого експерименту, при розвитку пухлини і при корекції патологічного стану cPt відмічалось збільшення рівня креатиніну в плазмі крові порівняно з контрольною групою в 1,2 і 1,5 рази відповідно (рис.3.1).



Рис. 3.1. Концентрація ендогенного креатиніну в плазмі та сечі щурів та кліренс креатиніну, мкл/хв

\* - Р<0,05, відносно контрольної групи, # - Р<0,05, відносно контрольної групи

Отримані дані вказують на зменшення кліренсу креатиніну при розвитку пухлини на 30%,порівняно з контролем.

Введення cPt у розчині знижувало цей показник в 2,2 рази порівняно з групою Т8. Групі якій вводили цисплатин у наноліпосомах цей показник наближався до значення групи тварин з пухлиною.

Визначення кліренсу ендогенного креатиніну використовують для визначення швидкості гломерулярної фільтрації. Цей показник враховує зміни концентрації креатиніну в плазмі та сечі з урахуванням об’єму утвореної сечі за певний проміжок часу [35]. Вважається, що рівень очищення крові від цієї сполуки наближається до рівня істинної фільтрації в гломерулах. Основною перевагою цього показника є те, що він не залежить від дієти, фізичного навантаження або ушкодження м’язової тканини [44]. Більшість авторів при описанні захворювань нирок дотримуються думки, що при лікуванні онкологічних хворих цитостатиками відбувається зниження швидкості гломерулярної фільтрації [40,34].

За результатами нашого експерименту, при розвитку пухлини і при корекції патологічного стану [cPt]nl відмічалось зниження кліренсу креатиніну порівняно з контрольною групою на 28,4% і на 67,8% (в 1,3 і 1,7 рази) відповідно, порівняно з контрольною групою. Введення протипухлинної системи, змішаних наноліпосом та наночасток зберігало нормальний рівень цього показника.

Такі зміни у співставленні з результатами дослідження структурних змін вказують на токсичне ураження органу при використанні протипухлинного препарату cPt, як в розчинній так і наноліпосомній формі [44,52]. А саме, гіпертрофія нирок, рання протеїнурія і зниження швидкості гломерулярної фільтрації є комплексним проявом розвитку гострої ниркової недостатності, що характеризується розвитком запальних процесів, втратою функціональних структур нирок (склероз тканини) і збільшенням кількості сполучної тканин (фіброз) [52].

Застосування наноліпосом, навантажених комплексною сполукою ренію, змішаних наночасток та наноліпосом підтримувало нормальний рівень функціонування нирок при розвитку пухлини. Присутність Re у складі змішаних наноліпосом та наночасток зі співвідношенням компонентів 4:1, покращувало діяльність гломерулярного апарату нирок щурів з карциномою Герена Т8. В цій групі показники кліренсу креатиніну та відносної реабсорбції води відповідали контрольним значенням.

3.3 Активність лактатдегідрогенази в гомогенатi нирок щурів

За результатами дослідження було показазано, що в групі Т8 відбувалось незначне зменшення активності ЛДГ в порівнянні з контрольною групою (рис. 3.3)



\*- Р<0,05 відносно контрольної групи

Рис.3.3. Активність лактатдегідрогенази в гомогенаті нирок щурів, мМ/год на г тканини

При розвитку пухлини та введенні cPt, а також cPt[nl] відбувалось незначне зменшення активності ферменту, порівняно з групою Т8 та контролем. У групі пухлиносіїв, яким вводили Re активність ферменту підвищилася порівняно з контрольною групою.

Тваринам,яким вводили cPt та реній у Re[nl], [Re+cPt]np активність ферменту знизилась в 5,1 разів відповідно з контрольною групою.

До причин збільшення активності ЛДГ можна віднести наступні: гіпоперфузії нирок і гіпоксії, що може викликати збільшення експресії відповідних генів і посилення синтезу ензиму у нефроні; зміни ступеню зв’язування ЛДГ з іншими протеїнами; зміни хімічного складу середовища в цитоплазмі та мітохондріях клітин (рН, співвідношення електролітів).

3.3.1 Активність лактатдегідрогенази в сечі

За результатами дослідження було показазано, що активність ЛДГ в групі Т8 збільшилась в 1,71 разів в порівнянні з контрольною групою (рис.3.5).



\*- Р<0,05 відносно групи Т8

Рис.3.5.Активність лактатдегідрогенази в сечі щурів з пухлиною, ммоль/год

В групі тварин, яким вводили сРt активність ферменту збільшилась в 1,40 разів в порівнянні с Т8.

У групах пухлиноносіїв, яким вводили [cPt]nl,[Re]nl+cPt,[Re+cPt] nl концентрація ЛДГ знизилась в середньому 3,33 рази відповідно з контрольною групою тварин.В групі [Re+cPt]np концентрація даного ферменту знизилась в порівнянні з контрольною групою в 1,26 разів.

Токсична дія cPt проявляється в першу чергу в ушкодженні епітеліальних клітин щіткової кайми проксимальних канальців нефрона, яка відбувається внаслідок прямої цитотоксичної дії, інтраренальної вазоконстрикції та розвитку оксидативного стресу [42].

Саме в цьому відділі нефрона відбувається біотрансформація cPt, що обумовлено високим вмістом глутатіону та експресією ГГТП [47]. Цей ензим здійснює розщеплення кон’югатів глутатіону і платини з подальшим їх перетворенням на реактивні тіоли. З урахуванням специфічного накопичення cPt в проксимальних канальцях, такі зміни викликають виснаження пулу сірковмісних антиоксидантів і ферментів (в першу чергу в цитозолі і мітохондріях) з подальшим посиленням процесів окиснення [49,37]. При значній інтоксикації це може призводити до ушкодження інших частин нефрона вже внаслідок непрямої дії ксенобіотика [49,54].

3.4 Активність гама-глутамілтранспептидази в гомогенаті нирок щурів

Було показано,що активність ГГТП у групі Т8 підвищилася в 3 рази,порівняно з контрольною групою. При розвитку пухлини та введенні сРt активність ГГТП підвищилася в 3 рази порівняно з групою Т8 (рис.3.6).



\*- P<0,05,відносно контрольної групи

Рис.3.6. Активність гама-глутамілтранспептидази в гомогенаті нирок щурів,ммоль/год на г тканини

Застосування дослідних сполук не змінювало цей показник відносно групи Т8.

При введенні [Re]nl та cPt у системі наночасток активність ферменту підвищилася в 3,6 і 3,1разів відповідно.

Токсична дія cPt проявляється в першу чергу в ушкодженні епітеліальних клітин щіткової кайми проксимальних канальців нефрона, яка відбувається внаслідок прямої цитотоксичної дії, інтраренальної вазоконстрикції та розвитку оксидативного стресу [42].

Саме в цьому відділі нефрона відбувається біотрансформація cPt, що обумовлено високим вмістом глутатіону та експресією ГГТП [47]. Цей ензим здійснює розщеплення кон’югатів глутатіону і платини з подальшим їх перетворенням на реактивні тіоли. З урахуванням специфічного накопичення cPt в проксимальних канальцях, такі зміни викликають виснаження пулу сірковмісних антиоксидантів і ферментів (в першу чергу в цитозолі і мітохондріях) з подальшим посиленням процесів окиснення [49,37]. При значній інтоксикації це може призводити до ушкодження інших частин нефрона вже внаслідок непрямої дії ксенобіотика [49,54].

3.4.1 Активність гама-глутамілтранспептидази в сечі щурів

При дослідженні сечі виявлено, що активність ГГТП в групі Т8 підвищилася в 1,63 рази порівняно з контролем (рис.3.7).



\*- P<0,05,відносно контрольної групи

Рис.3.7. Зміна активності гама-глутамілтранспептидази в сечі щурів, ммоль/л

При використанні сPt активність ГГТП підвищилася в 7,5 разів в порівнянні з групою Т8. Введення [cPt]nl підвищувало рівень ферменту в 3,9 разів порівняно з групою Т8. У групі тварин, яким вводили сполуки Re активність ферменту знизилась в 1,8 разів в порівнянні з контролем.

Тваринам,яким вводили [Rе]nl активність ГГТП підвищилась порівняно з контрольною групою в 1,45 разів, при введенні пухлиноносіям Re та [Re+cPt]np активність ГГТП наближалася до контрольного значення.

Збільшення активності ГГТП при пухлинному рості та застосуванні cPt може свідчити про активацію γ-глутамілового циклу та посиленні розпаду глутатіонових кон’югатів, що показано низкою авторів при розвитку нефропатій під час застосування платинових препаратів, а також викликати лізис епітеліальних клітин проксимальних канальців і вихід цього лізосомального ензиму у міжклітинний простір [46,39,31,28].

Розділ IV.ОХОРОНА ПРАЦІ

.1 Характкристика лабораторії, де проводився експеримент

Експеримент проводився в біохімічній лабораторії, яка знаходиться в 17 корпусі Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара на кафедрі «Біохімії та біофізики» на 4 поверсі у 408 кабінеті.

Лабораторія представляє собою приміщення прямокутної форми, площею 25 м² ,в якій знаходяться 2 великих вікна площею 16 м², які виходять на північ.

В лабораторній кімнаті знаходяться наступні меблі:

 Лабораторні столи - 3 шт;

 Письмові столи- 1 шт;

 Стільці- 5 шт;

 Шафа з реактивами- 1 шт;

 Шафа з посудом-1 шт;

 Витяжна шафа-1 шт;

 Вішалка для одягу- 1 шт;

 Раковина-1 шт.

В приміщенні лабораторії знаходиться наступне діюче обладнання:

 Холодильник- 1 шт;

 Комп’ютер-1 шт;

 Дистилятор-1 шт;

 Центрифуга- 1 шт;

 рН-метр- 1 шт.

Лабораторний посуд: колби, піпетки , пробірки, , циліндри, памфлети, дозатори.

В лабораторії знаходиться 6 робочих місць.

Під час виконання експерименту я піддавалася впливу таких потенційно-небезпечних факторів як:

освітленню;

електричному струму;

шкідливим хімічним речовинам;

мікроклімату;

шуму;

пожежній безпеці.

Схема робочого місця



4.2 Освітлення

Освітлення - це отримання, розподіл та використання світлової енергії для забезпечення нормальних умов пр Лабораторія, у якій виконувалася експериментальна частина дипломної роботи, відноситься до категорії В, за вибухопожежною та пожежною небезпекою, за наявності горючих матеріалів площею 10м2, питоме пожежне навантаження складало 180 мДж/м2.

Освітлення повинне бути достатнім, тобто відповідати вимогам санітарних норм, рівномірним, не повинно осліплювати очі та створювати відблиски на робочій поверхні, за спектральним складом має наближатись до сонячного світла.

Згідно з Державних будівельних норм (ДБН) В.2.5-28-2006 о світлення буває природним, штучним та сумісним.

Сприятливим для організму є природне освітлення. Сумісне освітлення це таке освітлення, при якому в світлий час доби одночасно використовується природне та штучне освітлення. При цьому недостатнє за умовами зорової роботи природне освітлення постійно доповнюється штучним, яке задовольняє вимогам санітарних норм з проектування штучного освітлення приміщень з недостатнім природним освітленням.

Основною нормованою величиною природного освітлення є КПО, (є) - коефіцієнт природної освітленості.

Одиниця виміру освітленості - люкс (лк) - освітленість поверхні площею 5 = 1 м2 за умов світлового потоку Ф = 1 лм, який падає на неї.

Згідно ДБН В.2.5-28-2006 «Природне та штучне освітлення» для роботи в біохімічній лабораторії норми освітлення повинні бути 100-300лк при штучному освітленні, а при природному - 0,5-1,0% (бокове освітлення). Щоб забезпечити оптимальне освітлення стабілізують напругу живлення, жорстко кріплять світильники, застосовують спеціальні пристрої для включення світильників. Для системи загального освітлення застосовується рівномірне та локалізоване розміщення світильників.

Таблиця 1.

Нормативні значення мінімально допустимих рівнів освітленості

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Характеристика зорової роботи | Найменший розмір об'єкта розрізнення, мм | Розряд зорової роботи | Тривалість зорової роботи,% | Штучне освітлення | Природне освітлення | Освітлення робочої поверхні, лк Кп, | % КПО, | % прибічному |
| Дуже високої точності | 0,15-0,3 | ІІ | 70 | 500/400 | 10 | 1,5 | 1,2 |  |
| Високої точності | 0,3-0,5 | ІІІ | 70 | 300/200 | 15 | 20 | 1,0 | 0,7 |
| Середньої точності більше | 0,5 | ІV | 70 | 150/100 | 20 | 0,5 | 0.5 |  |

У лабораторії, в якій здійснювався експеримент було природне та штучне освітлення. Природне освітлення було обумовлене прямими сонячними променями через світлові прорізи в зовнішніх стінах, а штучне забезпечувалося лампами розжарювання. Ефакт.=150лк, КПО=1,0%.

4.3 Шкідливі хімічні речовини

Під шкідливою розуміється речовина, яка при контакті з організмом людини викликає виробничі травми, професійні захворювання або відхилення в стан здоров'я. Класифікація шкідливих речовин і загальні вимоги безпеки введені ГОСТ 12.1.007-76.

Під час експерименту я використовувала такі речовини як оцтова кислота та їдкий натрій.

Дія оцтової кислоти характеризується сильним набряком слизової оболонки шлунка, яка має темно-червоний колір . На відміну від сірчаної та хлористоводневої кислот, які діють одразу дуже великою кількістю Н-іонів, оцтова кислота діє невеликими порціями. І хоча одночасна дія Н-іонів виражена менше триває вона значно довше. Тож і тяжкість ураження буде досить великою.

Вплив оцтової кислоти на шкіру проявляється появою почервоніння і болю, згодом утворюються бруднувато-білі струпи. Перша допомога при опіках - рясне обмивання водою.

Вплив лугів на організм людини проявляється локальною дією,що викликає (омертвіння)некроз тільки тих ділянок шкірного покриву, на які вони потрапили. Дія лугів, особливо концентрованих, характеризується значною глибиною проникнення, оскільки вони розчиняють білок. У зв'язку з цим дуже небезпечне потрапляння лугу в очі: при запізнілою першої допомоги воно супроводжується повною втратою зору.

Їдкий натрій корозійно-активна речовина,яка проявляє їдку дію.
При попаданні на шкіру викликає хімічні опіки, а при тривалому впливі може викликати виразки та екземи. Сильно діє на слизові оболонки. Небезпечним є потрапляння їдкого натру в очі.

Луг змивається погано, промивання повинно бути тривалим (10-15 хв.) І ретельним. Для нейтралізації лугу,що проник в пори шкіри на уражене місце після промивання накладають пов'язку з марлі або ватяний тампон, просочені 5%-м розчином оцтової кислоти. Луг змивається погано, промивання повинно бути тривалим (10-15 хв.) І ретельним

Через 10 хв. пов'язку знімають, шкіру обмивають, обережно видаляють воду фільтрувальної папером або м'якою тканиною і змащують гліцерином для зменшення больових відчуттів.

Якщо луг потрапив в очі, негайно слід промити їх проточною водою протягом 15-20 хв. Після цього очі обполіскують 2%-м розчином борної кислоти і закопують під повіки альбуцид.

Гранично допустимі концентрації (ГДК) шкідливих речовин у повітрі робочої зони встановлені ГОСТ 12.1.005-88, а також ГДК затверджених Головним санітарним лікарем України після 01.01.1997 р.

Гранично допустима концентрація у повітрі робочої зони виробничих приміщень для оцтової кислоти становить 5 мг/м3 , для їдкого натру 0,5 мг/м3.

У приміщенні лабораторії, де здійснювалася експериментальна частина роботи ГДК становила для оцтової кислоти 2 мг/м3, для їдкого натру 0,3 мг/м3.

В процесі використання цих сполук усі заходи щодо дотримання правил безпеки работи з хімічними речовинами були здійснені.

4.4 Мікроклімат

Мікроклімат виробничих приміщень - умови внутрішнього середовища цих приміщень, що впливають на тепловий обмін працюючих з оточенням шляхом конвекції, кондукції, теплового випромінювання та випаровування вологи.

Параметри мікроклімату:

) температура повітря Т, 0С;

) відносна вологість Y, %;

) швидкість руху повітря V, м\с.

Значні коливання параметром мікроклімату можуть привести до порушення терморегуляції організму (здатність організму утримувати постійну температуру), що приводить до порушення системи кровообіг, загальної слабкості і т.п.

Нормування параметрів мікроклімату здійснюється згідно ДСН 3.3.6.042-99. Цей документ встановлює оптимальні і допустимі значення температури, відносної вологості та швидкості руху повітря, допустиму температуру внутрішніх поверхонь приміщення (стіни, стеля, підлога) і зовнішніх поверхонь технологічного обладнання, а також допустиму інтенсивність теплового випромінювання нагрітих поверхонь у приміщенні та відкритих джерел тепла (нагрітий метал, скло, відкритий вогонь тощо) для робочої зони - визначеного простору, в якому знаходяться робочі місця постійного або непостійного (тимчасового) перебування працівників.

Існують оптимальні умови мікроклімату для постійних робочих місць (табл. 2).

Таблиця 2.

Оптимальні величини параметрів мікроклімату в робочій зоні

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Період року | Категорія робіт | Температура повітря, °С | Відносна вологість, % | Швидкість руху повітря, м/с |
| Холодний період року | Легка І-б | 21-23 | 40-60 | 0,1 |
| Теплий період року | Легка І-б. | 22-24 | 40-60 | 0,2 |

Експериментальна частина диплому відбувалася в холодний період року, робота виконувалася за категорією I-б. У лабораторії дотримувалися оптимальні параметри мікроклімату: температура повітря +21 °С, відносна вологість 54%, швидкість руху повітря 0,1 м/c.

4.5 Шум

Виробничий шум - це хаотична сукупність різних за силою і частотою звуків, що виникають у повітряному середовищі і безпосередньо впливають на працездатність.

Шум як стрес-фактор є загальнобіологічним подразником, який негативно впливає на всі органи і системи організму. У разі тривалого систематичного впливу шуму може виникнути патологія з переважним ураженням слуху, центральної нервової і серцево-судинної систем.

На робочих місцях згідно з Державними санітарними нормами (ДСП) 3.3.6.037-99 «Санітарні норми виробничого звуку, ультразвуку та інфразвуку» шум визначають рівні звукового тиску в октавних смугах частот: 63, 125, 250, 500, . 1000,2000,4000 та 8000 Гц. Захист від шуму повинен досягатися шляхом створення шумобезпечної техніки (ГОСТ 12.1.003 -83, ДСН 3.3.6.037-99). Норми шуму в разі виконання розумової праці наведені в (табл. 3).

Таблиця 3 Норми шуму в разі виконання розумової праці

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Характер роботи | Середньо геометрична частота в октавній смузі, Гц | ДБА |
|  | 31,5 | 63 | 125 | 250 | 500 | 1000 | 2000 | 4000 | 8000 |  |
| Вимірювальні та аналітичні роботи в лабораторії. | 93 | 79 | 70 | 63 | 58 | 55 | 52 | 50 | 49 | 60 |

В лабораторії в котрій виконувалась практична частина дипломної роботи рівень шуму сягав 55 дБ.

4.6 Електробезпека

Електробезпека - система організаційних і технічних заходів та засобів, що забезпечують захист людей від шкідливої і небезпечної дії електричного струму, електричної дуги, електричного поля і статичної електрики (ГОСТ 12.1.009-76).

Електротравма - травма, спричинена дією на організм людини електричного струму і (або) електричної дуги (ГОСТ 12.1.009-76).
 Електротравматизм - явище, що характеризується сукупністю електротравм.

Відповідно до ПУЭ, приміщення за небезпекою електротравм поділяються на три категорії:

без підвищеної небезпеки;

з підвищеною небезпекою;

особливо небезпечні.

Відповідно до ГОСТ 12.1.038-82 установлені норми гранично допустимих напруги дотику та струму залежно від тривалості впливу, умов виконання робіт і режиму роботи електричних мереж. У таблиці 4 наведені ці рівні під час проходження струму від однієї руки до другої та від руки до ніг у разі нормального режиму роботи електроустановки для мережі до 1000 В із будь-яким режимом нейтралі і вище 1000 В з ізольованою нейтраллю.

Таблиця 4. Норми струму та напруги дотику

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Вид току | Нормоване значення | Граничнодопустимі рівні за тривалості ті пилу, г. |
|  |  | 0,1 | 0,5 | 0,7 | 1,0 | >1,0 |
| Перемінний 3 частотою 50 Гц | Струм, мА | 500 | 100 | 70 | 50 | 6 |
|  | Напруга дотику, В | 500 | 100 | 70 | 50 | 36 |

Лабораторія, де виконувався експеримент відноситься до приміщень з підвищеною небезпекою,тому що струмопровідна підлога в приміщенні має бетону основу. Всі правила техніки безпеки були дотримані.

4.7 Пожежна безпека

Пожежа - неконтрольоване горіння поза спеціальним вогнищем, яке призводить до матеріальної шкоди.

Пожежна безпека - стан об’єкта, при якому з регламентованою ймовірністю виключається можливість виникнення та розвиток пожежі і впливу на людей її небезпечних факторів, а також забезпечується захист матеріальних цінностей. Відповідно до ГОСТ 12.1.004.-91 пожежна безпека об'єкта повинна забезпечуватися системою запобігання пожежі, системою протипожежного захисту і системою організаційно-технічних заходів.

Відповідно до ОНТП 24-86 приміщення за вибухопожежною та пожежною небезпекою залежно від характеристик речовин, які використовують чи отримують під час виробництва та їх кількості, поділяють на 5 категорій: А, Б, В, Г та Д.

Категорія В (пожежонебезпечні) - виробництва, де використовують рідини, що горять та важко горять, пил і тверді матеріали й речовини, здатні горіти тільки у разі взаємодії з водою, киснем повітря або між собою за умови, що приміщення, в яких вони знаходяться або використовуються, не належать до категорій А та Б.

Лабораторія, у якій виконувалася експериментальна частина дипломної роботи, відноситься до категорії В, за вибухопожежною та пожежною небезпекою, за наявності горючих матеріалів площею S>10м2, питоме пожежне навантаження складало W > 180МДж/м2.

ВИСНОВКИ

Вивчено вплив сполуки диренію (ІІІ) ізобутиратними лігандами і цисплатину на діагностичні показники стану нирок у моделі пухлинного росту (Т8), показано вплив протипухлиної системи Реній-Платина у формі наноліпосом та наночасток на біохімічні маркери ушкодження нирок та їхнього функціонального стану, активність діагностичних ферментів у нирковому гомогенаті та сечі.

. При одноразовому введенні пухлиноносіям цисплатину у розчині та ренієвої сполуки за схемою антиоксидантної терапії у ліпосомній формі спостерігається збільшення швикості гломерулярної фільтрації до 2,0 разів і зменшення виходу діагностичних ферментів в сечу у порівнянні з групою тварин, яким вводився тільки цисплатин: лактатдегідрогенази - у 2,0-4,0 рази, гама-глутамілтранспептидази - до 6 разів при їхній активації у нирковій тканині.

2. При введенні наноліпосомних форм комплексних сполук Ренію за схемою антиоксидантної терапії щурам з пухлиною відмічалось зниження біохімічних маркерів в сечі, а саме: концентрації загальних протеїнів в середньому в 1,9 разів, активності лактатдегідрогенази - в 1,5 рази, активності гама-глутамілтранспептидази - в 1,6 рази, при їхній активації у тканині нирок, що підтверджує мембранопротекторну активність комплексів та відповідає результатам гістологічних досліджень.

. Введення протипухлинної системи в формі наноліпосом щурам з пухлиною знижувало відносну вагу нирок до 2,0 разів, рівень загального білку в нирках в середньому 2,5 рази, порівняно з групою тварин, яким вводили наноліпосомну форму цисплатину. Одночасно з цим, активність лактатдегідрогенази в сечі збільшувалась в 2,0-4,0 рази, порівняно з групою тварин, гама-глутамілтранспептидази - 2,0-12,0 разів, порівняно з групою щурів з пухлиною, яким вводили наноліпосомну форму цисплатину, і наближалась до контрольного рівня. При введенні змішаних наноліпосом, подібно до окремого введення протипухлинної системи, відмічалась активація цих діагностичних ензимів в нирковій тканині.

. Вперше показано, що використання змішаних наноліпосом, навантажених сполуками Ренію і Платини, супроводжується значним нефропротекторним ефектом кластерних сполук ренію та дозволяє варіювати співвідношенням компонентів всередині капсули без гострого негативного ефекту на біохімічні показники нирок.

. Проведені дослідження дають змогу рекомендувати комплексні сполуки Ренію у наноліпосомах як ефективні нефропротектори при терапії злоякісних новоутворень, а подальші дослідження допоможуть з’ясувати можливі механізми їхньої дії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Айвазян А.В. Пороки розвитку нирок і сечоводів /А.В. Айвазян //М: Наука.- 1998.- с. 447

. Головенко М.Я. Журнал академії медичних наук / М.Я, Головенко, І. Ю. Борисюк //Львів . -2009.- с.50

. Дударь І.Н. Інерстіціальній нефрит / І.Н. Дударь // К: Медінформ.-2001. - № 6 (10). - c. 20-22.

4. Мекертичан Ю.І.Здорові нирки / Ю. І Мекертичан, Л. Ю Мекертичан //М: Фенікс.- 2010. - c. 144.

. Пірога Л.А. Клінічна нефрологія / Л.А.Пірога / За ред. акад. АМН України, засл. діяча науки і техніки//К:Здоров`я.- 2004.- c.526 .

. Коен А. Захворювання нирок, токсичні ураження нирок. Heфpологія / А. Коен/// О: Астропринт -.1998 -. № 3.- c.117-142.

7. Колеснік М.О. Уpaжeнням ниpок: Особливості пepeбігy, діагностика,

лікування / Український peвмaтологічний жypнaл.-2001 -. № 1 (3) - c. 3-6.

. Колеснік М.О. Кpитepії пepeбігy ypaжeння ниpок у xвоpиx на

гeмоpaгічний васкуліт/ М.О Колеснік, І.І. Латинська /Уpолоriя//К:Медінформ. -1999 -. № 3.- c. 98-102.

. Меньшиков В.В. Лабораторні методи дослідження в клініці / В.В. Меньшиков// Москва.- 1987.- с.197.

. Лукічев Б.Г. Гостра ниркова недостатність / Б.Г. Лукічев, І.В.Федотова //Heфpологія.-1999.-№ 1.- c. 20-39.

. Манлик Р Б. Хвороби нирок / Р. Б. Манлик// Вістник Волгоградської медицинської академії.- 1994.- c. 167 .

. Маршалл В.Д. Клінічна біохімія/ В.Д Маршалл // Вид.Біном.- 2002.- с. 384.

. Налик С.В. Клінічна фармакологія/ С.В. Налик // Донецьк.-1997.- c. 470.

. Наточин Ю.В.Основи фізіології нирки. Практичний посібник / Наточин Ю.В. // Москва.- 1982.- с. 345 .

. Мойсюк Я.Г. Нефрологія / Я.Г. Мойсюк, Е.С.Столяревіч, Н.А .Томіліна // Мінськ: Наука та техніка.- 2009.- c. 629 - 682 .

. Понтюк О.О. Нефротоксичність лікарських засобів, клінічні прояви, патофізіологія, механізми / О.О.Понтюк , Н.І.Волощук, О.В.Машевська //

Укр. биохим. Журн.- 2000. - Т.72. - № 3. - c.77-81.

. Пелещук А.П. Пpaктична нeфpологія / А.П.Пелещук // Київ,Здоpов'я.- 1983. - c. 340 .

. Джеймс А.Н. Патофізіологія нирки / А. Джеймс, Шейман О.В.// Москва, Біном.- 2007 -. c. 446.

. Петрунь Н. М. Роль ізоферментів в діагностиці захворювань нирок Ізоферменти в медицині / Н. М. Петрунь // Київ: Здоров'я.- 1982.- c. 113-165.

. Пілотович В.С. Xpонічна ниркова недостатність / В.С. Пілотович -. Мінськ.- 1997.- c.44.

. Подимова С.Я. Хвороби нирок / С.Я. Подимова // Москва «Медицина.-1998.-с. 1060.

. Ратнер М.Я.Тубулоінтерстіціальний компонент хронічного гломерулонефриту: клініко-функціональна діагностика / М.Я. Ратнер, Бродський М.А., Зубкін М.Л.//Москва « Медицина».- 1991.- № 6.- с. 12-15.

. Рябов С.І. Heфpотичний синдpом / С.І .Рябов// М.: «Ньюдиамед АО».- 1992.- c. 325 .

. Дpоговоз С.М.Фapмaкотepaпія захворювань сечостатевої системи / С.М. Дpоговоз - Xapків: «Основа».- 1995. - c. 238 .

. Хашен Р. Нариси з патологічної біохімії / Р. Хашен, Д. Шейх// М.- пер. з англ. Вишщневецька П.А.- 1981.- с. 184 .

. Хіггінс К. Клінічні лабораторниі аналізи / К. Хіггінс; пер. з англ;.під ред. проф. В. Л. Емануеля. - 3-е вид, випр.// М.:Біномю.-2008. - с. 376.

. Чиж А.С. Основні синдpоми пpи зaхворюванняx нирок/ Heфpологія в тepaпевтичній практиці/ А.С. Чиж //М: Вища школа.-1994.-c. 93-145.

28. Яpошeвський А. А. Клінічна нeфpологія/ А. А. Яpошeвський// Л:.Медицина.- 1971.- c .344-345.

. Coe F. L., Korty P. R. / Protein synthesis during compensatory renal hyper- trophy / Amer. J. of Pathol. -1967. - 213, №6. - Р.1585-1592

. Chaudhury K., Das T., Chakravarty B., Bhattacharyya A. // Fertil. Steril.- 2005.- 83, №1. - P.104-109.

. Gasting D., Garba I. H., Adoga G. I. // Ind. J. of Clin. Biochem. - 2006. - 21, №2. - Р.42-48

. Guseppe D, Amiko L.Tubulointerstitium as prediktor of progression of Glomerular Diseases/ D Guseppe, L .Amiko Nefron.-1999. - P. 289-295.

. Eknoyan G. // Nefrolog. -2011. - 31, №4. - Р. 397- 403.

34. Hostetter T. H. Progression of renal disease and renal hypertrophy. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7778868> // Annu. Rev. Physiol. -1995. - Р. 263-278.

. Kawai Y., Taniuchi S., Okahara S., Nakamura M. et al. // Biol. Pharm. Bull.- 2005. - Р. 32-46.

. Lisowska-Myjak B. // Blood Purif. -2010. -29. -Р. 357-365.

. Levi J., Jacobs C., Kalman S. M., McTigue M. et al. // The J. of Pharmacol. And Experem ental Therap. - 1980. - 213, №3 - P. 545-550.

. Loh A. H. L., Cohen A. H. // Ann. Acad. of Med. - 2009. -38. - Р. 240-250.

. Pal S., Sadhu A. S., Patra S., Mukherjea K. // J. of Exp. & Clin. Canc. Res. - 2008.- Р. 27-32.

. Pather L. // Pediatr. Nephrol. - 2007.- Р.121-124.

. Raab W. P. // Clin. Chem.-1972. - Р. 5-25.

. Roncal C. A., Mu W., Croker B., Reungjui S. et al. // Am. J. Physiol. Ren. Physiol. -2007. -292. - Р.116-122.

. Sheikh-Hamad D. // Am. J. Physiol. Renal Physiol. - 2008. - 295. - P.42 - 43.

. Sirwal I. A., Banday K. A., Reshi A. R., Bhat M. A. et al. // J. K. Scien. -2004. Р. 32-44.

. Sheikh-Hamad D. // Am. J. Physiol. Renal Physiol. - 2008. -295. - P.42 -43.

. Schnellmann R. G. // J. Tox. Environ. Health. -1998. - №1. - Р. 81-90.

. Shtemenko N. I. // Chem. & Biodiv. - 2008. - №5. - P.1660-1667.

.Tate S. S., Grau E. M., Meister A. // Proc. Natl. Acad. Sci. -1979. -76, №6. - Р. 2715 - 2719.

.Tejani A. Relapsing nephrotic syndrome/ A. Tejani Nephron. - 1997. - Vol. 45. № 2. - P.81-85.

.Townsend D. M., Deng M., Zhang L., Lapus M. G. et al. // J. Am. Soc. Nephrol. - 2003. -14. - Р.1-10.

. Teller J. K., Fahien L. A., Davis J. W. // J. Biol. Chem. -1992. - 267, №15. - P.10423-10432.

.Vaidya V. S., Ramirez V., Ichimura T., Bobadilla N. A. et al. // Am. J. Physiol Renal Physiol. -2006. -290, №1.- Р.517-529.

.Yasuno K., Ishihara S., Saito R., Ishikawa M. et al. // J. Vet. Med. Sci. -2010. - 72, №10. - Р. 319-1327.

. Ze-Jun Lie, Wei-cong Peng, Xin Yang et al. // J. of Chromatog. - 2003. -793. - P.405-412.

. Zafar M., Naqvi N. Altered kidney morphology and enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats.// Int. J. Morphol. -2010.- 28, №1. - Р.135-142.