
МЕТАБОЛИЗМ ОКСИДА АЗОТА В ПОЧКАХ

Ю.А. Белоус

Кафедра психотерапии и наркологии ФПКМР
Российский университет дружбы народов
Ул. Миклухо-Макля, 21, корп. 3, Москва, Россия, 117198

И.А. Комаревцева

Кафедра медицинской химии ЛГМУ
Квартал 50-летия Оборона Луганска, 1, Луганск, Украина, 91045

Е.В. Комаревцева

Кафедра хирургии и урологии ЛГМУ
Квартал 50-летия Оборона Луганска, 1, Луганск, Украина, 91045

Цель исследования — изучить уровень NO и соотношение нитритов и нитратов в клетках почечной ткани при экспериментальной острой почечной недостаточности. Содержание нитрит- и нитрат-ионов проводилось реакцией диазотирования, в качестве восстановителя для нитратов использовалась цинковая пыль. Результаты исследования показали, что в клетках почечной ткани при экспериментальной ОПН уровень NO повышается, а соотношение $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ при этом неоднозначно.

Ключевые слова: оксид азота, нитрит- и нитрат-ионы, почки, ОПН.

Оксид азота (NO) является одним из наиболее важных биологических медиаторов, который вовлечен во множество физиологических и патофизиологических процессов. Он представляет собой уникальный по своей природе и механизмам действия вторичный мессенджер, действующий в большинстве клеток организма. В частности, оксид азота участвует в реализации многих важных физиологических функций, таких как вазодилатация, нейротрансмиссия, снижение агрегации тромбоцитов, реакции иммунной системы, регуляция тонуса гладких мышц, состояние памяти и др., а также некоторых патологических процессов [4, 6, 8].

Термином «оксид азота» (или «окись азота») обозначается восстановленная форма монооксида азота (NO) с периодом полураспада от 2 до 30 с. NO представляет собой растворимый в воде и жирах бесцветный газ с уникальными физиологическими свойствами. В химическом отношении NO представляет собой маленькую липофильную молекулу, состоящую из одного атома азота и одного атома кислорода и имеющую непарный электрон, что превращает ее в высокореактивный радикал, свободно проникающий через биологические мембраны и легко вступающий в реакции с другими соединениями [6, 7].

В организме NO синтезируется клетками из аминокислоты L-аргинин [9]. Этот процесс представляет собой комплексную окислительную реакцию, катализируемую ферментом NO-синтазой (NOS), которая присоединяет молекулярный кислород к конечному атому азота в гуанидиновой группе L-аргинина.

В настоящее время идентифицированы три изоформы NOS. Как уже было отмечено, в различных отделах почки представлены все три изоформы NOS,

и продуцируемый с их участием NO играет одну из ключевых ролей ее физиологии [1, 2]. Как было недавно установлено, NO является важным регулятором почечной гемодинамики и гломерулярной фильтрации [10], ингибирует транспорт натрия и увеличивает его экскрецию.

Клиренс NO происходит путем образования нитритов NO_2 и нитратов NO_3 .

Также NO играет роль в развитии и поддержании патологических процессов, особенно в почке [5].

В настоящей работе был исследован уровень стабильных метаболитов оксида — нитритов и нитратов в почечной ткани при экспериментальной острой почечной недостаточности.

Материалы и методы. Опыты проведены на белых крысах-самцах в возрасте 16 недель. Животные были разделены на 3 экспериментальные группы и 1 контрольную. Острую почечную недостаточность у крыс вызывали путем внутримышечного введения 50% раствора глицерина из расчета 10 мл на 1 кг веса. Животные забивались декапитацией на 1-е, 2-е, 3-е стуки. Осуществлялся забор ткани почек, из которой готовился гомогенат. Далее проводился диализ в течение 1,5—2 часов. После его окончания отбирался и измерялся объем диализата. Перед анализом на нитриты и нитраты в диализате проводили осаждение белков смесью 0,5 н раствор KOH и 5% раствора ZnSO_4 в объемном соотношении 2 : 5. Содержание нитритов определяли с помощью реактива Грисса [3]. В пробу $V = 10$ мл добавляли 1 мл реактива Грисса при $t = 5$ °C, пробирка интенсивно встряхивалась и через 15 мин. развивалась окраска. Далее проводилось спектрофотометрирование при $\lambda = 540$ нм на СФ-46, контролем служил дистиллят. Поскольку реакция диазотирования является специфической только на нитриты, то для определения нитратов необходимо их предварительное восстановление. В качестве восстановителя использовали цинковую пыль. В пробирку к диализату добавляли 0,3 г «сухого восстановителя» и приливали 5 мл 12% раствора уксусной кислоты. Процесс восстановления происходил одновременно при $t = 5$ °C. Через 10 мин. пробирки центрифугировали, отбирали супернатант и проводили спектрофотометрирование при $\lambda = 540$ нм против «холостой пробы» (обработанной аналогично).

Концентрацию нитрит- и нитрат-ионов рассчитывали по формуле:

$$\frac{\text{NO}_2^-}{\text{NO}_3^-} = \frac{B \cdot X_1}{A \cdot X_2},$$

где B — содержание NO_2^- (NO_3^-), найденное по калибровочным кривым; A — навеска ткани; X_1 — общий объем диализата; X_2 — объем пробы для NO_2^- , NO_3^- .

Достоверность различий между экспериментальными значениями оценивали по t -критерию Стьюдента.

Результаты исследований. По нашим данным (рис. 1), после развития острой почечной недостаточности в клетках почек наблюдалось значительное увеличение концентрации NO_2^- (NO_3^-) по сравнению с группой контроля. При этом динамика изменения NO выявлялась неоднозначной: с увеличением уровня NO от первых суток ко вторым и снижением его к третьим суткам.

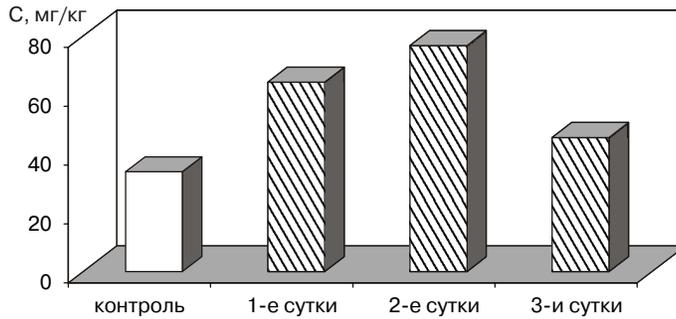


Рис. 1. Содержание оксида азота в клетках почечной ткани при экспериментальной ОПН

Как видно из рис. 2, 3, изменение содержания нитрит- и нитрат-ионов в клетках почечной ткани оказалось различным. Концентрация NO_2^- в группах одно- и трехсуточных животных была снижена по сравнению с контрольной группой, а максимум этого показателя наблюдался на вторые сутки. Содержание нитрат-ионов во всех опытных группах было повышенным в сравнении с контрольными животными. Но динамика уровня NO_3^- была аналогичной: от первых суток ко вторым — плавное увеличение, а к третьим суткам — резкое снижение.

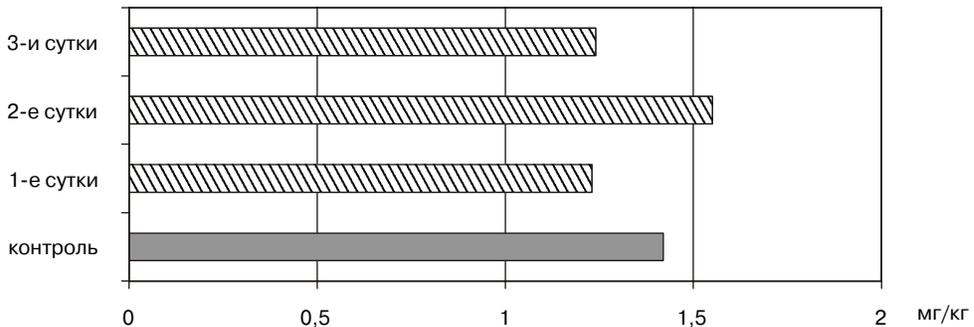


Рис. 2. Концентрация нитрит-ионов в клетках почечной ткани

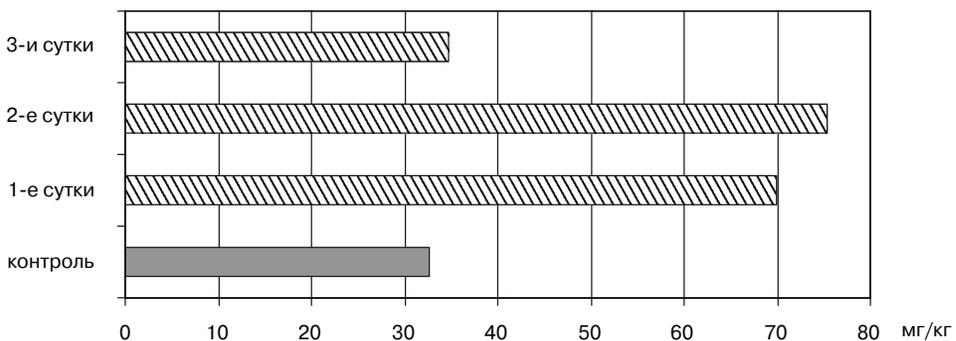


Рис. 3. Концентрация нитрат-ионов в клетках почечной ткани

Обобщая полученные данные, можно сделать вывод, что острая почечная недостаточность (ОПН) сопровождается повышенным содержанием оксида азота в клетках почек. При этом уровень нитритов в начале развития патологии значительно понижается, а уровень нитратов — повышается.

При дальнейшем развитии ОПН динамика $\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$ — однонаправленная. Данные результаты позволяют предположить, что в начальной фазе ОПН цитотоксический эффект оксида азота преобладает над цитопротекторным.

Очевидно, что дальнейшее изучение роли NO в норме и при патологии почек приведет к углублению знаний о патогенез болезней, а отсюда — к появлению новых методов их терапии.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Марков Х.М. О биорегуляторной системе L-аргинин — окись азота // Патол. физиология и эксперим. — 1996. — № 1. — С. 34—39.
- [2] Новиков В.С. Программированная косточная гибель. — СПб.: Наука, 1996. — С. 11—17.
- [3] Орлова Е.А., Комаревцев В.Н. Определение фрагментации ДНК в клетках почечной ткани // Акт. проблемы акушерства и гинекологии, клинической иммунологии и мед. генетики. — 2001. — Вып. 6. — С. 206—209.
- [4] Орлова Е.А. Анализ нитритов и нитратов в ткани почек при экспериментальной острой почечной недостаточности // Украинський журнал екстремальної медицини. — 2001. — Т. 3. — № 1. — С. 72—74.
- [5] Albina I.E., Cui S., Mateo R.B. et al. Nitric oxide — mediated apoptosis in murine peritoneal macrophages // J. Immunol. — 1993. — V. 150. — P. 5080—5085.
- [6] Baylis C., Bloch J. Nitric oxide in renal physiology and pathophysiology // Nephrol Dial Transplant. — 1996. — № 11. — P. 55—57.
- [7] Bachmann S., Mundel P. Nitric oxide in the kidney: synthesis, localization, and function // Am. J. Kidney Dis. — 1994. — Vol. 24. — P. 112—129.
- [8] Friedman A., Brewer T., Feld L. et al. Nitric oxide: from molecular biology to clinical nephrology // Pediatr. Nephrol. — 1998. — Vol. 12. — № 6. — P. 504—511.
- [9] Lowenstein C.J., Dinerman J.L., Snyder S.H. Nitric oxide: a physiologic messengers // Ann. Intern. Med. — 1994. — Vol. 120. — P. 227—237.
- [10] Malyshev I.Yu., Manukhina E.B. Review: stress, adaptation and nitric oxide // Fiziol. Zn. im. I.M. Sechenova. — 1996. — № 82. — С. 54—60.

METABOLISM OF OXIDE OF NITROGEN IS IN BUDS

Y.A. Belous

Department of psychotherapy and narcology FIPMS
Peoples Friendship University of Russia
Miklukho-Maclaya str., 21, k. 3, Moscow, Russia, 117198

I.A. Komarevtseva

Department of medical chemistry LGMU
50 let Oboroni Luganska boulevard, Lugansk, Ukraine, 91045

E.V. Komarevtseva

Department of surgery and urology LGMU
50 let Oboroni Luganska boulevard, Lugansk, Ukraine, 91045

The purpose of research — to study a level NO both interrelation of nitrites and nitrates in cells of kidney at experimental acute renal failure.

The contents nitrite and nitrate of ions was conducted by reaction of diazotization, the reducing agent for nitrates used zinc dust.

The resaltes of investigation has shown, that in cells of kidney at experimental acute renal failure the level NO is increased, and the interrelation $\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$ thus is ambiguous.