

Вплив негазового ацидозу і алкалозу на стан необмеженого протеолізу крові та тканин

Ю.В. Перепелиця,
В.А. Міхньов,
М.В. Кришталь,
І.М. Трофимова

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

Резюме. Ацидоз супроводжує багато клінічних станів, таких як цукровий діабет, гіпоксія, хронічна ниркова недостатність, рак, тяжка травма і сепсис. Мета — вивчення змін протеолітичної активності крові та тканин в умовах хронічного експериментального негазового ацидозу й алкалозу та порівняння їх із показниками стану гіпофізарно-надниркової системи під час хронічного негазового ацидозу та алкалозу. **Матеріал і методи.** Досліди проводили на 60 інтактних білих безпородних щурах-самцях масою 120-180 г, яких утримували на збалансованому раціоні в умовах віварію. Хронічний негазовий гіперхлоремічний ацидоз моделювали щодобовим внутрішньошлунковим введенням за допомогою зонду протягом 30 діб 20 ммоль/кг NH_4Cl , а хронічний негазовий алкалоз — 30 ммоль/кг NaHCO_3 . Контрольним тваринам вводили водопровідну воду в тому ж об'ємі. Евтаназію тварин проводили під легким ефірним наркозом шляхом декапітації. Стабілізацію крові здійснювали 3,8% розчином натрію цитрату. **Результати.** У сироватці крові лізис азоальбуміну (розпад низькомолекулярних протеїнів), лізис азоказеїну (розпад високомолекулярних протеїнів) та лізис азоколу (лізис колагену) під час хронічного негазового алкалозу майже не відрізняється від норми. Проте при хронічному негазовому ацидозі лізис азоальбуміну підвищується в 3,6 раза (контроль — $1,635 \pm 0,717 E_{440}/\text{год/мл}$, дослід — $5,985 \pm 0,812 E_{440}/\text{год/мл}$, $p < 0,05$), лізис азоказеїну — у 3,1 раза (контроль — $1,638 \pm 0,465 E_{440}/\text{год/мл}$, дослід — $5,110 \pm 0,691 E_{440}/\text{год/мл}$, $p < 0,05$), а лізис азоколу — у 2,6 раза (контроль — $1,865 \pm 0,445 E_{440}/\text{год/мл}$, дослід — $4,776 \pm 0,552 E_{440}/\text{год/мл}$, $p < 0,05$). Незначне підвищення лізису азоальбуміну, азоказеїну та азоколу в гомогенаті тканини печінки при хронічному алкалозі є статистично не вірогідним. Проте при хронічному негазовому ацидозі лізис азоальбуміну підвищується в 3,7 раза (контроль — $1,793 \pm 0,542 E_{440}/\text{год/г}$, дослід — $6,446 \pm 0,747 E_{440}/\text{год/г}$, $p < 0,05$), лізис азоказеїну — у 3,8 раза (контроль — $1,781 \pm 0,605 E_{440}/\text{год/г}$, дослід — $6,504 \pm 0,889 E_{440}/\text{год/г}$, $p < 0,05$), а лізис азоколу — у 2,7 раза (контроль — $1,879 \pm 0,454 E_{440}/\text{год/г}$, дослід — $4,999 \pm 0,779 E_{440}/\text{год/г}$, $p < 0,05$). У гомогенаті тканини нирки за такої зміни кислотно-основного стану, як алкалоз, лізис азоальбуміну, азоказеїну й азоколу майже не відрізняються від норми. Проте при ацидозі лізис азоальбуміну підвищується в 4 рази (контроль — $1,793 \pm 0,542 E_{440}/\text{год/г}$, дослід — $6,814 \pm 0,674 E_{440}/\text{год/г}$, $p < 0,05$), лізис азоказеїну — у 3 рази (контроль — $1,986 \pm 0,642 E_{440}/\text{год/г}$, дослід — $5,631 \pm 0,850 E_{440}/\text{год/г}$, $p < 0,05$) та лізис азоколу — у 3,2 раза (контроль — $1,929 \pm 0,577 E_{440}/\text{год/г}$, дослід — $6,279 \pm 0,579 E_{440}/\text{год/г}$, $p < 0,05$). **Висновки.** При хронічному негазовому ацидозі відбувається значна активізація необмеженого протеолізу в крові та тканинах, що забезпечує нирковий амоніогенез амінокислотним субстратом, і призводить до атрофії м'язової тканини.

Ключові слова: негазовий ацидоз, негазовий алкалоз, необмежений протеоліз, гіпофізарно-надниркова система.

Ацидоз, який супроводжує багато клінічних станів (таких як гіпоксія, хронічна ниркова недостатність, цукровий діабет, рак, тяжка травма й сепсис), та відтворення негазового ацидозу в експериментах на лабораторних тваринах часто пов'язані з втратою маси тіла за рахунок м'язової тканини, що супроводжується зменшенням сироваткового білка та негативним балансом азоту [1-7]. Це є наслідком як зменшення синтезу білків у печінці, так і підсиленням їх розпадом [1, 3-8].

Втрата м'язової маси погіршує перебіг хвороби і якість життя пацієнтів. Гіпопротеїнемія призводить до набряків, а руйнування білкового матрикса кісток — до їх переломів. Тому важливим є визначення механізмів, які призводять до руйнування білків при ацидозі, що сприятиме розробленню методів профілактики атрофії скелетних м'язів, набряків і розвитку остеопорозу.

Хоча причини втрати білка в організмі під час ацидозу можуть бути багатофакторними, сучасні дослідження вказують на те, що при ацидозі посилюється розпад білків [3, 9-11]. Більш того, протеоліз білка і зниження його синтезу є необхідною передумовою для забезпечення функціонування механізмів корекції негазових порушень кислотно-основного стану.

Як відомо, головною ознакою негазового ацидозу є зменшення в сироватці крові гідрокарбонату натрію, який використовується для нейтралізації кислот, що утворюються в процесі метаболізму або мають екзогенне походження. Завдяки гідрокарбонатному буферу кислоти потрапляють у нирки у вигляді натрієвих солей. Відповідно, корекція такого порушення кислотно-основного стану повинна полягати у виведенні з організму аніонів нелетких кислот і в регенерації гідрокарбонатного буфера. Ця кислотовидільна функція здійснюється в каналцях нефронів нирок за допомогою механізмів селективної реабсорбції та секреції іонів. Під час ацидозу нирки збільшують реабсорбцію катіонів натрію разом з аніонами гідрокарбонату, що утворюються в нефроцитах у процесі карбоангідразної реакції, внаслідок чого здійснюється регенерація гідрокарбонатного буфера.

Одночасно з цими процесами підвищується каналцева секреція і виведення з організму

аніонів нелетких кислот. Видалення з сечею більшої частини аніонів нелетких кислот без втрати натрію забезпечується обміном його на іони амонію, що утворюються *de novo* в нефроцитах проксимальних каналців нефрону із глутаміну в процесі амоніогенезу. Це підтверджується значним збільшенням екскреції іонів амонію з сечею під час експериментального негазового ацидозу та її зменшенням під час алкалозу [3]. Як відомо, глутамін утворюється переважно в м'язах з інших амінокислот і в умовах ацидозу переважно захоплюється і використовується нирками.

Таким чином, для забезпечення кислото-видільної функції нирок під час негазового ацидозу необхідно постійно підтримувати пул амінокислот, що може бути здійснено лише за рахунок підсилення протеолізу білків м'язів, кісток і крові. Вважається, що розпад м'язових білків під час ацидозу відбувається переважно за допомогою АТФ-залежного убіквітин-протеасомального протеолізу [2, 5-7]. Фізіологічно протеасома є складною мультикаталітичною протеїназою структурою клітини, що відповідає за руйнування пошкоджених або непотрібних білків. За таких умов білки, що підлягають руйнуванню, як правило, попередньо зв'язуються зі специфічним поліпептидом убіквітином. Під час ацидозу спостерігається підвищена експресія мРНК убіквітина, підвищення кількості субодиниць протеасоми, що надмірно активує деградацію білка [13].

В експериментах на щурах також було показано, що гіперхлоремічний, молочнокислий та кетоацидоз під час голодування підвищують активність еластази сироватки крові та тканин аорти [12], що, на нашу думку, вказує на участь необмеженого лізосомального протеолізу в руйнуванні білків під час ацидозу та потребує більш глибокого вивчення.

Іншим фактором, який сприяє деградації білків під час ацидозу, є підвищення активності гіпофізарно-надниркової системи. Досліди на щурах довели, що стрес і глюкокортикоїди вірогідно активують нирковий амоніогенез, а гіпофізектомія його пригнічує [13]. Вважається, що протеасомальний протеоліз м'язових білків також активується глюкокортикоїдами [2, 5, 6]. Крім цього, глюкокортикоїди зв'язуються з фосфатидилінозитол-3-кіназою,

Оригінальні дослідження

що призводить до пригнічення фосфорилування білка Akt, який необхідний для синтезу внутрішньоклітинного сигнального білка. Зі зменшенням фосфорильованих білків Akt відбувається зниження синтезу білка і, як наслідок, втрата м'язової маси [6].

Виходячи з наведених даних, можна дійти висновку, що ацидоз є стресорним фактором, який викликає гіперпродукцію глюкокортикоїдів, які, зі свого боку, є потужними стимуляторами протеолізу білків і ниркового амоніогенезу. Відомо, що введення глюкокортикоїдів у фармакологічних дозах призводить до пригнічення синтезу білка і посилення деградації міофібрилярних білків незалежно від метаболічного ацидозу. Також можливо, що іони водню під час ацидозу самі активують системи обмеженого і необмеженого протеолізу без індукції секреції глюкокортикоїдів. Ці питання потребують подальшого вивчення.

Мета роботи — вивчення стану протеолітичної активності крові та тканин в умовах хронічного експериментального негазового ацидозу та алкалозу і порівняння їх із показниками стану гіпофізарно-надниркової системи під час хронічного негазового ацидозу та алкалозу.

Матеріал і методи

Досліди проводили на 60 інтактних білих безпородних щурах-самцях масою 120-180 г, яких утримували на збалансованому раціоні в умовах віварію. Хронічний негазовий гіперхлоремічний ацидоз моделювали щодобовим внутрішньошлунковим введенням за допомогою зонду протягом 30 діб 20 ммоль/кг NH_4Cl , а хронічний негазовий алкалоз — 30 ммоль/кг NaHCO_3 . Контрольним тваринам вводили водопровідну воду в тому ж об'ємі. Евтаназію тварин проводили під легким ефірним наркозом шляхом декапітації. Стабілізацію крові здійснювали 3,8% розчином натрію цитрату.

Активність необмеженого протеолізу плазми крові та тканин печінки та нирки визначали за допомогою наборів реактивів фірми «Simko Ltd» (Україна) в $\text{E}_{440}/\text{год}/\text{мл}$ чи $\text{E}_{440}/\text{год}/\text{г}$ відповідно, використовуючи колорогенні сполуки: азоальбумін (оцінка лізису низькомолекулярних білків), азоказеїн (оцінка лізису низькомолекулярних білків) і азокол (оцінка лізису колагену).

Принцип методу полягає в тому, що за інкубації протеїнових азосполук у присутності активаторів та інгібіторів протеолізу, які містяться в плазмі крові та тканинах, відбувається розпад азоальбуміну, азоказеїну і азоколу, інтенсивність якого оцінювали за ступенем забарвлення інкубаційного середовища на спектрофотометрії СФ-46 («ЛОМО», Росія) при довжині хвилі 440 нм [14].

Результати досліджень обробляли статистично з використанням програми «Medstat».

Підготовку тварин до експериментів та інвазивне втручання проводили згідно з вимогами «Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» від 18.03.1986 р., Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV від 21.02.2006 р. і наказом Міністерства освіти і науки України «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» № 249 від 01.03.2012 р.

Результати та обговорення

При хронічному негазовому алкалозі лізис азоальбуміну, азоказеїну та азоколу в сироватці крові щурів майже не відрізняється від норми (**табл. 1**). Проте при хронічному негазовому ацидозі лізис азоальбуміну підвищується в 3,6 раза (контроль — $1,635 \pm 0,717 \text{ E}_{440}/\text{год}/\text{мл}$, дослід — $5,985 \pm 0,812 \text{ E}_{440}/\text{год}/\text{мл}$, $p < 0,05$), лізис азоказеїну — у 3,1 раза (контроль — $1,638 \pm 0,465 \text{ E}_{440}/\text{год}/\text{мл}$, дослід — $5,110 \pm 0,691 \text{ E}_{440}/\text{год}/\text{мл}$, $p < 0,05$), а лізис азоколу — у 2,6 раза (контроль — $1,865 \pm 0,445 \text{ E}_{440}/\text{год}/\text{мл}$, дослід — $4,776 \pm 0,552 \text{ E}_{440}/\text{год}/\text{мл}$, $p < 0,05$).

При хронічному алкалозі незначне підвищення лізису азоальбуміну, азоказеїну та азоколу в гомогенаті тканини печінки є статистично не вірогідним. Проте при хронічному негазовому ацидозі лізис азоальбуміну підвищується в 3,7 раза (контроль — $1,793 \pm 0,542 \text{ E}_{440}/\text{год}/\text{г}$, дослід — $6,446 \pm 0,747 \text{ E}_{440}/\text{год}/\text{г}$, $p < 0,05$), лізис азоказеїну — у 3,8 раза (контроль — $1,781 \pm 0,605 \text{ E}_{440}/\text{год}/\text{г}$, дослід — $6,504 \pm 0,889 \text{ E}_{440}/\text{год}/\text{г}$, $p < 0,05$) і лізис азоколу — у 2,7 раза (контроль — $1,879 \pm 0,454 \text{ E}_{440}/\text{год}/\text{г}$, дослід — $4,999 \pm 0,779 \text{ E}_{440}/\text{год}/\text{г}$, $p < 0,05$) (**табл. 2**).

При алкалозі лізис азоальбуміну, азоказеїну та азоколу в гомогенаті тканини нирки майже не відрізняються від норми (табл. 3). Проте за ацидозу лізис азоальбуміну підвищується

Таблиця 1. Показники протеолітичної активності плазми крові під час зміни кислотно-основного стану ($M \pm m$, E_{440} /год/мл, $n=20$)

Table 1. Indicators of proteolytic activity of blood plasma during change in acid-base balance ($M \pm m$, E_{440} /h/ml, $n=20$)

Показник Index	Лізис азо- альбуміну Lysis of azoalbumin	Лізис азоказеїну Lysis of azocasein	Лізис азоколу Lysis of azocol
Контроль / Control	1,635 $\pm$ 0,717	1,638 $\pm$ 0,465	1,865 $\pm$ 0,445
Ацидоз / Acidosis	5,985 $\pm$ 0,812*	5,110 $\pm$ 0,691*	4,776 $\pm$ 0,552*
Алкалоз / Alkalosis	2,206 $\pm$ 0,462	1,907 $\pm$ 0,616	1,795 $\pm$ 0,542

Примітка: * — статистично вірогідна різниця порівняно з контролем ($p<0,05$).

Note: * — statistically significant difference compared with the control ($p<0,05$).

Таблиця 2. Показники протеолітичної активності тканини печінки під час зміни кислотно-основного стану ($M \pm m$, E_{440} /год/г, $n=20$)

Table 2. Indicators of proteolytic activity of liver tissue during change in acid-base balance ($M \pm m$, E_{440} /h/g, $n=20$)

Показник Index	Лізис азо- альбуміну Lysis of azoalbumin	Лізис азоказеїну Lysis of azocasein	Лізис азоколу Lysis of azocol
Контроль / Control	1,793 $\pm$ 0,542	1,781 $\pm$ 0,605	1,879 $\pm$ 0,454
Ацидоз / Acidosis	6,446 $\pm$ $\pm$ 0,747*	6,504 $\pm$ $\pm$ 0,889*	4,999 $\pm$ $\pm$ 0,779*
Алкалоз / Alkalosis	2,516 $\pm$ 0,4322	2,666 $\pm$ 0,825	2,368 $\pm$ 0,662

Примітка: * — статистично вірогідна різниця порівняно з контролем ($p<0,05$).

Note: * — statistically significant difference compared with the control ($p<0,05$).

Таблиця 3. Показники протеолітичної активності тканини нирки під час зміни кислотно-основного стану ($M \pm m$, E_{440} /год/г, $n=20$)

Table 3. Indicators of proteolytic activity of kidney tissue during change in acid-base status ($M \pm m$, E_{440} /h/g, $n=20$)

Показник Index	Лізис азо- альбуміну Lysis of azoalbumin	Лізис азоказеїну Lysis of azocasein	Лізис азоколу Lysis of azocol
Контроль / Control	1,793 $\pm$ 0,542	1,986 $\pm$ 0,642	1,929 $\pm$ 0,577
Ацидоз / Acidosis	6,814 $\pm$ 0,674*	5,631 $\pm$ 0,850*	6,279 $\pm$ 0,579*
Алкалоз / Alkalosis	2,691 $\pm$ 0,628	2,680 $\pm$ 0,719	1,618 $\pm$ 0,528

Примітка: * — статистично вірогідна різниця порівняно з контролем ($p<0,05$).

Note: * — statistically significant difference compared with the control ($p<0,05$).

в 4 рази (контроль — 1,793 $\pm$ 0,542 E_{440} /год/г, дослід — 6,814 $\pm$ 0,674 E_{440} /год/г, $p<0,05$), лізис азоказеїну — у 3 рази (контроль — 1,986 $\pm$ 0,642 E_{440} /год/г, дослід — 5,631 $\pm$ 0,850 E_{440} /год/г, $p<0,05$) і лізис азоколу — у 3,2 рази (контроль — 1,929 $\pm$ 0,577 E_{440} /год/г, дослід — 6,279 $\pm$ 0,579 E_{440} /год/г, $p<0,05$).

Результати дослідження демонструють, що при хронічному негазовому ацидозі відбувається значна активізація необмеженого протеолізу в крові та тканинах, що забезпечує нирковий амоніогенез амінокислотним субстратом і приводить до руйнування тканин, зокрема й м'язової [3-7, 9-11].

Наші попередні дослідження показали, що як хронічний негазовий ацидоз, так і хронічний негазовий алкалоз є стресорними факторами, які збільшують вдвічі концентрацію кортикотропіну в крові, що приводить до підвищення секреції глюкокортикоїдів [15]. Між тим, протеолітична активність крові та тканин зростає лише при ацидозі, що свідчить про те, що підвищення необмеженого протеолізу за умов хронічного негазового ацидозу не опосередковано дією глюкокортикоїдів.

Висновки

1. Хронічний негазовий ацидоз супроводжується значною активацією необмеженого протеолізу в крові та тканинах, що сприяє забезпеченню ниркового амоніогенезу амінокислотним субстратом і, як наслідок, збереженню необхідної кількості натрію та відновленню гідрокарбонатного буфера, що був витрачений на нейтралізацію кислот за ацидозу.
2. При хронічному негазовому алкалозі протеолітична активність крові та тканин майже не відрізняється від норми, що свідчить про те, що підвищення необмеженого протеолізу за умов хронічного негазового ацидозу не опосередковано дією глюкокортикоїдів.

Список використаної літератури

1. Ballmer PE, McNurlan MA, Hulter HN, Anderson SE, Garlick PJ, Krapf R. Chronic metabolic acidosis decreases albumin synthesis and induces negative nitrogen balance in humans. J Clin Invest. 1995 Jan;95(1):39-45.
2. Workeneh BT, Mitch WE. Review of muscle wasting associated with chronic kidney disease. Am J Clin Nutr. 2010 Apr;91(4):1128S-32S.

Оригінальні дослідження

3. Кришталь МВ. Вплив хронічного ацидозу на білковий обмін. Фізіол журн. 2003;49(5):58-62. (Kryshtal MV. Effect of chronic acidosis on protein metabolism. Fiziol Zh. 2003;49(5):58-62. Ukrainian).
4. Caso G, Garlick BA, Casella GA, Sasvary D, Garlick PJ. Acute metabolic acidosis inhibits muscle protein synthesis in rats. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2004 Jul;287(1): E90-6.
5. May RC, Kelly RA, Mitch WE. Metabolic acidosis stimulates protein degradation in rat muscle by a glucocorticoid-dependent mechanism. J Clin Invest. 1986 Feb;77(2):614-21.
6. Sukhanov S, Semprun-Prieto L, Yoshida T, Michael Tabony A, Higashi Y, Galvez S, Delafontaine P. Angiotensin II, oxidative stress and skeletal muscle wasting. Am J Med Sci. 2011 Aug;342(2):143-7.
7. Thomas SS, Mitch WE. Mechanisms stimulating muscle wasting in chronic kidney disease: the roles of the ubiquitin-proteasome system and myostatin. Clin Exp Nephrol. 2013 Apr;17(2):174-82.
8. Bailey JL. Metabolic acidosis and protein catabolism: mechanisms and clinical implications. Miner Electrolyte Metab. 1998;24(1):13-9.
9. Кришталь МВ. Порушення кислотно-основного стану. В: Зайко МН, Биць ЮВ, Кришталь МВ, редактори. Патолофізіологія: підручник. 6-е видання. К: Медицина, 2017. с. 152-61. (Kryshtal MV. Disorders of acid-base balance. In: Zayko MN, Byts YuV, Kryshtal MV, editors. Pathophysiology: textbook. Sixth edition. Kyiv: Medicine, 2017. p. 152-61. Ukrainian).
10. Кришталь МВ, Гоженко АІ, Сірман ВМ. Патолофізіологія нирок: навчальний посібник. Одеса: Фенікс, 2020. 144 с. (Kryshtal MV, Gozhenko AI, Sirman VM. Pathophysiology of kidney: Tutorial. Odesa: Phoenix, 2020. 144 p. Ukrainian).
11. Кришталь МВ. Патолофізіологія кислотно-основного гомеостазу. В: Кришталь МВ, Міхнев ВА, редактори. Патолофізіологія: підручник. Київ: Медицина, 2017. с. 122-31. (Krishtal NV. Pathophysiology of acid-base homeostasis. In: Krishtal NV, Mikhnev VA, editors. Pathophysiology: textbook. Kyiv: Medicine; 2017. p. 122-31. Ukrainian).
12. Трофимова ІМ, Досенко ВС, Биць ЮВ. Активність еластази та її інгібіторів у тканинах аорти та сироватці крові при різних видах ацидозу. Фізіол журн. 2001;47(6):24-9. (Trofimova IM, Dosenko VE, Byts YuV. Activity of elastase and its inhibitors in tissues of aorta and blood serum in different types of acidosis. Fiziol Zh. 2001;47(6):24-9. Ukrainian).
13. Кришталь НВ, Гоженко АІ. Роль гіпофізарно-надпочечникової системи в регуляції кислотопродукційної функції нирок. Фізіол журн. 1989;35(1):59-62. (Krishtal NV, Gozhenko AI. Significance of the hypophysial-adrenal system in regulation of the renal acid-secreting function. Fiziol Zh. 1989;35(1):59-62. Russian).
14. Магальяс ВМ, редактор. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень Центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії: навчально-методичний посібник. Чернівці: Буковинська державна медична академія, 2001. 42 с. (Mahalias VM, editors. Modern methods of experimental and clinical research of the Central Research Laboratory of the Bukovinian State Medical Academy: tutorial. Chernivtsi: Bukovinian State Medical Academy, 2001. 42 p. Ukrainian).
15. Кришталь НВ, Гареева ЭГ. Механизмы нарушения метаболизма углеводов при изменениях кислотно-щелочного состояния. Бюл эксп биол и мед. 1993;116(9):248-9. (Kryshtal NV, Gareeva EG. The mechanism of carbohydrate metabolic disorders during changes in acid-base balance. Bull Exp Biol Med. 1993;116(9):248-9. Russian).

Влияние негазового ацидоза и алкалоза на состояние неограниченного протеолиза крови и тканей

Ю.В. Перепелица, В.А. Михнев, Н.В. Крышталь, И.Н. Трофимова

Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца

Резюме. Ацидоз сопровождается много клинических состояний таких, как сахарный диабет, гипоксия, хроническая почечная

недостаточность, рак, тяжелая травма и сепсис. **Цель** — изучение изменений протеолитической активности крови и тканей в условиях хронического экспериментального негазового ацидоза и алкалоза с сопоставлением их с полученными ранее показателями гипоталамико-надпочечниковой системы при хроническом негазовом ацидозе и алкалозе. **Материал и методы.** Исследования проводили на 60 интактных белых беспородных крысах-самцах массой 120-180 г, которых содержали на сбалансированном рационе вивария. Хронический негазовый гиперхлоремический ацидоз моделировали ежесуточным внутривенным введением с помощью зонда в течение 30 суток 20 ммоль/кг NH_4Cl , а хронический негазовый алкалоз — 30 ммоль/кг NaHCO_3 . Контрольным животным в том же объеме вводили водопроводную воду. Эвтаназию животных проводили под легким эфирным наркозом путем декапитации. Стабилизация крови осуществлялась 3,8% раствором натрия цитрата. **Результаты.** В сыворотке крови лизис азоальбумина (распад низкомолекулярных протеинов), лизис азоказеина (распад высокомолекулярных протеинов) и лизис азокола (лизис коллагена) при хроническом негазовом алкалозе почти не отличается от нормы. Однако при хроническом негазовом ацидозе лизис азоальбумина повышается в 3,6 раза (контроль — $1,635 \pm 0,717 E_{440}/\text{год}/\text{мл}$, опыт — $5,985 \pm 0,812 E_{440}/\text{год}/\text{мл}$, $p < 0,05$), лизис азоказеина — в 3,1 раза (контроль — $1,638 \pm 0,465 E_{440}/\text{год}/\text{мл}$, опыт — $5,110 \pm 0,691 E_{440}/\text{год}/\text{мл}$, $p < 0,05$), а лизис азокола — в 2,6 раза (контроль — $1,865 \pm 0,445 E_{440}/\text{год}/\text{мл}$, опыт — $4,776 \pm 0,552 E_{440}/\text{год}/\text{мл}$, $p < 0,05$). В гомогенате ткани печени при хроническом алкалозе незначительное повышение лизиса азоальбумина, азоказеина и азокола есть статистически не вероятным. Однако при хроническом негазовом ацидозе лизис азоальбумина повышается в 3,7 раза (контроль — $1,793 \pm 0,542 E_{440}/\text{ч}/\text{г}$, опыт — $6,446 \pm 0,747 E_{440}/\text{ч}/\text{г}$, $p < 0,05$), лизис азоказеина — в 3,8 раза (контроль — $1,781 \pm 0,605 E_{440}/\text{ч}/\text{г}$, опыт — $6,504 \pm 0,889 E_{440}/\text{ч}/\text{г}$, $p < 0,05$), а лизис азокола — в 2,7 раза (контроль — $1,879 \pm 0,454 E_{440}/\text{ч}/\text{г}$, опыт — $4,999 \pm 0,779 E_{440}/\text{ч}/\text{г}$, $p < 0,05$). В гомогенате ткани почки при таком изменении кислотно-основного состояния как алкалоз, лизис азоальбумина, азоказеина и азокола почти не отличаются от нормы. Однако при ацидозе лизис азоальбумина повышается в 4 раза (контроль — $1,793 \pm 0,542 E_{440}/\text{ч}/\text{г}$, опыт — $6,814 \pm 0,674 E_{440}/\text{ч}/\text{г}$, $p < 0,05$), лизис азоказеина — в 3 раза (контроль — $1,986 \pm 0,642 E_{440}/\text{ч}/\text{г}$, опыт — $5,631 \pm 0,850 E_{440}/\text{ч}/\text{г}$, $p < 0,05$) и лизис азокола — в 3,2 раза (контроль — $1,929 \pm 0,577 E_{440}/\text{ч}/\text{г}$, опыт — $6,279 \pm 0,579 E_{440}/\text{ч}/\text{г}$, $p < 0,05$). **Выводы.** При хроническом негазовом ацидозе происходит значительная активизация неограниченного протеолиза как в крови, так и в тканях, что обеспечивает почечный амниогенез аминокислотным субстратом и приводит к атрофии мышечной ткани.

Ключевые слова: негазовый ацидоз, негазовый алкалоз, неограниченный протеолиз, гипоталамико-надпочечниковая система.

Influence of non-gaseous acidosis and alkalosis on the of unlimited proteolysis of blood and tissues

Yu.V. Perepelytsia, V.A. Mikhnev, M.V. Krishtal,
I.M. Trofimova

Bogomolets National Medical University

Abstract. Many clinical conditions, such as diabetes, hypoxia, chronic renal failure, cancer, severe trauma, and sepsis are accompanied by acidosis. **The aim** of the study was to study the changes in proteolytic activity of blood and tissues under conditions of chronic experimental non-gaseous acidosis and alkalosis, and comparison of them with the previously obtained indicators of the pituitary-adrenal system in chronic non-gaseous acidosis and alkalosis. **Material and methods.** The experiments were carried out on 60 intact white outbred male rats weighing 120-180 g, which were kept on a balanced diet of vivarium. Chronic non-gaseous hyperchloremic acidosis was simulated by daily intragastric administration with a probe for 30 days 20 mmol/kg NH_4Cl , and chronic non-gaseous alkalosis — 30 mmol/kg NaHCO_3 . The control animals were injected with the same amount of tap water. Euthanasia of animals was performed under light ether anesthesia by decapitation. Stabilization of blood was carried out with 3.8% sodium citrate solution. **Results.** Lysis of azoalbumin (breakdown of low molecular weight proteins), lysis of azocasein (breakdown of high molecular weight proteins) and lysis of azocol (lysis of collagen) in chronic non-gaseous alkalosis are almost no different from normal in the serum. However, in chronic non-gaseous acidosis, the lysis of azoalbumin increases in 3.6 times (control — $1.635 \pm 0.717 E_{440}/\text{h/ml}$, experiment — $5.985 \pm 0.812 E_{440}/\text{h/ml}$, $p < 0.05$), the lysis of azocasein increases in 3.1 times (control — $1.638 \pm 0.465 E_{440}/\text{h/ml}$, experiment — $5.110 \pm 0.691 E_{440}/\text{h/ml}$, $p < 0.05$), and the lysis of azocol increases in 2.6 times (control — $1.865 \pm 0.445 E_{440}/\text{h/ml}$, experiment — $4.776 \pm 0.552 E_{440}/\text{h/ml}$, $p < 0.05$). A slight increase in the lysis of azoalbumin, azocasein and azocol is not statistically significant in the homogenate of liver tissue in chronic alkalosis. However, in chronic non-gaseous acidosis lysis of azoalbumin is increased by 3.7 times (control — $1.793 \pm 0.542 E_{440}/\text{h/g}$, experiment — $6.446 \pm 0.747 E_{440}/\text{h/g}$, $p < 0.05$), lysis of azocasein increases in 3.8 times (control — $1.781 \pm 0.605 E_{440}/\text{h/g}$, experiment — $6.504 \pm 0.889 E_{440}/\text{h/g}$, $p < 0.05$), and the lysis of azocol increases in 2.7 times (control — $1.879 \pm 0.454 E_{440}/\text{h/g}$, experiment — $4.999 \pm 0.779 E_{440}/\text{h/g}$, $p < 0.05$). In the homogenate of the kidney tissue with such a change in the acid-base state as alkalosis, lysis of azoalbumin, azocasein and azocol almost do not differ from the norm. However, in acidosis, the lysis of azoalbumin is increased by 4 times (control — $1.793 \pm 0.542 E_{440}/\text{h/g}$, experiment — $6.814 \pm 0.674 E_{440}/\text{h/g}$, $p < 0.05$), the lysis of azocasein is increased by 3 times (control — $1.986 \pm 0.642 E_{440}/\text{h/g}$, experiment — $5.631 \pm 0.850 E_{440}/\text{h/g}$, $p < 0.05$) and lysis of azocol increased by 3.2 times (control — $1.929 \pm 0.577 E_{440}/\text{h/g}$, experiment — $6.279 \pm 0.579 E_{440}/\text{h/g}$, $p < 0.05$). **Conclusions.** There is a significant activation of unlimited proteolysis in both the blood and tissues, providing renal ammonio-

genesis with amino acid substrate, and leads to the tissue destruction, including muscular ones during chronic non-gaseous acidosis.

Keywords: non-gaseous acidosis, non-gaseous alkalosis, unlimited proteolysis, hypophysial-adrenal system.

Для цитування: Перепелиця ЮВ, Міхньов ВА, Кришталь НВ, Трофимова ІМ. Вплив негазового ацидозу і алкалозу на стан необмеженого протеолізу крові та тканин. Ендокринологія. 2021;26(1):42-48. DOI: 10.31793/1680-1466.2020.26-1.42.

Адреса для листування: Перепелиця Юлія Володимирівна; perepelytsia.yuliia@gmail.com; Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, бульв. Тараса Шевченка, 13, Київ 01601, Україна.

Відомості про авторів: Перепелиця Юлія Володимирівна, старший викладач кафедри патофізіології, ORCID: 0000-0003-1818-6264; Міхньов Володимир Анатолійович, д-р мед. наук, проф., професор кафедри патофізіології, ORCID: 0000-0001-8164-7671; Кришталь Микола Васильович, д-р мед. наук, проф., професор кафедри патофізіології, ORCID: 0000-0002-4218-2266; Трофимова Ірина Миколаївна, канд. мед. наук, доцент кафедри патофізіології, ORCID: 0000-0001-9811-9445.

Особистий внесок: Ю.В. Перепелиця — аналіз літературних джерел, набір і обчислювання матеріалу, аналіз результатів і написання тексту; В.А. Міхньов — визначення напрямку дослідження і консультація під час виконання дослідження; М.В. Кришталь — визначення дизайну дослідження, консультація під час виконання дослідження і редагування статті; І.М. Трофимова — аналіз літературних джерел, обчислювання матеріалу і переклад резюме.

Фінансування: дослідження проведені в рамках бюджетного фінансування Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця.

Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття: надійшла до редакції 21.01.2021 р.; перероблена 12.02.2021 р.; прийнята до друку 04.03.2021 р.; надрукована 30.03.2021 р.

Для цитування: Перепелиця ЮВ, Міхнев ВА, Кришталь НВ, Трофимова ІМ. Влияние негазового ацидоза и алкалоза на состояние неограниченного протеолиза крови и тканей. Эндокринология. 2021;26(1):42-48. DOI: 10.31793/1680-1466.2020.26-1.42.

Адрес для переписки: Перепелиця Юлия Владимировна; perepelytsia.yuliia@gmail.com; Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, бульвар Тараса Шевченко, 13, Киев 01601, Украина.

Сведения об авторах: Перепелиця Юлия Владимировна, старший преподаватель кафедры патофизиологии, ORCID: 0000-0003-1818-6264; Михнев Владимир Анатольевич, д-р мед. наук, проф., чл.-корр. НАМН Украины, профессор кафедры патофизиологии, ORCID: 0000-0001-8164-7671; Крышталь Николай Васильевич, д-р мед. наук, проф., профессор кафедры патофизиологии ORCID: 0000-0002-4218-2266; Трофимова Ирина Николаевна, канд. мед. наук, доцент кафедры патофизиологии ORCID: 0000-0001-9811-9445.

Личный вклад: Ю.В. Перепелица — анализ литературных источников, набор и вычисления материала, анализ результатов и написание текста; В.А. Михнев — определение направления исследования и консультация при выполнении исследования; М.В. Кришталь — определение дизайна исследования, консультация при выполнении исследования и редактирование статьи; И.М. Трофимова — анализ литературных источников, вычисления материала и перевод резюме.

Оригінальні дослідження

Финансирование: исследования проведены в рамках бюджетного финансирования Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца.

Декларация по этике: авторы задекларировали отсутствие конфликта интересов и финансовых обязательств.

Статья: поступила в редакцию 21.01.2021 г.; переработана 12.02.2021 г.; принята в печать 04.03.2021 г.; напечатана 30.03.2021 г.

For citation: Perepelytsia YV, Mykhnev VA, Kryshtal NV, Trofymova IM. Influence of non-gaseous acidosis and alkalosis on the state of unlimited proteolysis of blood and tissues. Endokrynologia. 2021;26(1):42-48 DOI: 10.31793/1680-1466.2020.26-1.42.

Correspondence address: Perepelytsia Yuliia Volodymyrivna; perepelytsia.yuliia@gmail.com; O.O. Bogomolets National Medical University, Taras Shevchenko Blvd, 13, Kyiv 01601, Ukraine.

Information about the authors: Perepelytsia Yuliia Volodymyrivna, Senior Lecturer of Department of Pathophysiology, ORCID: 0000-0003-1818-6264; Mykhnev Volodymyr Anatoliyovych, Dr. Sci. (Medicine),

Prof., Cor. Member of the NAMN of Ukraine, Professor of Department of Pathophysiology, ORCID: 0000-0001-8164-7671; Kryshtal Mykola Vasylovych, Dr. Sci. (Medicine), Prof., Professor of Department of Pathophysiology, ORCID: 0000-0002-4218-2266; Trofymova Iryna Mykolaivna, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor of Department of Pathophysiology, ORCID: 0000-0001-9811-9445.

Authors' contributions: Y.V. Perepelytsia — analysis of literary sources, selection and calculation of material, analysis of results, writing the text; V.A. Mykhnev — determining the direction of the study and consultation during the study; M.V. Kryshtal — determining the design of the study, consultation during the study, editing the article; I.M. Trofymova — analysis of literary sources, calculation of material, translation of resumes.

Funding: the study was conducted within the budget funding of the O.O. Bogomolets National Medical University.

Declaration of ethics: the authors have declared no conflict of interest and financial obligations.

Article: received 21 January 2021; revised 12 February 2021; accepted 04 March 2021; published 30 March 2021.