

Н.В. Мотина¹, В.М. Брюханов², О.В. Азарова³, А.Ю. Жариков²,
С.В. Талалаев¹, В.П. Булгаков⁴, С.А. Федорев⁵, Н.П. Мищенко⁵,
Ю.Г. Мотин¹

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПОЧКАХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ НЕФРОЛИТИАЗЕ НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ МААКИИ АМУРСКОЙ

N.V. Motina, V.M. Brukhanov, O.V. Azarova, A.Yu. Zharikov, S.V. Talalaev,
V.P. Bulgakov, S.A. Fedoreev, N.P. Mishenko, Yu.G. Motin

MORPHOLOGICAL CHANGES IN KIDNEYS OF RATS WITH EXPERIMENTAL NEPHROLITHIASIS. A CASE OF PROLONGED USE OF CELL CULTURE MAACKIA AMURENSIS

Кафедры ¹ гистологии, ² фармакологии, ³ общей химии Алтайского государственного медицинского университета, ⁴ Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения РАН, ⁵ Тихоокеанский институт биоорганической химии Дальневосточного отделения РАН, г.Барнаул, г.Владивосток, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Определение закономерностей патоморфологических изменений почки при этиленгликолевой модели оксалатного нефролитиаза в условиях длительного применения препарата Маакии амурской (*Maackia amurensis*). **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Экспериментальная модель оксалатного нефролитиаза была выполнена на 34 крысах линии Wistar обоего пола с массой тела от 180 до 250 г. Проведено морфологическое исследование почек 34 крыс линии Wistar. Выявление микролитов кальция проводили путем импрегнации серебром по методу Косса. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Установлено, что длительное применение препарата в условиях этиленгликолевой модели оксалатного нефролитиаза приводит к уменьшению размеров и числа кальциевых депозитов в дистальных отделах нефрона. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Применение экстракта клеточной культуры Маакии амурской вызывает уменьшение размеров и числа кальциевых депозитов в условиях этиленгликолевой модели оксалатного нефролитиаза и, возможно, потенцирует выведение кальциевых микролитов.

Ключевые слова: экспериментальный нефролитиаз, морфология почки, Маакия амурская (*Maackia amurensis*).

ABSTRACT

THE AIM. Determination of patterns of pathological changes in the kidneys of ethylene glycol model oxalate nephrolithiasis in prolonged use of the drug *Maackia amurensis*. **MATERIAL AND METHODS.** Experimental model oxalate nephrolithiasis was performed on 34 Wistar rats of both sexes weighing from 180 to 250 g. A morphological study of kidneys 34 rats was performed. Identification microlites calcium was determined by silver impregnation by Koss method. **RESULTS.** Established that prolonged use of the drug in terms of ethylene glycol oxalate nephrolithiasis model reduces the size and number of calcium deposits in the distal nephron. **CONCLUSION.** Application of cell culture extract *Maackia amurensis* causes a decrease in the size and number of calcium deposits in a model of ethylene glycol oxalate nephrolithiasis and possibly potentiates the excretion of calcium microliths.

Key words: experimental nephrolithiasis, kidney morphology, *Maackia amurensis*.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время от 5 до 10% населения экономически развитых стран мира страдают мочекаменной болезнью, отмечается продолжающийся рост заболеваемости [1–3]. Одна из причин этого заключается в отсутствии эффективного воздействия на этиологические и патогенетические

факторы образования и роста камней. Высокая распространенность мочекаменной болезни обуславливает актуальность исследований, связанных с выявлением отдельных звеньев ее этиопатогенеза, лечения и профилактики.

Установлено, что кристаллы солей кальция являются субстанцией, способной индуцировать тканевые реакции в эпителии дистальных почечных канальцев и собирательных трубок. Воспалительные изменения, возникающие в них, являются ре-

Мотина Н.В. 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, д.40, Алтайский государственный медицинский университет, кафедра гистологии. Тел.: (3852) 26-08-64; E-mail ymotin@mail.ru

зультатом повреждающего воздействия кристаллов кальция оксалата и кальция фосфата. Это создает условия для адгезии кристаллов солей и формирования очага кристаллизации с последующей активизацией процессов агрегации и образования депозита. Продолжение роста и увеличение камня происходит уже в просвете чашечно-лоханочной системы, вплоть до клинически значимых размеров [4]. Морфологическая перестройка тканей почки усугубляется оксидативным повреждением, стимулятором которого могут быть кальциевые депозиты. Установлено, что внеклеточный компартмент большинства биологических тканей менее защищен от оксидативного повреждения, чем клетки [5].

Согласно современным данным, натуральные растительные антиоксиданты оказывают протективный эффект в случаях оксидативного повреждения и токсического поражения почки [6]. В этом контексте наш интерес к препарату клеточной культуры Маакии амурской (*Maackia amurensis*) был продиктован двумя причинами. Во-первых, ранее в наших экспериментах, как и в опытах других исследователей, были выявлены антиоксидантные и диуретические свойства растения [7, 8]. Во-вторых, установлено, что Маакия амурская содержит так называемые лектины, протеины, способные специфически связывать сиаловую кислоту, которая, в свою очередь, является мощным активатором процесса кристаллизации в почках [9].

Цель исследования. Определить морфологические признаки динамики этиленгликолевого оксалатного нефролитиаза у крыс в условиях длительного применения препарата клеточной культуры Маакии амурской.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальная модель оксалатного нефролитиаза была выполнена на 34 крысах линии Wistar обоего пола с массой тела от 180 до 250 г. Исследование проведено в соответствии с правилами работы с лабораторными животными.

Все животные были разделены на 3 группы по 10–12 крыс. Животные первой группы на фоне стан-

дартной диеты получали в качестве питья 1% раствор этиленгликоля в течение 21 сут, что индуцировало развитие экспериментального оксалатного нефролитиаза. Данная модель мочекаменной болезни является общепринятой и наиболее адекватно имитирует нефролитиаз человека [10,11]. У животных второй группы моделировали экспериментальный нефролитиаз в течение 6 нед. Животные третьей группы после 3-недельного потребления этиленгликоля на протяжении последующих 3 нед получали экстракт клеточной культуры Маакии амурской в дозе 10 мг/кг внутрь. При этом животные продолжали потреблять этиленгликоль.

Для гистологического исследования животных декапитировали под эфирным наркозом по общепринятым методам. Материалом исследования послужила почка крысы. Орган фиксировали в 10% растворе формалина, обрабатывали по стандартной методике, заливали в парафин. Поперечные срезы через почечный сосочек толщиной 6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Оценивали характер изменений коркового и мозгового вещества почки: состояние сосудистых клубочков, капсулы почечного тельца, канальцев нефронов, собирательных трубок.

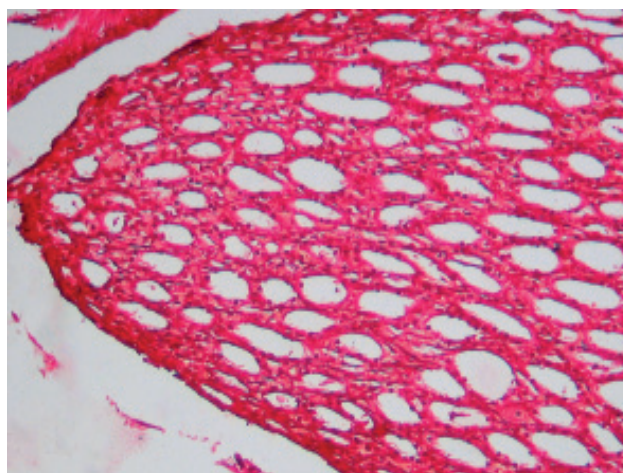
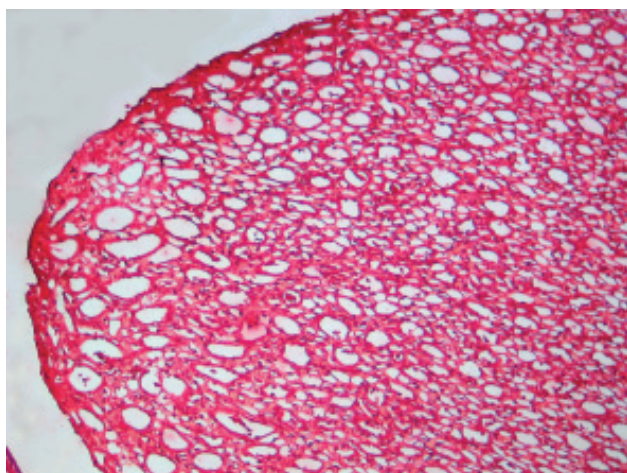
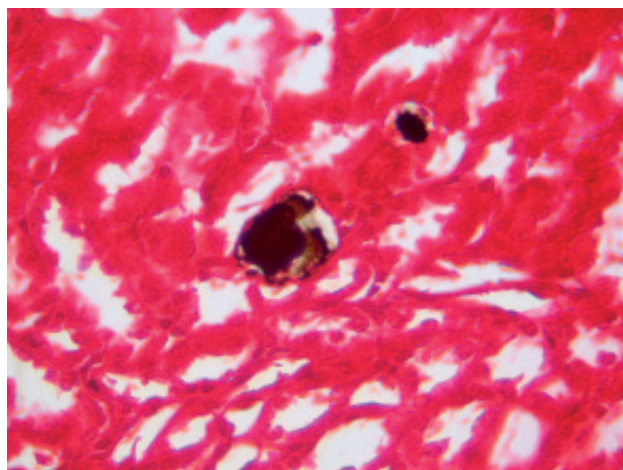
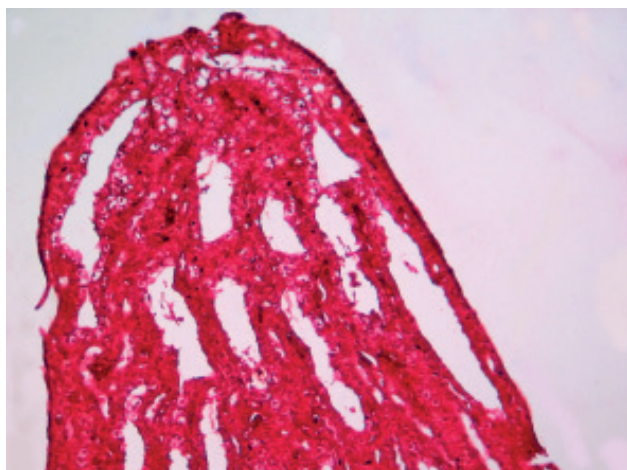
Для выявления отложений соединений кальция использовали импрегнацию серебром по методу Косса, с контролем реакции 0,1% раствором соляной кислоты [11,12]. Оценивали характер отложения и распределения кальциевых депозитов, их средние размеры, особенности локализации в тканях почки и обратимость вызванных этиленгликолем изменений.

Для определения соединительнотканых элементов и оценки степени зрелости соединительной ткани использовали окраску на фибрин по MSB-методу (Marcius-Scarlett-Blue) в модификации Д.Д. Зербино [13].

Морфометрические исследования проводили с использованием программных пакетов ImageJ 1.34 и AxioVision 3.1. Результаты работы представлены в виде значений $\bar{X}$ (средняя), m (ошибка средней), $p < 0,05$. Оценку межгрупповых различий проводили по критерию Данна (SigmaStat 3.5 для Windows, Systat Software, Inc., США, 2006).

Морфометрические показатели почки крыс с экспериментальной моделью этиленгликолевого оксалатного нефролитиаза

	—		—		—	



РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты морфологического исследования показали, что через 3 нед после начала потребления этиленгликоля в почках наблюдались деформация почечных телец, расширение капиллярных петель сосудистых клубочков, в отдельных случаях – локальное утолщение и деструкция наружного листка капсулы почечного тельца. Отмечались дистрофические изменения эпителия канальцев и собирательных трубок, в виде гидропической дистрофии, его десквамация, расширение канальцевой системы, слущенный эпителий и белковые депозиты в просвете канальцев.

Отложения солей кальция (микролиты) обнаруживались в эпителии канальцев и собирательных трубок, в интерстиции мозгового вещества, в просветах собирательных трубок в составе белковых цилиндров. Характерной являлась локализация соединений кальция – преимущественно в области

основания и средней трети почечного сосочка (рис. 1). В составе эпителия на вершине почечного сосочка количество микролитов было незначительным. В поле зрения определялись умеренные количества кальциевых депозитов, средним размером $3,57 \pm 0,11$ мкм (таблица). Выявлялась инкрустация эпителия собирательных трубок соединениями кальция. В 10% наблюдений обнаруживались довольно крупные микролиты (размером до 30 мкм) с обтурацией просвета собирательных трубок (рис. 2). В областях отложения кальция определились разрастания соединительной ткани с формированием перитубулярного и периваскулярного фиброза.

В мозговом веществе в целом отмечалось расширение системы собирательных трубок, причем наибольшего размера были собирательные трубки на вершине почечного сосочка (до 56,6 мкм), очаговая интерстициальная и субэпителиальная

(под переходным эпителием) лимфогистиоцитарная инфильтрация.

В случае продолжающегося воздействия этиленгликоля до 6 нед в почках выявлялись более выраженные токсические изменения с поражением коркового и мозгового вещества, выраженными дистрофическими изменениями эпителия канальцев и собирательных трубок и его десквамацией, расширением просвета канальцев нефрона и собирательных трубок.

Отложения кальция определялись в больших количествах (до 67 в поле зрения). Они располагались на всем протяжении почечного сосочка и реже – в канальцах коркового вещества (рис. 3). Средний размер кальциевых депозитов составил $2,82 \pm 0,15$ мкм. Характерна выраженная инкрустация эпителия дистальных канальцев и собирательных трубок. Крупные микролиты, обтурирующие просвет собирательных трубок, обнаруживались в 40% случаев. Мононуклеарная инфильтрация почечного интерстиция носила выраженный характер.

У животных группы лечения (группа 3) описанные выше изменения были выражены в значительно меньшей степени. Обнаруживались дистрофическая перестройка эпителия собирательных трубок, слущивание эпителия с расположением эпителиоцитов в просвете собирательных трубок. На вершине почечного сосочка отмечали расширение их просвета (до $42,5$ мкм). Переходный эпителий почечного сосочка уплощен, местами слущен с обнажением клеток базального слоя.

Характерно выраженное снижение количества кальциевых депозитов (в среднем $7,14 \pm 0,57$ в поле зрения) в интерстиции мозгового вещества почки. Отмечена преимущественная локализация соединений кальция в области средней трети и вершины сосочка (рис. 4), в отдельных случаях наблюдались немногочисленные микролиты в составе эпителия на вершине сосочка. Такие мелкие единичные образования встречались и в просвете собирательных трубок. Характерным являлся более мелкий размер кальциевых депозитов, составлявший в среднем $1,95 \pm 0,09$ мкм. Инкрустации эпителия, наличия крупных микролитов в просвете собирательных трубок не выявлялось.

ОБСУЖДЕНИЕ

Данные современной литературы указывают на то, что основой формирования мочевых камней являются канальцевые поражения почек. Отложения солей кальция способны индуцировать тканевые реакции в эпителии дистальных канальцев и собирательных трубок [4]. Проведенное морфоло-

гическое исследование почек крыс с этиленгликолевой моделью оксалатного нефролитиаза позволило выявить характер распределения отложений кальция в корковом и мозговом веществе и связанные с этим особенности гистологической перестройки тканей почки.

Выявленные в эксперименте патоморфологические изменения в виде дистрофии эпителия, его слущивание, расширения просвета канальцев и собирательных трубок, мононуклеарной инфильтрации интерстиция опосредованно свидетельствуют о наличии местных условий для развития нефролитиаза. Это подтверждается гистохимическим обнаружением в тканях почки отложений кальция. Данные факты соответствуют литературным данным, согласно которым агрегаты кристаллов кальция вначале фиксируются на апикальных мембранах поврежденных эпителиальных клеток, затем транспортируются в интерстиций и концентрируются в основном на поверхности почечного сосочка, где и происходит последующее формирование камней [14]. Степень морфологической перестройки тканей почки зависит от сроков воздействия этиленгликоля и от выраженности отложения солей кальция (микролитов). На начальных сроках модели нефролитиаза характерным является распределение микролитов преимущественно в области основания и средней трети почечного сосочка, на 6-й неделе эксперимента микролиты располагались по всей площади почечного сосочка. В случаях наличия крупных микролитов, часто с обтурацией просвета собирательных трубок, выраженной инкрустацией эпителия собирательных трубок, сопутствующая патогистологическая перестройка тканей почки была максимально выражена.

Прием препарата клеточной культуры Маакии амурской на фоне продолжающегося применения этиленгликоля показал протективное действие препарата. У животных группы лечения обнаружено значительное снижение количества кальциевых депозитов. Микролиты достоверно имели меньший размер и располагались преимущественно в области средней трети и вершины почечного сосочка, что может свидетельствовать о потенцировании выведения соединений кальция из почки на фоне приема препарата Маакии амурской.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение экстракта клеточной культуры Маакии амурской вызывает уменьшение размеров и числа кальциевых депозитов в условиях этиленгликолевой модели оксалатного нефролитиаза и, возможно, потенцирует выведение кальциевых микролитов.

Ann Urol (Paris)

Urol

Kidney Int

J Nephrol

Нефрология

Мочекаменная болезнь: этиотропное и патогенетическое лечение, профилактика.

Physiol Renal Physiol

Am J

histotechnology

Theory and practice of

Free radical Biol Med

Basic Clin Pharmacol Toxicol

Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови: Факты и концепции

Scanning Microsc

Эксперим и клинич фармаколо-

гия

Поступила в редакцию 23.05.2009 г.
Принята в печать 23.11.2009 г.