

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ В ПОЧКАХ КРЫС
С ГЕНТАМИЦИНОВОЙ НЕФРОПАТИЕЙ*О.А. Борисенок, С.М. Зиматкин, Т.В. Бушма, О.В. Барабан,
М.И. Бушма

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Установлена тесная взаимосвязь между показателями функции и строения почек у крыс с гентамициновой (60 мг/кг, внутривнутрино, 1 раз в день x 10) нефропатией. Между повышенным содержанием в плазме средних молекул, мочевины, креатинина и процентом сильно поврежденных, погибших проксимальных извитых канальцев (ПИК) корковых нефронов (КН) существует положительная взаимосвязь. Отрицательная взаимосвязь обнаружена для мочевины и креатинина в моче. Следовательно, на основании результатов исследований плазмы и мочи можно предсказать характер и степень деструкции ПИК КН.

Ключевые слова: крысы, гентамициновая нефропатия, функция и строение почек.

Введение

Аминогликозидные антибиотики (гентамицин и др.) – высокоэффективные лекарственные средства при инфекционных заболеваниях (сепсис и др.), вызываемых грамотрицательными микроорганизмами [5]. Однако их широкое применение в значительной степени ограничивается развитием нефро- и ототоксичности. До 25% случаев применения аминогликозидов осложняются развитием нефропатий различной степени выраженности [2].

В повседневной клинической практике для оценки степени выраженности аминогликозидной нефропатии широко используют методы клинико-лабораторных исследований плазмы и мочи (содержание мочевины и креатинина, клиренс последнего и другие). Однако на основании этих результатов не представляется возможным оценить характер и степень выраженности нарушений строения нефронов.

В настоящем исследовании предпринята попытка выявить взаимосвязи между нарушениями функции почек (судя по результатам исследований плазмы и мочи) и морфологическими изменениями в нефронах крыс с гентамициновой нефропатией. В случае их обнаружения создадутся предпосылки для прогнозирования (на основании исследований плазмы и мочи) характера и степени морфологических нарушений в почках.

Материалы и методы

Опыты проведены на 16 беспородных крысах-самках массой 250–300 г. Гентамицин (60 мг/кг; производитель – РУП «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь) и H₂O инъецировали внутривнутрино 1 раз в день, 10 дней [6]. Через 2 часа после последнего введения веществ крыс помещали в обменные клетки и собирали мочу в течение 24 часов. Затем животных эвтаназировали. О характере и степени развития аминогликозидной нефропатии судили по данным морфологических и морфометрических исследований почек, а также биохимического анализа образцов плазмы и мочи.

Кусочки почек фиксировали в жидкости Карнуа и заключали в парафин. Срезы толщиной 10 мкм окрашивали гематоксилином и эозином [3].

О функциональном состоянии почек судили на основании определения содержания средних молекул, мочевины, креатинина в плазме и содержания белка, глюкозы, лейкоцитов, эритроцитов, мочевины, креатинина в моче, определяли клиренс креатинина, pH и удельный

вес мочи с использованием широко применяемых в клинической практике методов исследований [1].

Количественную оценку полученных результатов проводили с использованием методов математического моделирования: непараметрическая статистика Манна-Уитни; корреляционный анализ по Спирмену [4].

Результаты и обсуждение

Непараметрическая статистика – критерий Манна-Уитни. Введение крысам гентамицина (внутрино, 60 мг/кг, 1 раз в день, 10 дней) сопровождается развитием тяжелой нефропатии. Это проявляется в отсутствии нормальных проксимальных извитых канальцев (ПИК) корковых нефронов (КН). Количество умеренно поврежденных канальцев возрастает на 256%. Преобладают сильно поврежденные (41%) и погибшие (40%) ПИК КН. Отторжение щеточной каемки ПИК КН или их клеток приводит к закупорке меньших по диаметру прямых канальцев клеточным детритом. Следствием этого является увеличение давления мочи в ПИК КН и вторичное их механическое повреждение. Об этом свидетельствует увеличение наружного и внутреннего диаметра ПИК КН, а также снижение высоты выстилающих их эпителиоцитов, соответственно, на 7, 527 и 62 % (рис., табл. 1).

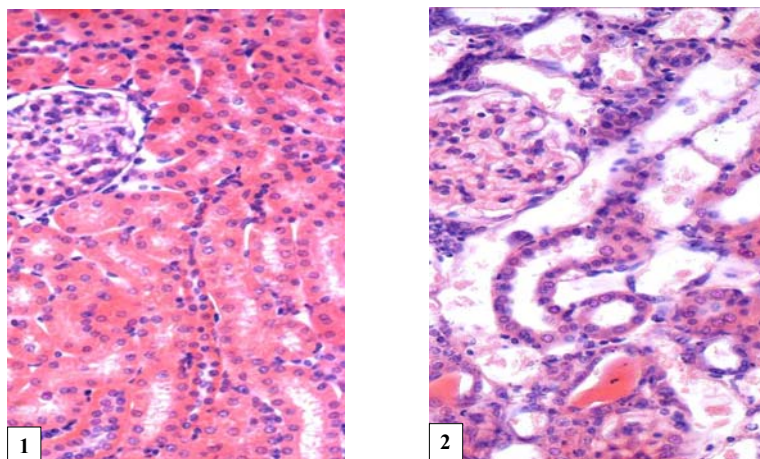
В юкстамедуллярных нефронах (ЮН) деструктивные изменения значительно менее выражены. Так, в области почечных колонок почти не встречаются ПИК с сильными повреждениями. Преобладают однотипные расширенные канальцы, заполненные гомогенным оксифильным детритом (остатки щеточной каемки). Эпителиоциты, выстилающие просвет канальцев, если и повреждены и потеряли щеточную каемку, но не сдавлены и не уплощены в такой степени, как в КН, а остаются кубическими.

Клеточный детрит, вероятно, содержит большое количество гликопротеинов гликокаликса щеточной каемки. Процент ПИК КН и ЮН, прямых канальцев КН и ЮН, заполненных им, составляет, соответственно, 27, 32 и 36.

В строме почек развиваются реактивные изменения. Они выражаются в расширении вен и капилляров, выраженной очаговой лейкоцитарной и гистиоцитарной инфильтрации вблизи поврежденных ПИК.

Морфологические проявления нефротоксического действия гентамицина подтверждаются также результатами биохимических исследований плазмы и мочи. Со-

*Исследование выполнено благодаря финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда Фундаментальных исследований при СМ РБ (грант Б09-011).



1 – контроль (вода), нормальное строение ПКК КН; 2 – опыт (гентамицин), преобладают каналы резко расширенные, с сильными повреждениями, или погибшие. Окраска гематоксилином и эозином.

Рисунок 1 – Подкапсулярная область коркового вещества почки крысы: почечные тельца и ПКК КН

Таблица 1 – Морфологические изменения в почках крыс, получавших гентамицин (внутрибрюшинно, 60 мг/кг, 1 раз в день, 10 дней). Ме (25%; 75%) – первая строка; U – значение критерия Манна-Уитни, p – значение, соответствующее критерию – вторая строка цифр

Исследуемые показатели	Контроль (вода)	Опыт (гентамицин)
Степень поражения ПКК КН (%): нормальные, умеренно поврежденные,	95,5 (92,5; 96,0)	0,0 (0,0; 0,0) 0,00 (0,001)
сильно поврежденные,	4,5 (4,0; 7,5)	16,0 (6,5; 39,0) 9,00 (0,016)
погибшие.	0,0 (0,0; 0,0)	40,5 (34,5; 48,0) 0,00 (0,001)
Размеры ПКК КН (мкм): наружный диаметр,	29,53 (28,67; 30,64)	31,72 (30,96; 33,22) 8,00 (0,012)
внутренний диаметр,	3,38 (2,75; 4,38)	21,20 (19,30; 23,77) 0,00 (0,001)
высота эпителиоцитов.	12,81 (12,53; 13,41)	4,93 (4,34; 5,79) 0,00 (0,001)
Канальцы, заполненные детритом (%): ПКК КН,	0,0 (0,0; 0,0)	27,0 (24,0; 31,0) 0,00 (0,00)
ПКК ЮН,	0,0 (0,0; 0,0)	32,0 (20,5; 35,5) 0,00 (0,001)
прямые КН и ЮН.	0,0 (0,0; 0,0)	35,5 (32,0; 42,5) 0,00 (0,001)

Примечание: полужирным шрифтом выделены статистически значимые (p < 0,05) различия. ПКК – проксимальные извитые каналы, КН – корковые нефроны, ЮН – юкстамедуллярные нефроны.

содержание в плазме средних молекул, мочевины и креатинина под влиянием гентамицина возрастает на 32, 279 и 182%, соответственно (табл. 2).

Увеличение в плазме содержания мочевины и креатинина ассоциируется с синхронным снижением их экскреции с мочой, соответственно, на 44 и 73%. Клиренс креатинина уменьшается на 80%. pH мочи снижается на 20%. Содержание белка повышается на 609%. При микроскопическом исследовании мочи появляются лейкоциты (табл. 2).

Корреляционный анализ. Результаты корреляционного анализа свидетельствуют о том, что между показателями функции почек крыс, получавших гентамицин (судя по результатам исследований плазмы и мочи) и строением органа существует тесная взаимосвязь.

Повышенное содержание в плазме средних молекул прямо коррелирует с увеличением сильно поврежденных, погибших ПКК КН, их внутренним диаметром, а также процентом ПКК ЮН, прямых КН и ЮН, заполненных детритом. Обратная корреляция регистрируется с высотой эпителиоцитов, выстилающих просвет ПКК КН (табл. 3).

Аналогичные корреляционные взаимосвязи выявлены для мочевины и креатинина в плазме. Исключение составляет появление положительной взаимосвязи с наружным диаметром ПКК КН (табл. 3).

Снижение в моче содержания мочевины и креатинина прямо коррелируют с высотой эпителиоцитов ПКК КН. Отрицательная взаимосвязь регистрируется с процентом сильно поврежденных и погибших ПКК КН, внутренним диаметром ПКК КН, процентом ПКК ЮН, прямых КН и ЮН, заполненных детритом (табл. 3).

Таблица 2 – Нарушение функции почек крыс, получавших гентамицин (внутрибрюшинно, 60 мг/кг, 1 раз в день, 10 дней). Ме (25%; 75%) – первая строка; U – значение критерия Манна-Уитни, p – значение, соответствующее критерию – вторая строка цифр

Исследуемые показатели	Контроль (вода)	Опыт (гентамицин)
Плазма		
Средние молекулы (ед)	0,28 (0,23; 0,31)	0,37 (0,35; 0,48) 2,00 (0,001)
Мочевина (ммоль/л)	8,00 (6,75; 8,65)	30,30 (25,30; 34,00) 0,00 (0,0004)
Креатинин (мкмоль/л)	77,50 (73,00; 81,00)	218,50 (180,00; 289,00) 0,00 (0,0004)
Моча		
Мочевина (моль/л)	0,39 (0,29; 0,96)	0,22 (0,14; 0,28) 5,00 (0,003)
Креатинин (ммоль/л)	7,30 (5,72; 9,21)	1,96 (1,65; 3,44) 4,00 (0,002)
Клиренс креатинина (мл/мин)	0,84 (0,31; 1,08)	0,17 (0,09; 0,48) 13,00 (0,03)
pH	6,25 (5,50; 7,00)	5,00 (5,00; 6,00) 16,00 (0,03)
Белок (г/л)	0,11 (0,05; 0,15)	0,78 (0,58; 1,61) 1,50 (0,001)
Лейкоциты (в поле зрения)	0,00 (0,00; 0,50)	2,50 (0,00; 4,00) 15,00 (0,03)

Примечание: полужирным шрифтом выделены статистически значимые (p < 0,05) различия. Приведены показатели, для которых выявлены статистически значимые различия.

Снижение клиренса креатинина у крыс, получавших гентамицин, обратно коррелирует с процентом погибших и заполненных детритом ПКК КН (табл. 3).

Протеинурия, развивающаяся у крыс с интоксикацией гентамицином, прямо коррелирует с процентом умеренно, сильно поврежденных и погибших ПКК КН; размерами их наружного и внутреннего диаметра, процентом ПКК ЮН, прямых КН и ЮН, заполненных детритом. Обратная корреляционная взаимосвязь регистрируется с высотой эпителиоцитов, выстилающих ПКК КН (табл. 3).

Содержание глюкозы прямо коррелирует с количеством прямых канальцев КН и ЮН, заполненных детритом (табл. 3).

Корреляционные взаимосвязи, вызываемого гентамицином повышения содержания лейкоцитов в моче крыс

Таблица 3 – Коэффициенты корреляции между морфологическими показателями в почках и показателями функции органа у крыс с гентамициновой (внутрибрюшинно, 60 мг/кг, 1 раз в день, 10 дней) нефропатией

Морфо-гистохимические показатели в почках	Показатели функции почек								
	Плазма			Моча					
	Средние молекулы (ед)	Мочевина (ммоль/л)	Креатинин (ммоль/л)	Мочевина (моль/л)	Креатинин (ммоль/л)	Клиренс креатинина (мл/мин)	Белок (г/л)	Глюкоза (г/л)	Лейкоциты (в п/зр.)
Степень поражения ПИК КН (%): умеренно повреждённые,	+0,46	+0,47	+0,34	-0,17	-0,27	+0,62	+0,56	+0,17	+0,58
сильно повреждённые,	+0,67	+0,90	+0,90	-0,70	-0,77	-0,38	+0,76	+0,39	+0,61
погибшие.	+0,80	+0,87	+0,89	-0,81	-0,85	-0,71	+0,81	-0,06	+0,77
Размеры ПИК КН (мкм):									
наружный диаметр,	+0,48	+0,64	+0,56	-0,32	-0,49	+0,07	+0,62	-0,17	+0,43
внутренний диаметр,	+0,84	+0,82	+0,78	-0,68	-0,76	-0,64	+0,74	+0,06	+0,62
высота эпителиоцитов.	-0,83	-0,77	-0,83	+0,71	+0,69	+0,43	-0,71	+0,06	-0,56
Канальцы, заполненные детритом (%): ПИК КН,	+0,11	+0,47	+0,61	-0,55	-0,59	-0,72	+0,35	+0,34	+0,64
ПИК ЮН,	+0,76	+0,85	+0,87	-0,73	-0,78	-0,43	+0,87	+0,06	+0,83
прямые КН и ЮН.	+0,76	+0,84	+0,87	-0,71	-0,78	-0,62	+0,84	+0,73	+0,79

Примечание: полужирным шрифтом выделены статистически значимые коэффициенты корреляции. Знаком «+» обозначена положительная взаимосвязь, знаком «-» – отрицательная. Приведены показатели, для которых выявлены статистически значимые различия. ПИК – проксимальные извитые канальцы, КН – корковые нефроны, ЮН – юкстамедуллярные нефроны.

с морфологическими показателями в почках близки к таковым для протеинурии. Исключение составляет отсутствие прямой корреляционной взаимосвязи с наружным диаметром ПИК КН (табл. 3).

Заключение

С использованием корреляционного анализа установлена тесная взаимосвязь между показателями функции и строения почек у крыс с гентамициновой нефропатией. Впервые доказано, что между повышенным содержанием в плазме средних молекул, мочевины, креатинина и строением почек (особенно процентом сильно поврежденных и погибших ПИК КН) существует тесная положительная взаимосвязь. Отрицательная взаимосвязь об-

наружена для мочевины и креатинина в моче. Следовательно, на основании результатов исследований плазмы и мочи можно предсказать характер и степень выраженности гентамициновой нефропатии (особенно характер и степень деструкции ПИК КН) с целью принятия своевременных мероприятий по ослаблению ее проявлений.

Список использованной литературы

1. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В.С. Камышников. – 2-е изд. – Мн.: Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.
2. Марино, П. Сведения об антибактериальных средствах / П. Марино // Интенсивная терапия: пер. с английского, доп. / П. Марино. – М: ГОЭТАР Медицина, 1999. – С. 573–577.
3. Можейко, Л.А. Классические методы окраски в гистологии / Л.А. Можейко // Методы исследования в гистологии / Под ред. С.М. Зиматкина. – Гродно: ГрГМУ, 2010. – С. 23–34.
4. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
5. Страчунский, Л.С. Аминогликозиды / Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов // Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей / Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов. – М.: Боргес, 2002. – С. 71–82, 287–96.
6. Provoost, A.P. Nephrotoxicity of Aminoglycosides in Young and Adult Rats / A.P. Provoost, O. Adejuyigbe, E. D. Wolff // *Pediatr. Res.* – 1985. – Vol. 19, № 11. – P. 119–1196.

Structural and functional interactions in the kidneys of rats having gentamicin-induced nephropathy

O.A. Borisyonok, S.M. Zimatkin, T.V. Bushma, O.V. Baraban, M.I. Bushma
EE «Grodno State Medical University»

The close interrelation has been established between the renal functional and structural indices in rats having gentamicin-induced nephropathy (60 mg/kg, intraperitoneally, once a day x 10). The positive interconnection between the increased plasma concentration of middle molecules, urea, creatinine and the percentage of severely damaged and lost proximal convoluted tubules (PCT) cortical nephrons (CN) has been marked. The negative interconnection was found for the urea and the creatinine in the urine. Therefore, it is possible to predict the character and degree of the destruction of PCK CN on the basis of the results of plasma and urine examinations.

Key words: rats, gentamicin-induced nephropathy, function and structure of kidneys.

Поступила 26.01.2012