УДК 615.015.23:615.21/26:577.175.14

ВПЛИВ РЕКОМБІНАНТНОГО АНТАГОНІСТА РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 НА ГІСТОСТРУКТУРУ НИРОК ТА ПЕЧІНКИ ІНТАКТНИХ ЩУРІВ

К.Г.Щокіна

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: АРІЛ-1; гістоструктура нирок, печінки; нефротоксична дія; гепатотоксичність

THE EFFECT OF THE RECOMBINANT ANTAGONIST OF INTERLEUKIN-1 RECEPTORS ON THE HISTOSTRUCTURE OF THE KIDNEYS AND LIVER OF INTACT RATS

K.G.Shchokina

National University of Pharmacy

Key words: ARIL-1; histostructure of the kidneys, liver; nephrotoxic action; hepatoxicity

The results of the study of the effect of the recombinant antagonist of interleukin-1 receptors (ARIL-1) on the histostructure of the kidneys and liver of intact rats are presented. It has been proven that ARIL-1 with the course administration has a negative effect on the kidneys and liver. This is confirmed by the results of morphological studies, which have revealed lymphocytic infiltration in the interstitium, local proliferation of the connective tissue and epithelial tubules in the kidney and lymphocytic infiltration of the liver parenchyma. Minor negative changes of the kidneys and the liver under the influence of aryl-1 are reversible. Thus, ARIL-1 does not show the nephro- and hepatotoxic properties under the dynamic control of the organs state. Temporary adverse changes of the renal and hepatic histostructure when using ARIL-1 may be explained by the protein nature of the drug exhibiting the irritative effect on the structure of the nephrons and hepatocytes, as well as by its immunotropic properties.

Поширеність ускладнень фармакотерапії, які зустрічаються в 10-30% хворих, зростає внаслідок швидкого впровадження в клінічну практику не завжди обґрунтованого призначення ліків, а також поліпрагмазії, самолікування тощо [1, 5].

Побічна дія, перш за все, визначається особливостями хімічної структури речовин та їх органотропністю. Багато ліків тією або іншою мірою чинить гастро-, гепато- та нефротоксичну дію. Понад 500 препаратів спричиняють ураження печінки, стільки ж – нирок [2]. Гепатотоксичність часто зумовлена біотрансформацією в печінці [2, 5]. Більшість ліків виділяється з організму нирками, що може викликати порушення їх функції. Так, парацетамол, фенацетин, ацетилсаліцилова кислота та більшість НПЗЗ спричиняють тубуло-інтерстиціальне ураження нирок – аналгетичну нефропатію [1, 4, 7, 8]. Вже на доклінічному етапі дослідження лікарського препарату необхідно визначати його вплив на зазначені органи для оцінки можливості використання в пацієнтів із супутніми захворюваннями нирок та печінки.

Збільшується інтерес до антицитокінової терапії, в т. ч. до блокаторів інтерлейкінових рецепторів. Ці препарати, як-от анакінра, використовуються переважно як протизапальні засоби при ревматоїдному артриті [3, 13]. Потужні протизапальні властивості виявлені в рекомбінантному антагоністі рецепторів інтерлейкіну IL-1 (АРІЛ-1) [3]. З іншого боку, відома патогенетична роль активації механізмів, пов'язаних із IL-1, при хворобах нирок та печінки [9, 10]. Мета даної роботи – з'ясувати вплив АРІЛ-1 на гістоструктуру нирок та печінки в інтактних щурів. АРІЛ-1 отримано в Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на білих щурах самцях масою 170-200 г. АРІЛ-1 вводили протягом 3 діб один раз на добу в дозі 3 мг/кг підшкірно. У першій серії дослідів на четверту добу, в інших серіях дослідів – через 2 тижні після введення АРІЛ-1 тварин декапітували, вилучали нирки та печінку, визначали їх масові коефіцієнти та проводили морфологічні дослідження. Гістоструктуру нирок та печінки вивчали методами світлової мікроскопії при консультації к. біол. н., доцента кафедри гістології та ембріології ХНМУ Дєєвої Т.В. Органи фіксували 10% розчином нейтрального формаліну, заливали в парафін. Мікротомні зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином. Використовували мікроскоп «Бимам Р-12».

Результати та їх обговорення

Результати проведених досліджень наведені в таблиці та на рис. 1-8. Масовий коефіцієнт нирок під впливом АРІЛ-1 достовірно збільшився в 1,3 рази, а печінки не зазнав вірогідних змін. Через 2 тижні після скасування АРІЛ-1 масові коефіці-

К.Г.Щокіна – доктор фармац. наук, професор кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

єнти нирок і печінки не відрізнялись від інтактного контролю (табл.).

Мікроскопія нирок показала, що в інтактних тварин збережені всі структурні елементи: нефрони, судинні та стромальні компоненти. Визначається чіткий розподіл на кору та мозкову речовину. В корі ниркові клубочки помірно варіабельні за розмірами, капілярна сітка в них має ажурний рисунок. Клітини в мезангії наявні в помірній кількості, сечовий простір добре виражений. Стан проксимальних і дистальних відділів канальців нефронів також відповідає нормі, епітеліоцити кінцевих відділів збиральних трубок не змінені. Ступінь розпушення апікальних відділів нефроцитів незначний, циліндри в просвітах канальців практично не визначаються. Проміжна тканина містить помірну кількість клітин. Стан внутрішньоорганних судин не порушений (рис. 1).

Таблиця

Вплив рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на масові коефіцієнти нирок та печінки (%) в інтактних щурів (n=7), M±m

Орган	Одразу після введення АРІЛ-1		Через 2 тижні після введення АРІЛ-1	
	інтактний контроль	АРІЛ-1	інтактний контроль	АРІЛ-1
Нирки	0,55±0,04	0,71±0,04*	0,68±0,04	0,60±0,03
Печінка	4,04±0,23	4,41±0,46	2,53±0,08	2,56±0,06

Примітка. * – статистично значущі відмінності від групи інтактного контролю ($p \le 0,05$).

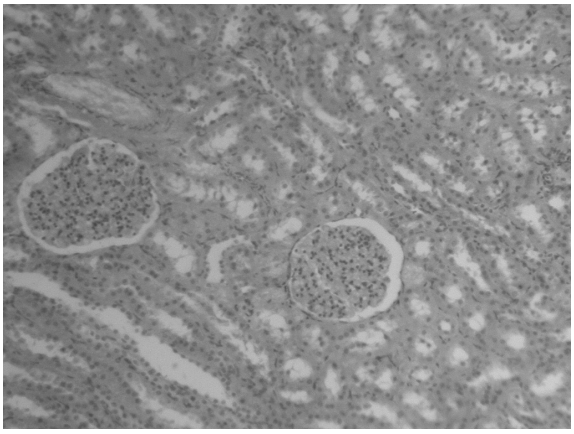

Рис. 1. Ділянка коркової речовини нирки інтактного щура. Нормальна структура клубочків та канальців. Гематоксилін та еозин × 200

Після введення АРІЛ-1 клубочковий апарат не пошкоджений. Повнокровність капілярів, клітинна насиченість мезангіального простору та вираженість сечового простору в клубочках тварин не відрізняється від інтактних, як і щільність розташування самих клубочків у корковій речовині. Але виявлено порушення морфоструктури, переважно в інтерстиції. В першу чергу, слід відзначити клітинну інфільтрацію капсули органу, в результаті чого вона потовщується, а інфільтрат (переважно нейтрофіли) проникає всередину нирки (рис. 2а). Проміжна тканина миски інфільтрована лімфоцитами зі значною кількістю плазматичних клітин (рис. 2б). В корковій речовині тканина паренхіми місцями замінена осередковими розростаннями сполучної тканини (рис. 3). Отже, дані мікроскопії відповідають збільшенню масового коефіцієнта нирок. Реакція органу на введення АРІЛ-1 виявляється у вигляді осередкової проліферації сполучної тканини та канальцевого епітелію.

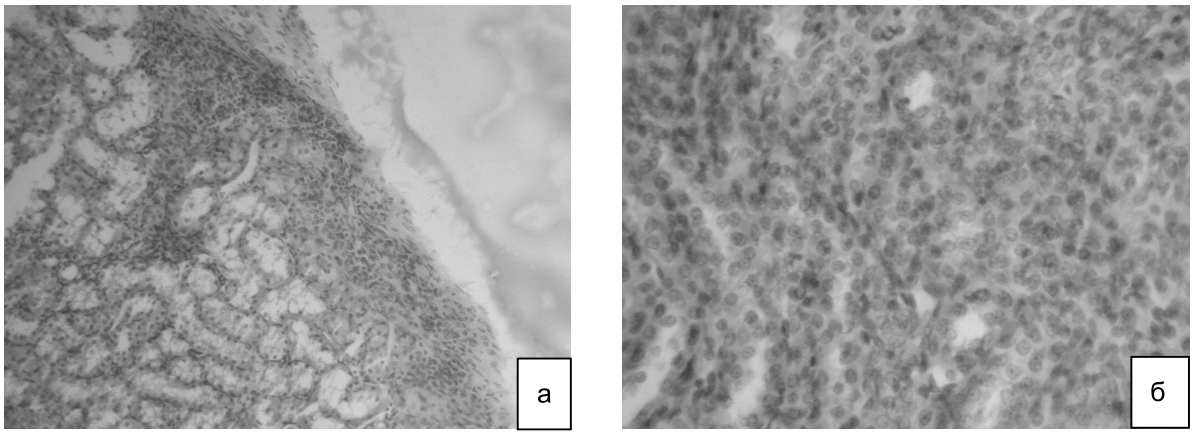

Рис. 2. Ділянка нирки щура після трикратного введення АРІЛ-1. Лейкоцитарна інфільтрація капсули (а), × 150; інфільтрація проміжної тканини миски лімфоцитами (б), × 400. Гематоксилін та еозин

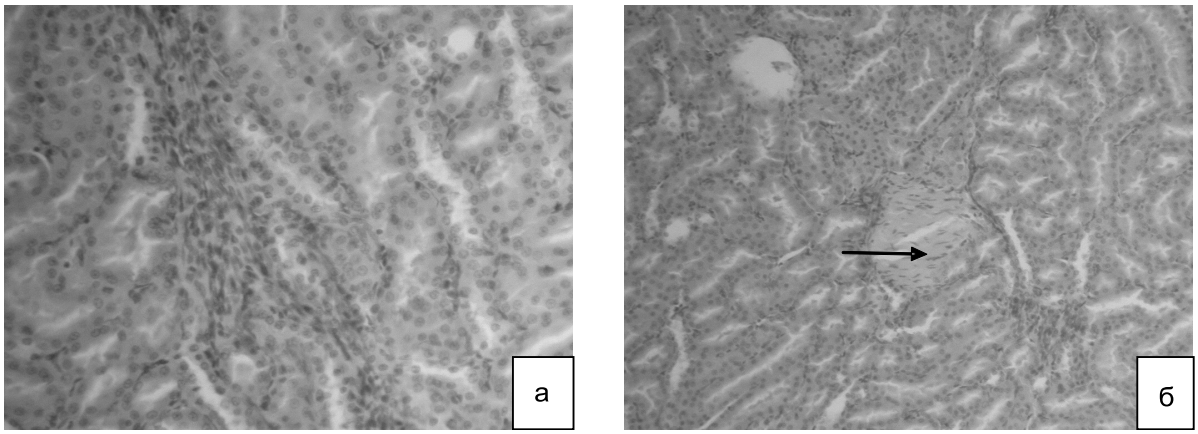

Рис. 3. Ділянка нирки щура після введення АРІЛ-1. Осередкове розростання сполучної тканини (а), заміщення паренхіми сполучною тканиною (стрілка) (б). Гематоксилін та еозин × 200

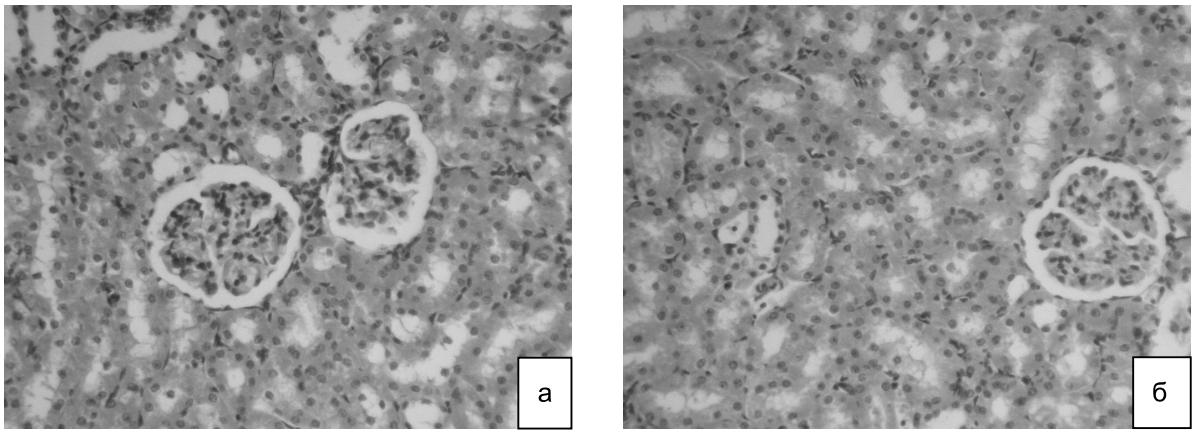

Рис. 4. Нирка щура: а – інтактного, б – якому вводили АРІЛ-1. Ниркові тільця не змінені, система канальців відповідає нормі. Гематоксилін-еозин × 200

При мікроскопічному дослідженні як в інтактних щурів, так і після курсу АРІЛ-1 у корковій речовині наявні численні ниркові тільця, розташовані зі звичайною щільністю. Розмір основної маси ниркових тілець помірний. Обидва листки капсули клубочків не змінені. Рисунок капілярних петель у клубочках достатньо виразний, вміст ядер помірний. Діаметр капілярів достатній, еритроцити розташовані центрально. Просвіт капсули вільний, невеликий. Дистальні та проксимальні частини канальців звичайні за розміром і формою.

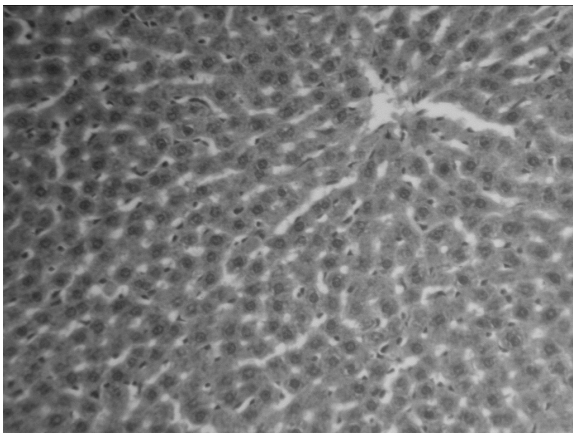

Рис. 5. Ділянка печінки інтактного щура. Рисунок печінкової паренхіми незмінний. Гематоксилін та еозин × 200

Нефротелій не змінено, ядра чіткі. Просвіт канальців добре видний, відповідає нормі. У частині канальців помірно розпушені апікальні відділи нефротелію. У мозковому шарі гістоструктура збиральних трубочок та прямих канальців не змінена. Стан внутрішньоорганних кровоносних судин та строми без особливостей (рис. 4).

У тварин з групи інтактного контролю рисунок тканини печінки звичайний, міжчасткові сполучнотканинні прошарки не виражені, тому межі часток змазані, радіальна направленість печінкових балочок збережена. Зони портальних трактів не розширені, жовчні протоки визначаються слабко. Гепатоцити рівномірно забарвлені, містять чітко визначені 1-2 ядра, частина ядер з невеликою гіперхромією, ядерець переважно 1-2

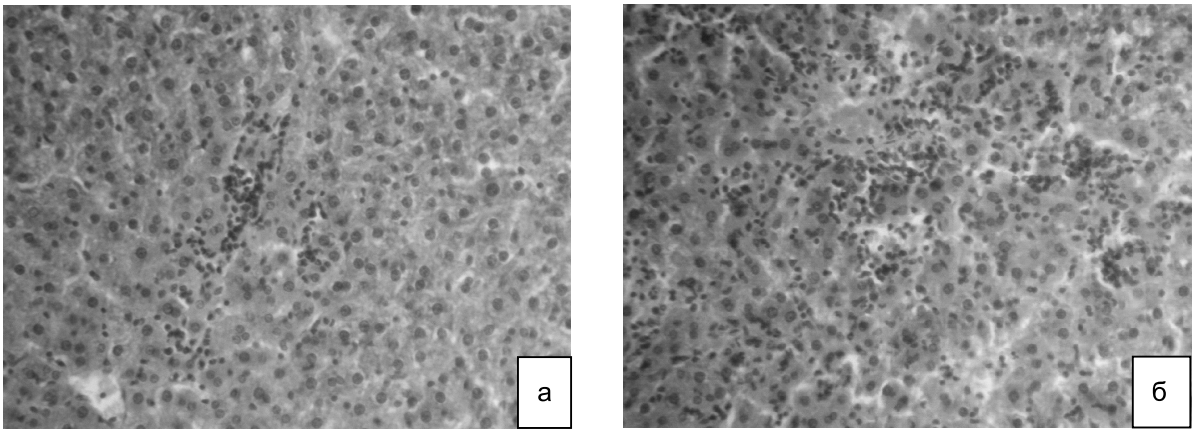

Рис. 6. Ділянка печінки щура безпосередньо після курсового введення АРІЛ-1. Вогнищева інфільтрація паренхіми лімфоцитами (а), зливний характер інфільтратів, дрібні некрози (б). Гематоксилін та еозин × 250

на ядро. Вираженість анізонуклеозу незначна, двоядерних клітин небагато, локалізовані вони переважно перипортально. Мікроциркуляторних порушень не виявлено (рис. 5).

Після триразового введення АРІЛ-1 у щурів у печінці були зафіксовані певні зміни. В печінці балочне розташування гепатоцитів не порушене, портальні тракти спокійні. Однак у паренхімі спостерігається морфологічна картина, характерна для реактивного гепатиту: дрібні вогнищеві та зливні інфільтрати, які складаються переважно з колоклітинних елементів, внутрішньочасткові некрози невеликих груп гепатоцитів із накопиченням лімфоцитів і макрофагів (рис. 6). Іноді клітинні інфільтрати струменями розливаються від центру до периферії частки, не торкаючись гепатоцитів.

У відносно збережених ділянках виявляються морфологічні маркери регенерації: гепатоцити, що мітотично діляться (це зовсім не характерно для печінки в нормі), і виражений анізонуклеоз (рис. 7а). В одиничних випадках тинкторіальні властивості гепатоцитів були порушені, в цитоплазмі визначаються оптичні порожнечі, характерні для жирової дистрофії (рис. 7б). Дистрофія носить переважно дрібнокрапельний характер, хоча іноді видна лише одна крупна вакуоль, яка відштовхує ядро на периферію клітини.

Як показала оглядова мікроскопія, печінка щурів, яким вводили АРІЛ-1, через 2 тижні після скасування останнього нічим не відрізнялася від печінки інтактних тварин і мала типову для даного виду тварин морфологічну будову.

Сполучнотканинні прошарки між печінковими часточками невиразні. Межа їх визначена тріадами. Зони тріад вузькі. Часточки створені системою печінкових балочок, кожна з яких складалася з одного ряду гепатоцитів. Самі балочки розташовані достатньо регулярними радіальними тяжами. Найбільш виражено радіальний напрям балочок центролобулярно. Гепатоцити мали характерну полігональну форму, межа їх достатньо чітка. Ядра правильної круглястої форми, розташовані у центрі клітин, звичайного розміру. Коливання розміру ядер (анізонуклеоз) виражено помірно. Переважна більшість ядер містила одне достатньо велике ядерце. Доволі часто зустрічалися двоядерні гепатоцити. Цитоплазма рівномірно пофарбована, у перинуклеарній зоні

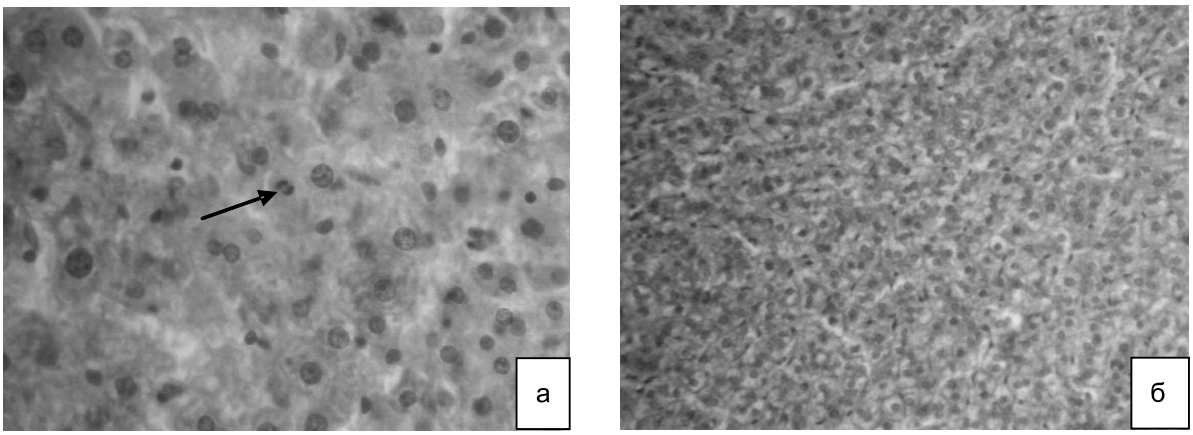

Рис. 7. Ділянка печінки щура безпосередньо після курсового застосування АРІЛ-1. Мітоз гепатоциту (стрілка), виражений анізонуклеоз (а) × 400, жирова інфільтрація гепатоцитів (б) × 250. Гематоксилін та еозин

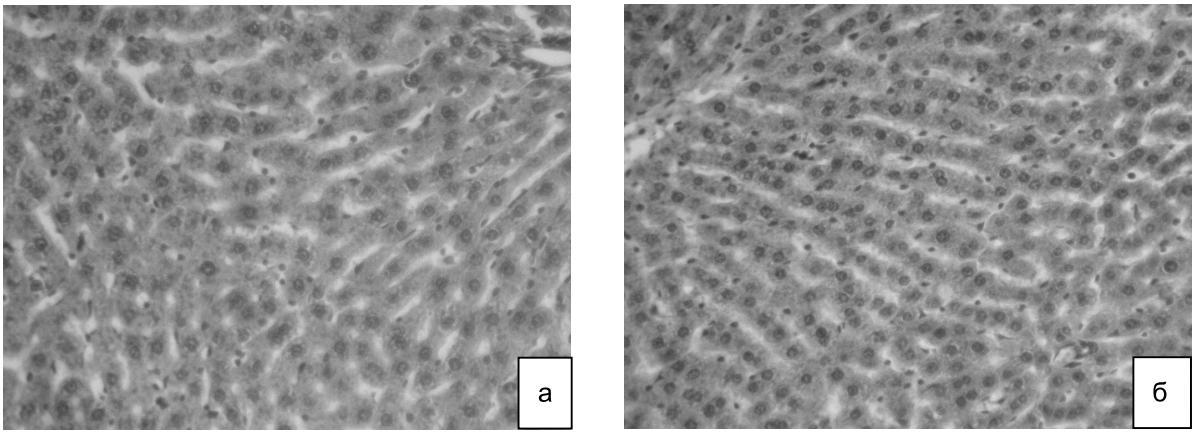

Рис. 8. Печінка щура: а – інтактного, б – якому вводили АРІЛ-1 (через 2 тижні після скасування). Нормальний радіальний напрямок печінкових балочок, гепатоцити та синусоїдальні гемокапіляри не змінені. Гематоксилін-еозин × 200

видні невеликі скупчення дрібнозернистого базофільного матеріалу. Синусоїдальні гемокапіляри помірно коливалися за поширенням просвіту, як правило, не містили крові. Синусоїдальні клітини звичайні (рис. 8).

ВИСНОВКИ

АРІЛ-1 при курсовому введенні виявляє певний негативний вплив на нирки та печінку. Це підтверджується результатами морфологічних досліджень, які виявили лімфоцитарну інфільтрацію в інтерстиції, локальну проліферацію сполучної тканини та епітелію канальців у нирках та лімфоцитарну інфільтрацію паренхіми печінки. Однак незначні негативні зміни стану нирок та печінки під дією АРІЛ-1 є оборотними після скасування препарату. Отже, АРІЛ-1 не виявляє нефро- та гепатотоксичних властивостей у відстроченому після введення терміну спостереження. Тимчасові негативні зміни гістоструктури нирок та печінки при застосуванні АРІЛ-1, імовірно, можна пояснити білковою природою препарату, який виявляє подразнювальну дію на структури нефронів та гепатоцитів, а також його імунотропними властивостями [6, 9, 11, 12].

ЛІТЕРАТУРА

1. *Быков А. // Московские аптеки. – 2004. – №9 (142). – С. 4.*
2. *Дроговоз С.М., Гудзенко А.П., Бутко Я.А., Дроговоз В.В. Побочное действие лекарств. – Х.: «СИМ», 2010. – 480 с.*
3. *Коваленко Є.М. Фармакологічне вивчення протизапальної активності антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1): Автореф. дис. ... канд. фармац. наук. – Х., 2009. – 19 с.*
4. *Мамчур В., Подплетняя Е., Макаренко О. и др. // Вісник фармакол. та фармації. – 2005. – №4. – С. 3-17.*
5. *Петров В. // Фармац. вестник. – 2008. – №28. – С. 21-26.*
6. *Старченко А.А. Общая характеристика иммунотропных препаратов: Справочник по иммунотерапии (для практического врача). – С.Пб.: Изд-во «Диалог», 2002. – С. 100-151.*
7. *Штрыголь С.Ю. // Провизор. – 2005. – №2. – С. 37-42.*
8. *Adhiyaman V., Asghar M., Oke A. et al. // J. R. Soc. Med. – 2001. – Vol. 94 (10). – P. 512-514.*
9. *Carrero J., Park S., Axelsson J. et al. // Semin. Dialys. – 2009. – №22 (4). – P. 381-386.*
10. *Luis-Ortega M., Alessia Fornoni // Int. J. of Interferon, Cytokine and Mediator Res. – 2010. – №2. – P. 49-62.*
11. *Nangaku M. // Int. Med. – 2004. – Vol. 43. – P. 9-17.*
12. *Segerer S., Schlondorff D. // Semin. Nephrol. – 2007. – №27. – P. 260-274.*
13. *Woo P. // Ann. Rheum. Dis. – 2008. – №67. – P. 281-282.*

ВПЛИВ РЕКОМБІНАНТНОГО АНТАГОНІСТА РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 НА ГІСТОСТРУКТУРУ НИРОК ТА ПЕЧІНКИ ІНТАКТНИХ ЩУРІВ

К.Г.Щокіна

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: АРІЛ-1; гістоструктура нирок, печінки; нефротоксична дія; гепатотоксичність

Наведені результати дослідження впливу АРІЛ-1 на масові коефіцієнти та гістоструктуру нирок та печінки в інтактних щурів. Доведено, що АРІЛ-1 при курсовому введенні чинить певний негативний вплив на нирки та печінку. Це підтверджується результатами морфологічних досліджень, які виявили лімфоцитарну інфільтрацію в інтерстиції, локальну проліферацію сполучної тканини та епітелію канальців у нирках та лімфоцитарну інфільтрацію паренхіми печінки. Незначні негативні зміни стану нирок та печінки під дією АРІЛ-1 є оборотними. Отже, АРІЛ-1 не виявляє нефро- та гепатотоксичних властивостей при динамічному контролі стану органів. Тимчасові негативні зміни гістоструктури нирок та печінки при застосуванні АРІЛ-1, імовірно, можна пояснити білковою природою препарату, який виявляє подразнювальну дію на структури нефронів та гепатоцитів, а також його імунотропними властивостями.

ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТАГОНИСТА РЕЦЕПТОРОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 НА ГИСТОСТРУКТУРУ ПОЧЕК И ПЕЧЕНИ ИНТАКТНЫХ КРЫС

Е.Г.Щекина

Национальный фармацевтический университет

Ключевые слова: АРИЛ-1; гистоструктура почек, печени; нефротоксическое действие; гепатотоксичность

Приведены результаты исследования влияния АРИЛ-1 на гистоструктуру почек и печени интактных крыс. Доказано, что АРИЛ-1 при курсовом введении оказывает определенное негативное влияние на почки и печень. Это подтверждается результатами морфологических исследований, которые выявили лимфоцитарную инфильтрацию в интерстиции, локальную пролиферацию соединительной ткани и эпителия канальцев в почках и лимфоцитарную инфильтрацию паренхимы печени. Незначительные негативные изменения состояния почек и печени под действием АРИЛ-1 являются обратимыми. Таким образом, АРИЛ-1 не проявляет нефро- и гепатотоксических свойств при динамическом контроле состояния органов. Временные негативные изменения гистоструктуры почек и печени при использовании АРИЛ-1, вероятно, можно объяснить белковой природой препарата, проявляющего раздражающее действие на структуры нефронов и гепатоцитов, а также его иммунотропными свойствами.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. Тел. (57) 706-30-69.
E-mail: acya@ukr.net.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 23.01.2013 р.