

Т.Б. Бевзенко

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОЧЕК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТЕ: СВЯЗЬ С НЕФРОТОКСИЧНЫМИ МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького, Украина

Реферат. В эксперименте на крысах с моделью хронического гломерулонефрита показано, что экзогенная нагрузка на организм таких нефротоксичных микроэлементов, как кадмий, литий и молибден оказывает воздействие на интегральные морфологические показатели поражения структур почек. В частности, в 6, 7 раз учащаются случаи утолщения базальной мембраны капсулы Шумлянского-Боумена, на 63% увеличивается тяжесть пролиферации эндотелия артериол и на 21% — дистрофических (атрофических) изменений канальцев.

Ключевые слова: гломерулонефрит, эксперимент, животные, почки, морфология, нефротоксичные микроэлементы

Неблагоприятная экологическая ситуация в регионе проживания больных хроническим гломерулонефритом (ХГН) является фактором риска тяжелого течения данного заболевания [1, 18–21]. Вредные составляющие окружающей среды повышают темпы прогрессирования у таких пациентов хронической почечной недостаточности [14, 17].

Почки считаются основной точкой приложения для отрицательного экологического воздействия на организм кадмия (Cd) [6, 15, 16], лития (Li) [5, 10, 12] и молибдена (Mo) [3]. Увеличение уровня ксенобиотиков в окружающей среде (воздух, почва, вода) ведет к накоплению в почках токсичного Cd [9], что сопровождается усиленным выведением этого микроэлемента (МЭ) с мочой и меньшей, по сравнению с популяцией людей в других регионах, скорости клубочковой фильтрации [16]. Y.Kim и B.K.Lee [11] сопоставили величину клубочковой фильтрации с показателями в крови Cd. Регрессивный анализ позволил высказать гипотезу о нефротоксическом действии этого МЭ, содержащегося в окружающей среде обитания людей.

Для того, чтобы конкретизировать характер повреждений отдельных почечных структур под повышенным экзогенным воздействием нефротоксичных МЭ (Cd, Li, Mo) у больных ХГН, показаны соответствующие экспериментальные исследования на животных. Этот факт стал целью данной работы.

Материал и методы

Эксперимент проведен на 49 животных (нелинейных крысах-самцах с массой ~250 г), распределенных на две группы — контрольную (24 особи) и основную — 25. Еще одну контрольную группу составили 10 интактных крыс. ХГН моделировали путем трехкратного введения крысам в корень хвоста (по 5 мг/кг массы животного) полного адьюванта Фрейнда с почечным антигеном (раствор лиофилизированного водно-соле-

вого экстракта коры почек) и раствором селезеночной дезоксирибонуклеиновой кислоты крупного рогатого скота (Олайна, Латвия). Через 14 дней после начала эксперимента введение адьюванта Фрейнда повторяли, но дозу его уменьшали вдвое, а спустя 7 дней адьювант вводили третий раз, но эту дозу снижали еще вдвое по сравнению со второй [2]. Если крысы контрольной группы с моделью ХГН находились на обычном вскармливании, то животным основной группы в пищу ежедневно добавляли вещества, содержащие нефротоксичные МЭ (Cd, Li, Mo), которые в качестве ксенобиотиков находятся в окружающей среде проживания людей. Крысы получали из расчета на одно животное 0,1 мг сульфата Cd, 500 мг оксибутирата Li и 0,3 мг молибдата аммония. В целом, моделирование болезни осуществляли на протяжении одного месяца, а затем в условиях эфирного наркоза и внутрибрюшного введения нембутала крыс выводили из эксперимента.

Гистологические срезы почек окрашивали гематоксилином-эозином, альциановым синим (на гликопротеиды) и по ван-Гизону (коллагеновые эластические волокна), ставилась PAS-реакция. Поражение отдельных почечных структур (клубочков, канальцев, стромы, сосудов) оценивали в баллах (от 0 до 3). При этом подсчитывали средний показатель повреждений (СПП) по формуле: $СПП = (a + 2b + 3c) : (a + b + c + d)$, где a, b, c — число больных, соответственно с 1, 2 и 3 баллами, а d — число больных с отсутствием данного признака. Приносим слова благодарности профессору Е.А. Дядык (Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького) за оказанную помощь при морфологическом изучении тканей почек.

Статистическая обработка полученных результатов исследований проведена с помощью компьютерного вариационного, непараметрического, корреляционного, одно- (ANOVA) и многофакторного (ANOVA/MANOVA) дисперсионного анализа (лицензионные программы "Microsoft Excel" и "Statistica-Stat-Soft", США). Оценивали средние значения (M), стандартные отклонения (SD) и ошибки (m), коэффициенты корреляции (r), критерии дисперсии (D), Стьюдента (t), Уилкоксона-Рэо (WR), Макнемара-Фишера (χ^2) и достоверность статистических показателей (p). Определяли чувствительность, специфичность и значимость признака.

Результаты и обсуждение

Среди всех крыс с моделью ХГН пролиферация мезангиоцитов обнаружена в 59,2% наблюдений, увеличение мезангиального матрикса — в

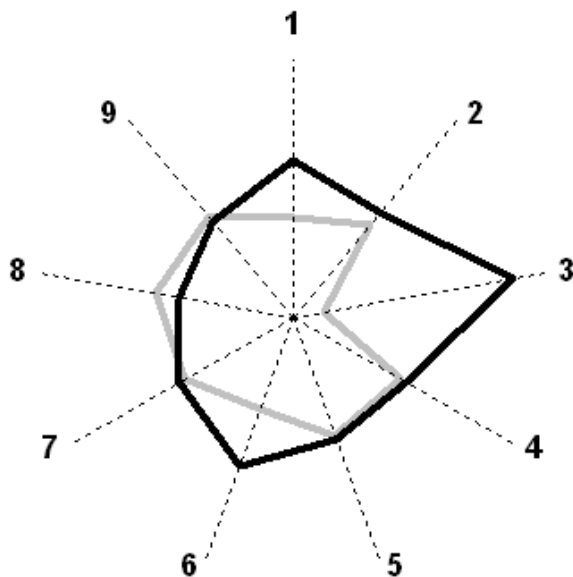


Рис. 1. Специфичность морфологических признаков поражения почечных структур у животных основной (темная кривая) и контрольной (светлая кривая) групп.

Примечания: 1 — пролиферация мезангиоцитов, 2 — увеличение мезангиального матрикса, 3 — утолщение базальной мембраны капсулы Шумлянского-Боумана, 4 — пролиферация эндотелия капилляров клубочков, 5 — склероз/гиалиноз клубочков, 6 — пролиферация эндотелия артериол, 7 — дистрофия, атрофия канальцев, 8 — клеточная

79,6%, утолщение базальной мембраны капсулы Шумлянского-Боумана — в 16,3%, пролиферация эндотелия капилляров клубочков — в 85,7%, склероз/гиалиноз клубочков — в 63,3%, пролиферация эндотелия артериол — в 65,3%, дистрофия, атрофия канальцев — в 98,0%, клеточная (преимущественно лимфогистиоцитарная) инфильтрация стромы — в 83,7%, склероз стромы — в 73,5%.

Если у интактных животных СПП составил $0,26 \pm 0,252 \pm 0,080$ баллов, то у экспериментальных крыс контрольной группы — $1,59 \pm 0,571 \pm 0,117$

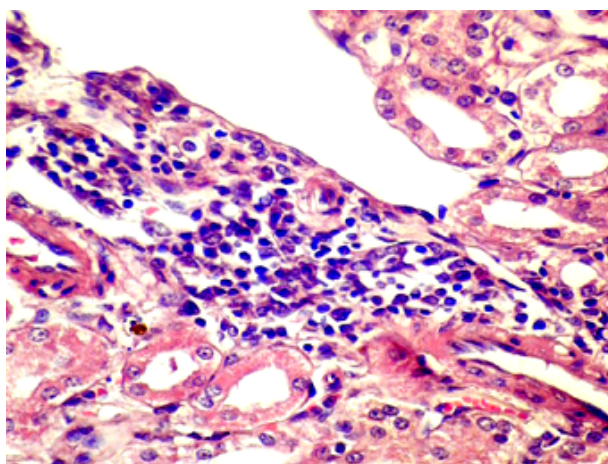


Рис. 2. Изменения в почке крысы основной группы с экспериментальным ХГН. Очаговая пролиферация мезангиальных клеток и утолщение капсулы Шумлянского-Боумана, ее сращения с капиллярами, крупные гистиоцитарные инфильтраты вокруг сосудов, единичные эозинофилы, скопления плазматических клеток вокруг клубочков, дистрофические изменения и некроз эпителия канальцев. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

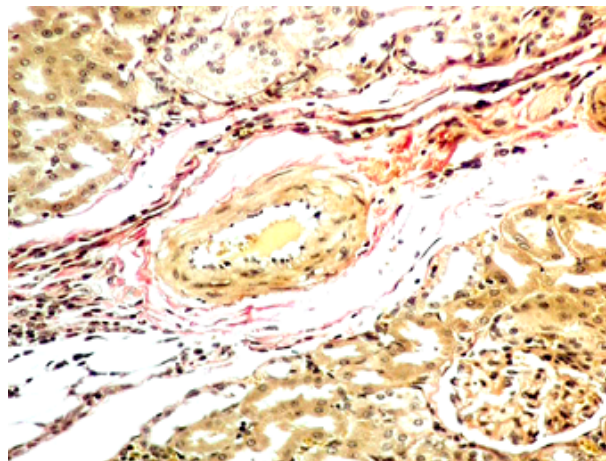


Рис. 3. Изменения в почке крысы основной группы с экспериментальным ХГН. Тонкие бледно-розовые пучки коллагена между канальцами и в капсуле клубочка, ярко-красные периваскулярные пучки коллагеновых волокон. Окраска по ван Гизону, $\times 200$

баллов, а в основной группе — $2,93 \pm 4,630 \pm 0,926$ баллов. Необходимо отметить, что животные обеих групп с моделью ХГН по параметрам СПП мало отличались между собой. По данным многофакторного дисперсионного анализа Уилкоксона-Рао, характер модели ХГН влияет на интегральные морфологические признаки патологического процесса ($WR=4,97$, $p < 0,001$). Выполненный ANOVA указывает на связь с моделью заболевания частоты увеличения мезангиального матрикса ($D=3,13$, $p=0,040$) и дистрофии/атрофии канальцев ($D=2,81$, $p=0,048$).

Частота утолщения капсулы Шумлянского-Боумана у животных основной группы встречалась в 6,7 раза чаще, чем в контрольной ($\chi^2=5,09$, $p=0,024$), а пролиферация эндотелия артериол — в 1,6 раза ($\chi^2=4,86$, $p=0,027$). Различия показателей специфичности отдельных морфологических признаков почечной патологии у животных контрольной и основной групп представлены на рис. 1. Следует подчеркнуть, что средние значения Z в этих группах крыс практически не отличаются между собой, составляя соответственно $15,1 \pm 8,72 \pm 2,91\%$ и $22,3 \pm 5,09 \pm 1,70\%$, а сумма значимостей параметров — соответственно 135,91% и 200,39%. Наиболее типичная морфологическая картина тканей почек у животных контрольной и основной групп представлена на рисунках 2 и 3, а интегральные гистограммы тубулоинтерстициальных изменений у этих крыс — на рисунке 4.

Средние параметры пролиферации эндотелия артериол у животных основной группы на 63% выше ($t=2,13$, $p=0,039$), чем в контрольной, а дистрофии канальцев — на 21% ($t=2,33$, $p=0,024$). Таким образом, нефротоксичное воздействие на организм животных Cd, Li и Mo проявляется неблагоприятным влиянием этих МЭ на утолщение базальной мембраны капсулы Шумлянского-Боумана, пролиферацию эндотелия артериол и дистрофические изменения канальцев.

В заключение необходимо отметить, что нефротоксическое действие Cd во многом определяется негативным влиянием этого МЭ на клу-

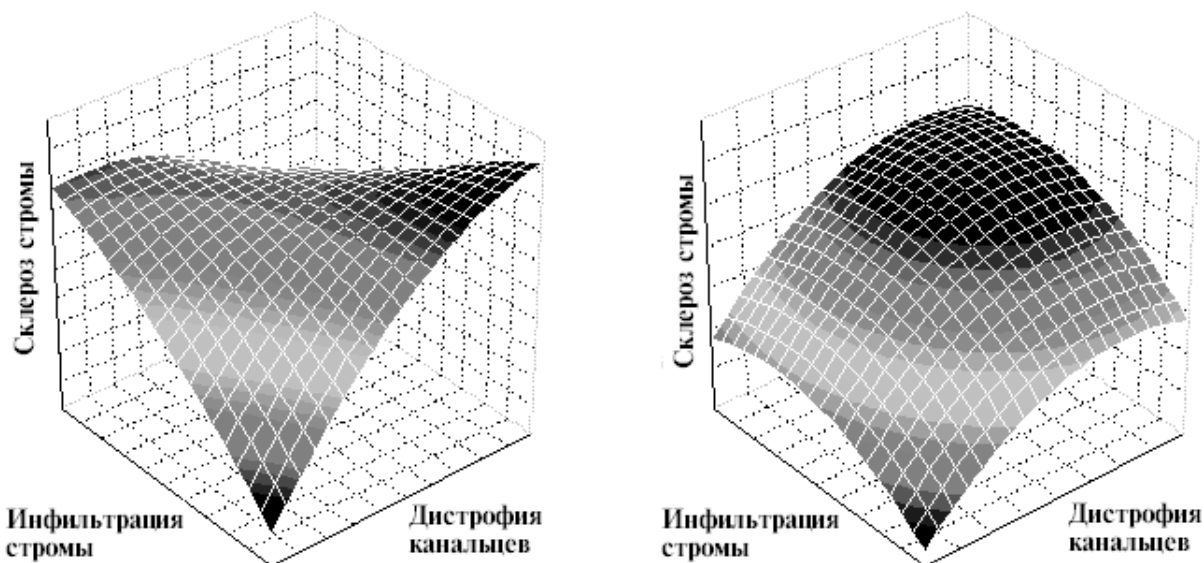


Рис. 4. Гистограммы интегральных параметров тубуло-интерстициальных поражений почек у животных контрольной (слева) и основной (справа) групп

бочки почек и проксимальный отдел нефрона с появлением микроальбуминурии у практически здоровых людей. На свиньях продемонстрировано крайне неблагоприятное влияние солей Cd на тубулярный аппарат почек [8]. Кадмиевая интоксикация вызывает индукцию апоптоза почечных клеток [7], а выделение Cd с мочой прямо соотносится с параметрами протеинурии, причем, уровень данного МЭ является маркером, отражающим ранние нарушения функции почек [4]. В настоящее время проводятся попытки снижения распространенности заболеваний нефрологического профиля в неблагоприятных по ХГН регионах посредством гигиенических мероприятий по уменьшению Cd в воздухе, почве и питьевой воде [13]. Степень повреждения структур почек у больных ХГН под воздействием Li и Mo в экологической среде оставалась неизученной.

Таким образом, в эксперименте на крысах показано, что экзогенная пищевая нагрузка на организм животных с моделью ХГН таких нефротоксичных МЭ, как Cd, Li и Mo оказывает неблагоприятное воздействие на интегральные морфологические показатели структур почек.

Высокое поступление в организм Cd, Li и Mo примерно в 7 раз учащает случаи повреждения базальной мембраны капсулы Шумлянско-Боумана, на 2/3 увеличивает тяжесть пролиферации эндотелия артериол и на 1/5 — дистрофических и атрофических изменений канальцев.

Полученные экспериментальные данные будут полезными для проведения гигиенических, диагностических и лечебных мероприятий у больных ХГН, проживающих в разных экологических регионах по уровням в окружающей среде Cd, Li и Mo.

T.B.Bezenko

Renal Morphological Changes in Experimental Glomerulonephritis: Relation to Nephrotoxic Microelements

Rat experiment with model of chronic glomerulonephritis shows that exogenous load on the body such nephrotoxic microelements as cadmium, lithium and molybdenum impacts on integrated morphological markers of renal structures damage, in particular, cases of thickening of the basal membrane of Shumlyansky - Bowman capsule become 6,7 times more frequent, severity of arteriolar endothelium proliferation increases by 63%, severity of degenerative (atrophic) changes in tubules increases by 21% (Arch. Clin. Exp. Med.— 2013.— Vol.22, №2. — P.170-173).

Key words: glomerulonephritis, experiment, animals, kidneys, morphology, nephrotoxic microelements

Т.Б.Бевзенко

Морфологічні зміни нирок при експериментальному гломерулонефриті: зв'язок з нефротоксичними мікроелементами

В експерименті на щурах з моделлю хронічного гломерулонефриту показано, що екзогенне навантаження на організм таких нефротоксичних мікроелементів, як кадмій, літій та молібден надає дію на інтегральні морфологічні показники ураження структур нирок. Зокрема, в 6,7 разів частішають випадки потовщення базальної мембрани капсули Шумлянського-Боумана, на 63% збільшується тяжкість проліферації ендотелію артеріол і на 21% — дистрофічних (атрофічних) змін канальців (Арх. клін. експ. мед.— 2013.— Т.22, №2.— С.170-173).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Зяблицев С. В. Состояние эндотелия и морфологические изменения структур почки при экспериментальном гломерулонефрите / С. В. Зяблицев, П. А. Чернобривцев, О. В. Синяченко // Патология. — 2007. — Т. 4, № 1. — С. 15 — 18.
2. Синяченко О. В. Ревматические заболевания и экология / О. В. Синяченко // Укр. ревматол. журн. — 2007. — Т. 30, № 4. — С. 64-68.
3. Akerstrom M. Sampling of urinary cadmium: differences between 24-h urine and overnight spot urine sampling, and impact of adjustment for dilution / M. Akerstrom, T. Lundh, L. Barregard, G. Sallsten // Int. Arch. Occup. Environ. Health. — 2012. — Vol. 85, No. 2. — P. 189 — 196.
4. Alexander M. P. Lithium toxicity: a double-edged sword / M. P. Alexander, Y. M. Farag, B. V. Mittal [et al.] // Kidney Int. — 2008. — Vol. 73, No. 2. — P. 233-237.
5. Denys S. In vivo validation of the unified BARGE method to assess the bioaccessibility of arsenic, antimony, cadmium, and lead in soils / S. Denys, J. Caboche, K. Tack [et al.] // Environ. Sci. Technol. — 2012. — Vol. 46, No. 11. — P. 6252 — 6260.
6. Fujiwara Y. Cadmium renal toxicity via apoptotic pathways / Y. Fujiwara, J. Y. Lee, M. Tokumoto, M. Satoh // Biol. Pharm. Bull. — 2012. — Vol. 35, No. 11. — P. 1892-1897.
7. Gena P. Cadmium impairs albumin reabsorption by down-regulating megalin and ClC5 channels in renal proximal tubule cells / P. Gena, G. Calamita, W. B. Guggino // Environ. Health Perspect. — 2010. — Vol. 118, No. 11. — P. 1551-1556.
8. Jerez S. Distribution of metals and trace elements in adult and juvenile penguins from the Antarctic Peninsula area / S. Jerez, M. Molas, J. Benzel [et al.] // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. — 2012. — Vol. 24, No. 10. — P. 65-68.
9. Kala G. K. Lithium-induced membranous glomerulonephropathy in a pediatric patient / G. K. Kala, M. Mogri, E. Weber-Shrikant, J. E. Springate // Pediatr. Nephrol. — 2009. — Vol. 24, No. 11. — P. 2267-2269.
10. Kim Y. Associations of blood lead, cadmium, and mercury with estimated glomerular filtration rate in the Korean general population: analysis of 2008-2010 Korean national health and nutrition examination survey data / Y. Kim, B. K. Lee // Environ. Res. — 2012. — Vol. 118. — P. 124-129.
11. Markowitz G. S. Lithium nephrotoxicity: a progressive combined glomerular and tubulointerstitial nephropathy / G. S. Markowitz, J. Radhakrishnan, N. Kambham [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. — 2009. — Vol. 11, No. 8. — P. 1439-1448.
12. Nawrot T. S. Cadmium exposure in the population: from health risks to strategies of prevention / T. S. Nawrot, J. A. Staessen, H. A. Roels [et al.] // Biometals. — 2010. — Vol. 23, No. 5. — P. 769-782.
13. Odubanjo M. O. End-stage renal disease in Nigeria: an overview of the epidemiology and the pathogenetic mechanisms / M. O. Odubanjo, C. A. Okolo, A. O. Oluwasola, A. Arije // Saudi J. Kidney Dis. Transpl. — 2011. — Vol. 22, No. 5. — P. 1064-1071.
14. Sabath E. Renal health and the environment: heavy metal nephrotoxicity / E. Sabath, M. L. Robles-Osorio // Nefrologia. — 2012. — Vol. 32, No. 3. — P. 279-286.
15. Shelley R. Associations of multiple metals with kidney outcomes in lead workers / R. Shelley, N. S. Kim, P. Parsons [et al.] // Occup. Environ. Med. — 2012. — Vol. 69, No. 10. — P. 727-735.
16. Wakamatsu-Yamanaka T. Geographic differences in the increasing ESRD rate have disappeared in Japan / T. Wakamatsu-Yamanaka, M. Fukuda, R. Sato [et al.] // Clin. Exp. Nephrol. — 2011. — Vol. 15, No. 5. — P. 708-713.
17. Woo K. T. The changing pattern of primary glomerulonephritis in Singapore and other countries over the past 3 decades / K. T. Woo, C. M. Chan, C. Y. Mooi [et al.] // Clin. Nephrol. — 2010. — Vol. 74, No. 5. — P. 372-383.
18. Wu Y. Q. Frequency of primary glomerular disease in northeastern China / Y. Q. Wu, Z. Wang, H. F. Xu, X. M. Jin // Braz. J. Med. Biol. Res. — 2011. — Vol. 44, No. 8. — P. 810-813.
19. Yokoyama H. Epidemiology of membranous nephropathy in Japan / H. Yokoyama, T. Taguchi, H. Sugiyama, H. Sato // Nihon Jinzo Gakkai Shi. — 2011. — Vol. 53, No. 5. — P. 677-683.
20. Zaza G. Incidence of primary glomerulonephritis in a large North-Eastern Italian area: a 13-year renal biopsy study / G. Zaza, P. Bernich, A. Lupo // Nephrol. Dial. Transplant. — 2012. — Vol. 6, No. 12. — P. 145-147.

Надійшла до редакції: 12.03.13 р.