© Г.А.Игнатенко, И.В.Мухин, 2001
УДК 616.611-002-018:612.015-092.9

Г.А.Игнатенко, И.В.Мухин

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ПЕРВИЧНОМ И ПОДАГРИЧЕСКОМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТАХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

G.A.Ignatenko, I.V.Mukhin

MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHANGES AT PRIMARY AND GOUT GLOMERULONEPHRITIS IN EXPERIMENT

Донецкий государственный медицинский университет им. М.Горького, Украина

РЕФЕРАТ

Первичные хронические гломерулонефриты являются основной причиной развития почечной недостаточности, а развитие гломерулонефрита при подагре в значительной мере определяет дальнейший прогноз заболевания. Существующие методы терапии этих заболеваний недостаточно эффективны, поэтому разработка новых методов лечения актуальна. Представлены результаты экспериментального моделирования заболеваний у животных, открывающие возможности разработки и апробации новых направлений медикаментозного лечения первичного и подагрического гломерулонефритов.

Ключевые слова: морфологические и биохимические изменения, первичный и подагрический гломерулонефрит, эксперимент.

ABSTRACT

Primary chronic glomerulonephrites are the main cause of the development of renal failure, and the development of glomerulonephritis in gout patients is considerably responsible for further prognosis of the disease. Current methods of treatment of these diseases are not sufficiently effective, so the development of new methods of treatment of these diseases are thought to be actual. The results of experimental simulation of the diseases in animals are presented giving further possibilities for the development and approbation of new trends of medicamental treatment of primary and gout glomerulonephrites.

Key words: Morphological and biochemical changes, primary and gout glomerulonephrites, experiment.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на пополнение в последние годы арсенала методов лечения первичных хронических гломерулонефритов, эффективность терапии остается недостаточной [7–9], в этой связи разработка новых подходов к лечению такой категории больных остается актуальной.

В основе первичной подагры лежат нарушения пуринового обмена, приводящие к накоплению и откладыванию солей уратов в паренхиматозных органах, в первую очередь почках, с развитием кристаллиндуцированного воспаления, повреждением почечных структур и запуском процессов аутоиммунизации [1, 3]. Патологические изменения в почках обнаруживают у $^1/_3$–$^3/_4$ больных первичной подагрой [6]. Среди вариантов нефропатии наиболее злокачественное течение характерно для подагрического гломерулонефрита, приводящего к быстрому развитию почечной недостаточности [2, 4].

Целью настоящего исследования явилось воспроизведение в эксперименте патологических процессов, сходных с теми, которые развиваются у человека при первичном и подагрическом гломерулонефритах для последующей апробации новых методов лечения на животных. Проведена оценка морфологических изменений почек и биохимического состава крови животных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для эксперимента использованы 30 беспородных крыс-самцов массой 180–200 г, разделенные на 3 группы (по 10 особей в каждой). В 1-ю группу были включены интактные крысы (контроль). Развитие экспериментальной гиперурикемии у животных 2-й группы моделировали по методике Ю.И.Николенко [5]. Однократно в корень хвоста вводили полный адъювант Фрейнда, состоящий из БЦЖ (по 0,5 мг на 100 г массы животного), ланолина и

вазелинового масла в соотношении 1:2, которые смешивали с раствором селезеночной ДНК крупного рогатого скота (1 мг на 100 г массы животного). Общий объем адъюванта составил 0,6 мл на 1 животное. Адъювант вводили в виде 2-х инъекций (по 0,3 мл в каждое место введения) по обе стороны от корня хвоста. В последующие 4 нед животных содержали на гиперпуриновой диете, состоящей из аутолизата пекарских дрожжей (источник пуринов), молибдата аммония (стимулятор ксантиноксидазы) по 0,3 мг на одно животное в сутки и инозина (предшественник мочевой кислоты) по 100 мг на одно животное в сутки. Через 4 нед от начала кормления крыс декапитировали в условиях эфирного наркоза.

Крыс 3-й группы использовали для моделирования первичного гломерулонефрита по разработанной нами методике. Однократно в 2 точки симметрично от корня хвоста вводили полный адъювант Фрейнда, состоящий из БЦЖ (по 0,5 мг на 100 г массы животного), ланолина, вазелинового масла в соотношении 1:2 и 50% тканевого антигена, который получали путем гомогенизации в стерильных условиях ткани коркового вещества почки здоровой крысы до состояния однородной массы. Гомогенат смешивали со стерильным 0,9% раствором хлорида натрия и центрифугировали. Супернатант перемешивали с подогретым до 40 °С адъювантом. Встряхиванием добивались образования эмульсии, которую вводили животным. Через 3 нед после первого введения, инъекцию смеси адъюванта и тканевого антигена повторяли в той же дозе для потенцирования индукции аутоиммунного процесса. Через 3 нед после повторной иммунизации в условиях эфирного наркоза животных декапитировали.

Гистологические препараты ткани почек окрашивали гематоксилином и эозином, ставили ШИК-реакцию и изучали их посредством световой микроскопии. Кровь животных получали во время декапитации и при помощи стандартных методик определяли в ней содержание креатинина, мочевины и мочевой кислоты. Статистическая обработка материала проведена при помощи статистической программы «Statistica 5.1» с подсчетом критерия t.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При изучении гистологических препаратов почек животных 2-й группы отмечалась резкая пролиферация мезангиальных клеток до 150 в каждом из клубочков (в группе здоровых крыс их число не превышало 100) (рис. 1). В некоторых нефронах наблюдалось очаговое увеличение мезангиального матрикса. Вокруг большинства клубочков (до 80%) были лимфогистиоцитарные инфильтраты. В более чем 50% клубочков наблюдалось неравномерное утолщение базальных мембран капилляров. Стенки артерий мелкого и среднего калибра утолщены и спазмированы с наличием перивазального отека и плазматического пропитывания. Вблизи лоханки локализовались множественные лимфоцитарные инфильтраты (рис. 2). В эпителии канальцев наблюдались выраженные дистрофические изменения в виде некроза групп клеток, а местами и групп канальцев. В просветах канальцев слущенные эпителиальные клетки, гиалиновые цилиндры и кристаллы мочевой кислоты.

Рис. 1. Экспериментальный подагрический гломерулонефрит.

Пролиферация мезангиальных клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Микрофото. Ув. 160.

Рис. 2. Экспериментальный подагрический гломерулонефрит.

Пролиферация мезангиальных клеток (1). Крупный лимфоцитарный инфильтрат в межканальцевом пространстве (2). Спазм, отек, утолщение и плазматическое пропитывание стенки артерии мелкого калибра (3). Окраска гематоксилином и эозином. Микрофото. Ув. 80.

Рис. 3. Экспериментальный первичный гломерулонефрит.
Увеличение мезангиального матрикса. ШИК-реакция. Микрофото. Ув. 160.

Биохимические показатели крови экспериментальных животных ($\overline{X}$±m)

Биохимические показатели крови	Группы		
	1-я	2-я	3-я
Креатинин, мкмоль/л	41,0±2,47	63,2±4,22*	62,6±7,17*
Мочевина, ммоль/л	4,7±0,95	5,9±0,21*	3,6±0,55*
Мочевая кислота, мкмоль/л	100,5±5,01	690,2±8,19*	100,1±0,02

* — различия между показателями у экспериментальных и интактных животных статистически достоверны при $p<0,05$.

При микроскопическом изучении ткани почек крыс 3-й группы отмечалось полнокровие клубочков, очаговая пролиферация мезангиальных клеток, увеличение мезангиального матрикса (рис. 3), сращение капилляров клубочка и капсулы с образованием синехий. В некоторых клубочках имела место пролиферация эпителия капсулы. Встречались множественные перигломерулярные и межканальцевые лимфогистиоцитарные инфильтраты. Во многих клубочках (до 70%) наблюдалось утолщение базальной мембраны. В эпителии канальцев отмечены выраженные дистрофические изменения и некроз групп клеток. В просвете канальцев — клеточный детрит и большое количество гиалиновых цилиндров. В сосудах мелкого калибра наблюдалась пролиферация эндотелия.

Исследование крови животных показало, что уровень креатинина крови у крыс 2-й и 3-й групп статистически достоверно превышал концентрацию в контроле (таблица). Содержание мочевины крови было различно в группах животных. Так, если во 2-й группе концентрация мочевины статистически достоверно превышала уровень здоровых животных, то в 3-й, наоборот, была ниже, чем в контрольной группе. Исследование мочевой кислоты у животных 2-й группы свидетельствует о развитии выраженной гиперурикемии. В тоже время, содержание мочевой кислоты крови у крыс 3-й группы статистически не отличалось от интактных животных.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время существование подагрического гломерулонефрита у человека как самостоятельной нозологической единицы считается доказанным [6]. В его основе лежит повреждение почечных структур солями мочевой кислоты с последующим запуском механизмов аутоиммунизации [11]. Наиболее часто гломерулонефрит развивается при тяжелом течении суставного синдрома, реже — появление мочевого синдрома предшествует суставному, а у 10,1% больных на определенных этапах течения заболевания происходит трансформация уролитиазного или латентного типа нефропатии в подагрический гломерулонефрит даже при стабильном течении артрита [6]. Чаще подагрический гломерулонефрит проявляется мочевым синдромом и только у 6,8% — нефротическим [6]. Среди всех больных подагрическим гломерулонефритом примерно у 80% пациентов при проведении прижизненного исследовании биоптатов почек обнаруживают изменения, сходные с очаговым мезангиопролиферативным гломерулонефритом, а у 20% — с мезангиокапиллярным [6, 10]. Не менее специфичным морфологическим признаком является наличие тубулоинтерстициального компонента.

Представленные методики дают возможность воспроизвести в эксперименте морфологические изменения, имеющие сходство с первичным и подагрическим гломерулонефритами человека. Так, поражение почек у животных 3-й группы близки к очаговому мезангиальному гломерулонефриту человека. Полученные результаты подтверждают наличие аутоимунных механизмов в развитии экспериментального заболевания. Морфологические изменения у крыс 2-й группы напоминают мезангиопролиферативный гломерулонефрит с тубулоинтерстициальным компонентом, который является наиболее частым вариантом подагрического гломерулонефрита, а присутствие кристаллов мочевой кислоты в канальцах и гиперурикемия, по-видимому, могут являться аргументами вторичности поражения почек при экспериментальной подагре.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, получены результаты индуцированных заболеваний, аналогичные тем, которые развиваются у человека. Представленные методики открывают возможности дальнейшей разработки и апробации новых подходов к лечению первичного и подагрического гломерулонефритов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Баринов Э. Ф. Почечные механизмы регуляции уровня мочевой кислоты при подагре // Патол. физиол. —1997.—№ 4.—С. 40–45.

2. Мухин Н. А., Балкаров И. М., Лебедева М. В. и др. Уратная нефропатия — от бессимптомной гиперурикозурии до хронического гемодиализа // Нефрология.—1997.—№ 3.—С. 7–10.

3. Мухин Н. А., Балкаров И. М., Лебедева М. В. Подагра — старые и новые проблемы // Рос. мед. журнал.—1998.—№ 4.—С. 18–23.

4. Ненашева Т. М. Подагрические висцеропатии // Воен.-мед. жур.—1995.—№ 2.—С. 30–32.

5. Николенко Ю.И. Фагоцитарная функция нейтрофилов и перитонеальных макрофагов при гиперурикемии в эксперименте // Иммунология.—1990.—№ 5.—С. 74–75.

6. Синяченко О.В., Баринов Э.Ф. Подагра.—Донецк: Донеччина, 1994.—246 с.

7. Тареева И.Е., Краснова Т.Н. Сандиммун-неорал в лечении нефротического синдрома // Врач.—1999.—№ 3.—С. 20–21.

8. Тареева И.Е., Шилов Е.М., Краснова Т.Н. Лечение гломерулонефритов.—М.: Novartis pharma services inc., 2000.—70 с.

9. Шилов Е.М., Краснова Т.Н. Иммунодепрессивная терапия гломерулонефрита // Materia Medica.—1995.—№ 2.—С. 21–37.

10. Futrakul P., Yenrudi S., Futrakul N., et al. Tubular function and tubulointerstitial disease // Amer. J. Kidney. Dis.—1999.—№ 5.—P. 886–891.

11. Pascual E. Gout update: from lab to the clinic and back // Curr. Opin. Rheumatol.—2000.—Vol. 12, № 3.—P. 213–218.

Поступила в редакцию 05.06.2001 г.