© Рикало Н.А., Андрощук О.В.
УДК: 591.461:599.323.4.:577.18:579.873.2
Рикало Н.А., Андрощук О.В.
Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, кафедра патофізіології (вул. Пирогова 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ НИРОК СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ ПРИ МЕДИКАМЕНТОЗНОМУ УРАЖЕННІ ТА ПАТОГЕНЕТИЧНІЙ КОРЕКЦІЇ

Резюме. *Проведено морфометричний аналіз структурних компонентів нирок статевонезрілих щурів при їх токсичному ураженні протитуберкульозними препаратами та патогенетичній корекції кверцетином та тіотриазоліном. Встановлено, що застосування обох препаратів при медикаментозному ураженні нирок ізоніазидом та рифампіцином сприяє відновленню структурних компонентів клубочків та епітеліоцитів проксимальних та дистальних канальців нирок, проте більшою мірою - тіотриазолін. За даними морфометричних показників введення тіотриазоліну призводить до посилення процесів репаративної регенерації нирок, що підтверджує його більш виразний нефропротекторний ефект у порівнянні з кверцетином.*
Ключові слова: *статевонезрілі щури, нирки, гістологічні зміни, морфометричні показники, ізоніазид, рифампіцин, тіотриазолін, кверцетин.*

Вступ

Останнім часом спостерігається тенденція до зростання числа медикаментозних уражень внутрішніх органів, зокрема, нирок, пов'язаних з прийомом антибіотиків, що зумовлено постійним збільшенням фармацевтичного ринку, частим і безконтрольним використанням лікарських засобів населенням [Якимів та ін., 2010]. Серед широкого спектру антибактеріальних лікарських препаратів, що здатні викликати ураження нирок, далеко не останнє місце займають протитуберкульозні препарати, зокрема рифампіцин та ізоніазид [Мацегора, Бєсєда, 2014]. Це пов'язано з тим, що, незважаючи на поступове зниження загальної захворюваності на туберкульоз, в Україні залишається стан епідемії туберкульозу. Окрім того, щорічно збільшується кількість хворих на хіміорезистентний туберкульоз, у тому числі на мультирезистентний, та туберкульоз із розширеною стійкістю, що підвищує ризик інфікування дітей резистентними формами збудника [Білогорцева, 2010]. Це, в свою чергу, передбачає довготривале призначення поліхіміотерапії, зокрема, комбінованого застосування рифампіцину та ізоніазиду [Фещенко та ін., 2008].

Відомо, що у дітей, інфікованих мікобактеріями туберкульозу, можуть виникати нефропатії, які характеризуються вогнищевою лімфоїдно-макрофагальною інфільтрацією інтерстицію, периваскулярним та інтерстиційним склерозом, дистрофічними змінами канальців, що свідчить про розвиток тубулоінтерстиційного нефриту. Виявлено, що на характер функціональних та морфологічних змін у нирках впливає довготривалість інфікування дітей мікобактеріями туберкульозу, що супроводжується наростанням вогнищевого гломерулярного, інтерстиційного склерозу та дистрофією епітелію канальцев [Рогацевич, 2005], а також тривалість та методи введення нефротоксичних протитуберкульозних препаратів, зокрема рифампіцину [Маслаускене, Николаева, 2005].

Мета: провести морфометричне дослідження структурних компонентів нефрону нирок статевонезрілих щурів при їх медикаментозному ураженні ізоніазидом і рифампіцином та корекції кверцетином і тіотриазоліном.

Матеріали та методи

Експериментальне дослідження медикаментозного ураження нирок протитуберкульозними препаратами було проведено на експериментальній моделі хронічного медикаментозного гепатиту (ХМГ) [Рикало та ін., 2012], шляхом інтрагастрального введення рифампіцину та ізоніазиду тричі на тиждень протягом 29 днів. Експериментальні тварини (48 нелінійних білих лабораторних статевонезрілих щурів з початковою масою тіла 60-70 г) були розподілені на 4 групи: 1-ша (n=12) - інтактні тварини, 2-га (n=12) - модулювання ХМГ, тваринам 3-ї групи (n = 12) паралельно із рифампіцином та ізоніазидом протягом 29 днів щоденно інтрагастрально вводили відповідно кверцетин ("Квертин", ЗАТ НВЦ "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод") із розрахунку 75 мг/кг, 4 групи (n=12) - тіотриазолін (АТ "Галичфарм", корпорація "Артеріум") із розрахунку 22,5 мг/кг. Перерахунок ОД50 для кверцетину та тіотриазоліну проводили за методикою Ю.Р. Риболовлєва [Риболовлев, Риболовлев, 1979].

Для гістологічного дослідження шматочки нирок фіксували в 10 % - му розчині забуференого нейтрального формаліну. Подальше проведення гістологі-

чних препаратів здійснювалося згідно загальноприйнятих методик [Сорочинников, Доросевич, 2000]. Виготовлення серійних парафінових зрізів товщиною 4-6 мкм проводилося на санному мікротомі. Фарбування препаратів здійснювалося гематоксиліном і еозиномпікрофуксиновою сумішшю за Ван Гізон.

Морфометричними показниками, які аналізувалися при вивченні гістологічної структури нирок, були: периметр просвіту проксимальних і дистальних канальців, зовнішній периметр проксимальних і дистальних канальців, периметр просвіту збірних трубочок, площа ниркового тільця, судинного клубочка та просвіту капсули [Иржанов, 2006].

Висловлюємо подяку доценту кафедри патологічної анатомії Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського Дацко Т.В. за допомогу у проведенні морфологічних досліджень.

Результати. Обговорення

При морфологічному дослідженні й аналізі морфометричних даних було виявлено, що при дії на організм тварин протитуберкульозних препаратів у порівнянні із контролем мали місце структурні зміни компонентів кіркового шару нирок, які характеризувалися збільшенням лінійних і об'ємних величин клубочкового і канальцевого апарату нирок. У тварин з ХМГ достовірно збільшувалась площа ниркових тілець на 30 % ($p<0,001$) переважно за рахунок зростання площі судинного клубочка на 25,5 % ($p<0,001$), що призвело до різкого зменшення просвіту капсули на 63 % ($p<0,001$). При цьому висота клітин епітеліального шару звивистих канальців збільшувалась порівняно з контролем на 40,7 %. Діаметр проксимальних канальців збільшувався незначно - на 5,14 %, при цьому діаметр їх просвітів зменшувався на 2,32 %, в основному за рахунок виразних дистрофічних змін в епітеліоцитах, діаметр ядер епітеліальних клітин зменшувався на 55 % ($p<0,001$). Більш виразні зміни спостерігались у дистальних канальцях - некроз набував субтотального характеру, висота епітеліоцитів збільшувалась на 46,75 % ($p<0,001$), діаметр канальців зростав на 40,8 %, при цьому просвіт їх зменшувався на 23 %, діаметри ядер епітеліоцитів зменшувались на 62,69 %, переважно за рахунок некробіозу та некрозу (див. табл. 1).

При застосуванні кверцетину для корекції токсичного впливу протитуберкульозних препаратів в тканині нирки виявлені наступні зміни. При співставленні з показниками тварин з ХМГ, зменшувались площа ниркового тільця на 2,45 % і площа судинного клубочка на 6,3 % ($p<0,05$), що, в свою чергу, призвело до збільшення площі просвіту капсули на 25,47 % ($p<0,01$). Окремі зміни спостерігались і в канальцевому компоненті ниркової паренхіми. Діаметри проксимальних звивистих канальців збільшувались на 22,5 %, їх просвіти також різко розширювались (на 39,69 %). Висота епітеліоцитів при цьому майже не змінювалась, тобто зменшувалася лише на 0,71 %. Некротичні зміни епітеліоцитів проксимальних звивистих канальців не зменшувались, про що свідчить зменшення діаметру ядер клітин на 23 %. Висота епітеліоцитів дистальних звивистих канальців майже не змінювалась, діаметри канальців зменшувались, лише на 2,8 %, діаметр просвіту візуально також не змінювався, а при мікровимірюванні мало місце збільшення показника всього лиш на 0,14 %. В той же час некротичні зміни епітеліоцитів регресували, про що свідчить зростання діаметрів їх ядер на 57,65 % (див. табл. 1).

При застосуванні тіотриазоліну у тварин з ХМГ площа ниркового тільця зменшувалась на 15,29 % ($p<0,001$), що значно перевищує показники у тварин із ХМГ+ кверцетин ($p<0,01$). При цьому зменшується площа судинного клубочка на 22,98 % ($p<0,001$), що знову ж таки суттєво відрізняється від величини аналогічного параметра у тварин, які отримували кверцетин ($p<0,001$). Величина площі просвіту капсули інтенсиф-

Таблиця 1. Морфометричні показники структурних компонентів нефрона нирки тварин при дії протитуберкульозних засобів та на фоні корекції гепатопротекторами (M±m).

Показники	Досліджувані групи			
	Контроль n=12	ХМГ n=12	ХМГ+ тіотриазолін n=12	ХМГ+ кверцетин n=12
Ниркове тільце				
S ниркового тільця	3991±98	4847±129***	4731±89	4204±113### p_3 - p_4
S судинного клубочка	3295±29	4420±69***	4158±84#	3594±51### p_3 - p_4
S просвіту капсули	696±50	427±18***	573±43##	610±40###
Проксимальні звивисті канальці				
D діаметр клітин	8,3± 0,9	14,0±3,1	13,9±2,7	9,8±0,9
D діаметр ядра клітини	5,88±0,50	2,65±0,02***	2,04±1,10	6,20±0,90 p_3 - p_4
D канальця	33,2±3,2	35,0±6,6	45,15±12,7	36,6±9,4
D діаметр просвіту канальця	16,57±2,40	7,90±3,70	17,10±4,30	17,40±2,60#
Дистальні звивисті канальці				
D діаметр клітин	5,86±0,01	8,60±0,90***	8,50±0,11	6,70 ±0,04### p_3 - p_4
D діаметр ядра клітини	1,93±0,03	0,72±0,09	1,70±0,90	2,23 ±0,40
D канальця	29,7±2,9	31,8±2,2	30,9±7,4	30,7±4,1
D діаметр просвіту канальця	17,98±3,01	13,88±3,00	13,90±4,60	17,30±2,90

Примітки: *** - достовірна різниця у порівнянні з контролем ($p<0,001$); # - достовірна різниця у порівнянні з ХМГ ($p<0,05$); ## - достовірна різниця у порівнянні з ХМГ ($p<0,01$); ### - достовірна різниця у порівнянні з ХМГ ($p<0,001$); p_3 - p_4 - достовірна різниця між групами ХМГ + кверцетин та ХМГ + тіотріазолін ($p<0,05$).

ікувалася на 30 % ($p<0,001$), що вказує на процеси відновлення у клубочковому апараті нирок при застосування тіотриазоліну. Виразні зміни спостерігались і в канальцевій складовій нефронів. Діаметри проксимальних звивистих канальців незначно збільшувались (на 4,37 %), однак при цьому просвіти їх розширювались в основному через зменшення висоти епітеліоцитів на 42,8 %. Некротичні зміни епітеліоцитів також зменшувались, про що свідчить зростання діаметру ядер клітин у 2,3 рази, що достовірно різниться від показників у тварин з ХМГ та паралельним введенням кверцетину ($p<0,01$). Висота епітеліоцитів дистальних звивистих канальців достовірно зменшувалась на 22,09 % ($p<0,001$), що також значно перевищує показники попередньої досліджуваної групи ($p<0,001$). Незначно зменшувався діаметр канальців (на 3,45 %), та діаметр їх просвіту (на 24,63 %). Поряд із цим відновлювалась структура ядер клітин та посилювалась їх регенераторна активність, що проявилося виразним зростанням діаметру ядер (див. табл. 1).

Отже, трансформацію периметрів ниркових тілець та ниркових канальців можна вважати цінними морфометричними критеріями, що характеризують ураження ниркової паренхіми в умовах токсичного впливу препаратів іоніазиду і рифампіцину та при застосуванні кверцитину і тіотриазоліну з метою корекції побічної нефротоксичної дії зазначених протитуберкульозних середників. При цьому має місце зменшення зовнішніх периметрів ниркових та звуження їх просвіту, що є наслідком дистрофічних і некротичних змін нефротелію, а також його десквамації. Порівняльна оцінка динаміки змін морфометричних показників ниркової тканини при використанні кверцетину і тіотриазоліну засвідчує, що саме останній має більш виразний корегуючий вплив і зменшує порушення кровопостачання структур нирки, чим сприяє швидшому відновленню епітеліоцитів проксимальних та дистальних канальців.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Морфометрично підтверджено, що інтрагастральне введення рифампіцину та ізоніазиду тричі на тиждень протягом 29 днів статевонезрілим щурам спричинює ушкодження всіх відділів нефрону.

2. При токсичному ураженні нирок протитуберкульозними препаратами застосування тіотриазоліну та кверцетину позитивно впливає на морфологічну структуру нирок, зменшує дистрофічні та некротичні зміни клуб очкового та канальцевого апарату нирок.

3. За даними показників морфометричного дослідження тіотриазолін має більш виразний нефропротекторний ефект у порівнянні з кверцетином, на що вказує достовірне зменшення площі ниркового тільця, судинного клубочка, а також зменшення некротичних змін епітеліоцитів.

В подальшому, у зв'язку з актуальністю морфологічних досліджень, метою яких є створення теоретичної основи для попередження розвитку токсичної нефропатії, викликаної протитуберкульозними засобами, перспективним є проведення подальших досліджень щодо використання нефропротекторних властивостей тіотриазоліну та кверцетину.

Список літератури

Білогорцева О. І. Епідеміологічна ситуація з дитячого туберкульозу в Україні та завдання педіатричної та фтизіатричної служб щодо удосконалення протитуберкульозної роботи серед дітей / О. І. Білогорцева // Современная педиатрия. - 2010. - № 2. - С. 22-26.

Иржанов С. И. Клинико-морфологические характеристики поражения почек при сепсисе / С. И. Иржанов, И. И. Ли // Вестник КазНМУ. - 2006. - № 2. - С. 201-202.

Маслаускене Т. П. Побочное действие противотуберкулезных препаратов / Т. П. Маслаускене, С. В. Николаева / / Сибирский медицинский журнал. - 2005. - Том 52. - № 3. - С. 13-19.

Мацегора Н. А. Діагностичне значення досліджень генів ферментів детоксикації і мікроальбумінурії у хворих на вперше діагностованим туберкульозом легень/ Н. А. Мацегора, Я. В. Бєсєда // Сучасні медичні технології. - 2014. -№ 2. - С. 63-69.

Рикало Н. А. Експериментальна модель хронічного медикаментозного гепатиту у статевонезрілих щурів / Н. А. Рикало, О. Ю. Гумінська, О. В. Андрощук // Таврический медико-биологический вестник. - 2012. - Т. 15. - № 3, ч. 1 (59). - С. 283-286.

Рогацевич Т. К. Морфологические изменения в почках при нефропатиях в зависимости от длительности инфицирования детей микобактериями тубеерккулеза / Т. К. Рогацевич // Нефрология и диализ. - 2005. - Т. 7. - № 4. - С. 283-286.

Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады Академии Наук СССР. - Т. 247. - С.1513-1516.

Сорочинников А. П. Гистологическая и микроскопическая техника: Руководство / А. П. Сорочинников, А. Е. Доросевич // - Смоленск: "САУ" - 2000.- 476 с.

Оцінка значущості побічних реакцій протитуберкульозних препаратів при лікування туберкульозу / Ю. І. Фещенко, С. О. Черенько, В. І. Мальцев [та ін.] // Український медичний часопис. - 2008. - № 3. - С. 117-125.

Якимів А. І. До питання безпеки фармакотерапії: гепатотоксичність лікарських засобів / А. І. Якимів, Б. Л. Парновський, А. Б. Зіменковський // Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація. - 2010. - № 3-4. - С. 160-166.

Рыкало Н.А., Андрощук О.В.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТОВ ПОЧЕК НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПРИ МЕДИКАМЕНТОЗНОМ ПОРАЖЕНИИ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

Резюме. *Проведен морфометрический анализ структурных компонентов почек неполовозрелых крыс при их токсическом поражении противотуберкулезными препаратами и патогенетической коррекции кверцетином и тиотриазолином. Установлено, что применение обоих препаратов при медикаментозном поражении почек изониазидом и рифампицином*

способствует восстановлению структурных компонентов клубочков и эпителиоцитов проксимальных и дистальных канальцев почек, но в большей степени - тиотриазолин. По данным морфометрических показателей введение тиотриазолина приводит к усилению процессов репаративной регенерации почек, что подтверждает его более выраженный нефропротекторный эффект по сравнению с кверцетином.
Ключевые слова: *неполовозрелые крысы, почки, гистологические изменения, морфометрические показатели, изониазид, рифампицин, тиотриазолин, кверцетин.*

Ricalo N.A., Androshchuk O.V.
MORPHOMETRIC PARAMETERS OF STRUCTURAL COMPONENTS OF THE KIDNEY IMMATURE RATS WITH MEDICAL AND PATHOGENETIC INJURY COMPENSATION

Summary. *An morphometric analysis of the structural components of the kidney immature rats at a toxic lesion of anti-TB drugs and pathogenetic correction of quercetin and Thiotriazoline. It was found that the use of both drugs in drug-induced renal isoniazid and rifampicin helps restore the structural components of the glomerular epithelial cells, and proximal and distal tubules of the kidneys, but to a greater extent - thiotriazoline. According to the morphometric parameters Thiotriazoline administration leads to increased process of reparative regeneration of kidneys, which confirms its nephroprotective more pronounced effect than quercetin.*
Key words: *immature rat kidney histological changes, morphometric parameters, isoniazid, rifampicin, thiotriasolin, quercetin.*

Стаття надійшла до редакції 27.11.2014 р.

Рикало Надія Анатоліївна - зав. кафедри патофізіології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, доктор медичних наук, доцент; rikalo77@mail.ru
Андрощук Ольга Василівна - старший викладач кафедри патофізіології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова; androshuk75@mail.ru.