

МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА СТАНУ НИРОК НА МОДЕЛІ ГОСТРОЇ НИРКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ ПІД ВПЛИВОМ БЕНФУРАМУ

¹Харківська державна зооветеринарна академія (м. Харків)

²ДУ «Інститут фармакології та токсикології» (м. Київ)

kornienko-valentina1966@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Стаття є фрагментом комплексної теми кафедри фармакології і токсикології Харківської державної зооветеринарної академії та відділу фармакології ДУ «Інститут фармакології та токсикології» «Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці» (№ державної реєстрації 0106U003709).

Вступ. Дослідження взаємозв'язаних механізмів водно-сольового обміну і ниркової патології привертає велику увагу. Водно-електролітний обмін належить до головних систем регуляції гомеостазу організму [1]. Регуляція балансу натрію і води – одна з найважливіших гомеостатичних функцій організму. Функція нирок і механізми, які її регулюють, направлені на вирівнювання змін водно-електролітного балансу. Знання механізмів, регулюючих водно-натрієвий баланс у фізіологічних і патологічних ситуаціях, є важливим для розробки методів раціональної фармакотерапії діуретичними засобами [2,3].

Проблема лікування ниркової патології і порушень водно-електролітного обміну далека від остаточного рішення [4,5]. В зв'язку з цим пошук нових діуретичних засобів є актуальним завданням сучасної експериментальної фармакології. За результатами попереднього фармакологічного скринінгу в ряду сполук похідних ксантину був відібраний бенфурам, який володіє діуретичною активністю: збільшує спонтанний діурез за рахунок покращення фільтраційної функції нирок і підвищення екскреції натрію. Перевагою бенфураму перед гіпотіазидом є його менша калійуретична активність [6-8].

Мета дослідження. Вивчити вплив бенфураму на морфологічний стан нирок на моделі гострої ниркової недостатності.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження був бенфурам, що покращує видільну функцію нирок за умов експериментальної нефропатії. В експерименті використали чотири групи щурів по п'ять тварин в кожній. Експериментальні дослідження було проведено з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.).

I група – інтактний контроль, II група – контрольна патологія, III група – введення бенфураму на тлі ниркової недостатності та IV група – введення препарату порівняння корвітіну на тлі патології. Ниркову недостатність викликали одноразовим підшкірним

введенням 2,5% розчину хромату калію в дозі 0,07 мл на 100 г маси тіла щурів. В той же день, що і нефротоксичний чинник, внутрішньошлунково вводили досліджуваний препарат бенфурам в дозі 30 мг/кг і препарат корвітін в дозі 50 мг/кг протягом 7 днів. Виведення щурів з експерименту проводили методом декапітації під легким ефірним наркозом на 8-й день експерименту. Матеріал для гістологічного дослідження фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, заливали в целоїдин-парафін. Зрізи органів товщиною 5-7 мкм забарвлювали гематоксилином і еозином [9,10].

Світлооптичне дослідження мікропрепаратів проводили під мікроскопом «Leica DM 1000 LED». Отримані цифрові дані обробляли з використанням непараметричних методів (критерій Kruskal-wallis і тест Mann-whitney) [11].

При дослідженні нирок проводили наступні морфометричні вимірювання: діаметр ниркових тілець, судинних клубочків, підраховували кількість мезангіальних клітин в клубочках. Оцінювали ступінь ураження ниркових тілець, нефротелія канальців, наявність змін та їх інтенсивність в інтерстиції. Результати оцінювали в балах – відсутність змін; 0,5 бали – слабкі зміни (порушена структура до 5% канальців або клубочків); 1 бал – помірні зміни (порушено до 20% канальців і клубочків, мікрозміни в стромі); 2 бали – середні зміни (порушення до 30-35% клубочків і канальців, дрібно осередкові зміни в стромі); 3 бали – виражені зміни (порушено до 50-90% клубочків і канальців, осередкові зміни в стромі).

Результати досліджень та їх обговорення. Макроскопічні спостереження. При розтині щурів встановлено, що нирки тварин інтактною групи звичайні за розміром, капсула знімається без труднощів. Поверхня органів гладка, колір червонувато-коричневий. На розрізі нирки рисунок тканини чіткий, темна кіркова речовина нирки відмежована від мозкової. У щурів з групи контрольної патології нирки збільшені, капсула напружена і при найменшому надрізі миттєво сповзає з органа. Поверхня нирки гладка, колір блідо-сірий. На розрізі в більшості щурів рисунок шарів згладжений, кірковий шар набухлий, забарвлення більш бліде, ніж у мозковому шару. У щурів, яким вводили бенфурам, нирки за розміром, кольором, станом капсули, характером рисунків шарів наближаються до інтактного контролю, в одному випадку мікроскопічна картина нирок відповідає контрольній патології. Нирки у більшості щурів, які отримували корвітін, були дещо збільшеними за розміром, мали сіруватий відтінок, в ряді випадків рисунок тканини на розрізі був стертий.

Таблиця 1– Напівкількісна оцінка морфоструктури нирок щурів різних експериментальних груп

Морфологічні показники	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Бенфурам	Корвітін
Кількість тварин в групі	5	5	5	5
Ниркові тільця	0	2,00 ¹	1,11 ²	1,0 ²
Звиті канальці	0	2,23 ¹	1,40 ^{1,2}	1,60 ^{1,2}
Інтерстиціальна строма	0	2,44 ¹	1,25 ^{1,2}	1,50 ^{1,2}
Прямі канальці, збірні трубочки	0	1,56 ¹	0,48	0,66
Загальний бал по групі	0	8,23	4,24	4,76

Примітка: ¹достовірно щодо інтактного контролю ($P \leq 0,05$); ²достовірно щодо контрольної патології ($P \leq 0,05$).

Мікроскопічні спостереження. В нирках інтактних щурів збережені всі структурні елементи: нефрони, судинні та стромальні компоненти. Встановлено чітке розділення на кору і мозкову речовину. Клубочки нефрону без патологічних змін. Рисунок капілярних петель клубочків достатньо виражений. Стан проксимальних і дистальних відділів канальців нефронів відповідає нормі. Ступінь розпушення апікальних відділів нефроцитів незначний. Ниркові клубочки і система канальців нормальної будови. Морфометричні показники представлені в **табл. 1**.

Одноразове підшкірне введення хромату калію викликає у щурів виражені зміни структури нирок (**табл. 2**). У найбільш важких випадках (50%) вони розповсюджуються на фільтраційний і каналцевий апарат нирки. Нирки мають значні ділянки некрозу та некробіозу епітелію канальців і клубочків. Збережені островці ниркової паренхіми мають виражені дистрофічні зміни, у просвітах канальців білковий інфільтрат. Відмічається лімфоїдна інфільтрація строми. У дистальних і проксимальних частинах канальців нефронів виявлено виражене сплюснення нефротелію, тубулогідроз. У найбільш важких випадках патологічні зміни зачіпають фільтраційний апарат. У деяких полях зору видно втрату структури, кальцифікати на місці загиблих ниркових тілець.

В 30% щурів ураження клубочків можна віднести до середніх змін, меншої інтенсивності. В 20% щурів контрольної групи, порушення гістоструктури нирок були мінімальними. Ниркові тільця не змінені, відмічена помірна проліферація мезангіальних клітин. Зміни в канальцях кіркової речовини обмежуються набуханням і осередковою дезорганізацією і вакуолізацією нефроцитів.

Після семи днів введення бенфураму вираженість порушень в структурі нирок тварин розподілялися таким чином: у 60% випадків слабкі зміни. Спостерігали не різко виражене розширення просвіту, набухання нефротелію, дрібні ділянки дезорганізації і вакуолізації клітин. Фільтраційний апарат,

Таблиця 2 – Прояв змін морфологічної структури нирок щурів різних експериментальних груп (гістологічні показники)

Група тварин	Кількість тварин в групі	Вираженість патології % тварин			
		Відсутність змін	Слабкі зміни	Середні зміни	Виражені зміни
Інтактний контроль	5	100	0	0	0
Контрольна патологія	5	0	10,0	30,0	60,0
Корвітін	5	0	50,0	30,0	20,0
Бенфурам	5	0	60,0	20,0	20,0

збиральні трубочки, строма органа не були змінені. У 20% щурів спостерігали середні зміни. Щури з вираженими порушеннями фільтраційного апарату і каналцевої системи склали лише 20% від загальної кількості щурів. У каналцевому апараті зустрічалися дистрофічні зміни епітелію, зрідка – розтягування, коли парціальні пошкоджені епітеліальні клітки приймали форму сплюснення. Практично нормальна структура органу, дрібні осередки клітинної інфільтрації.

На відміну від тварин з групи патології виявляються ознаки регенерації тканини: осередкова проліферація епітеліоцитів, виступаючих в просвіт канальців. Загальний показник по групі складає 4,24 бала, що в 1,94 рази нижче показників контрольної патології (**табл. 1**).

Нирки тварин, яким вводили препарат порівняння корвітін, візуально відрізнялися від норми кольором (сіруватий відтінок з крапом), консистенцією (набрякли), станом капсули (трохи напружена). Розміри наближались до нормальних. У 60% тварин виявлені зміни можна охарактеризувати як помірні (**табл. 2**), такі, що зачіпають незначну (від 5 до 20%) частину звитих канальців. Фільтраційний апарат, прямі канальці та збірні трубочки у таких тварин змін не торкнулися. У стромі подекуди видно дрібні скупчення лімфоїдних клітин. У 20% тварин спостерігали слабкі зміни. У звитих канальцях виявлені дистрофічні зміни епітелію: вакуолізація, некроз, невеликі осередки клітинної інфільтрації. У частині клітин в епітелії канальців відмічено регенеративне збільшення кількості двоядерних клітин, які інколи заповнювали просвіт в канальцях. Просвіти деяких канальців розширені, нефротелій сплюснений. У інших відмічено розпушення і набухання епітелію, лімфоїдну інфільтрацію строми.

У стромі зустрічалися дрібно осередкові інфільтрати. У 20% випадків зміни по вираженості не відрізнялися від контрольної патології. Показники, що характеризують стан ниркових тілець і каналцевого апарату, поліпшуються в порівнянні з контрольною патологією (**табл. 1**). Загальний бал змін по групі склав 4,76 бала що в 1,73 рази нижче показників контрольної патології.

Аналіз отриманих результатів дозволяє класифікувати експериментальну патологію, яка розвинулась після введення хромату калію, як некротичний нефроз середньої тяжкості. У щурів групи контрольної патології спостерігали одночасно зміни у клубочковому і в каналцевому апаратах, в іншій частині – тільки в каналцевому апараті. У розвитку і дистрофії канальців значну роль відіграє безпосередня дія на епітелій речовин, які чинять нефротоксичну дію. Некроз канальців і пошкодження їх базальних мембран є причиною порушення каналцевої реабсорбції, надходження клуб очкового ультрафільтрату плазми в нирковий інтерстицій, що призводить до порушення функції канальців та сприяють посиленню каналцевої реабсорбції і зниження видільної функції нирок та розвитку ниркової недостатності [12,13]. Після введення бенфураму у більшості щурів спо-

стерігали покращення гістологічної картини нирок. При цьому ураження канальцевої системи в 3,25 рази виражене менше, ніж у групі з контрольною патологією, а також 1,8 рази знижені зміни ниркових клубочків. Механізм позитивного впливу бенфураму на стан нирок на тлі експериментальної нефропатії може пояснюватися наявністю у 3-метилксантинів протизапальної, аналгетичної, антиоксидантної та діуретичної властивостей [14-17]. Препарат порівняння корвітин сприяв відновленню морфоструктури різних відділів нефронів, ураження канальцевої системи спостерігалось в меншій мірі в 2,36, також в 2 рази знижені зміни ниркових клубочків.

Висновки

1. При хромат калієвій нирковій недостатності у щурів розвивається стійка патологія нирок, яка впливає на морфологічні відділи нефронів.

2. При експериментальній нирковій недостатності бенфурам позитивно впливає на морфологічну структуру нирок, проявляє терапевтичний ефект.

3. Бенфурам перевищує лікувальну дію препарату порівняння корвітіна.

Перспективи подальших досліджень. Результати попередніх експериментальних досліджень виявили, що бенфурам є малотоксичною сполукою, якому притаманні протизапальні, аналгетичні, антиоксидантні та діуретичні властивості. Таким чином, похідне 3-метилксантинубенфурам є перспективною фармакологічною речовиною для подальшого дослідження специфічної активності та безпечності з метою створення нового ефективного діуретичного засобу.

Література

1. Glezer GA. Diuretiki: rukovodstvo dlja vrachej. Moskva: Interbuk-biznes; 1993. 352 s. [in Russian].
2. Glezer MG, Glezer GA. Spravochnik po farmakoterapii serdechno-sosudistyh zabolevanij. Moskva: Avicenna; Juniti; 1996. 584 s. [in Russian].
3. Mashkovskij MD. Lekarstvennye sredstva. 15 th ed. Moskva: Novaya volna; 2008. 1206 s. [in Russian].
4. Stefanov OV, redaktor. Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv. Kyiv: Avitsena; 2001. 528 s. [in Ukrainian].
5. Ng GY, Baker EH. Aminophylline as an adjunct diuretic for neonates case series. Int. J. Cardiol. 2006;110(1):122-4.
6. Kornienko VI, Samura BA, Romanenko NI. Vlijanie benfurama na lipidnyj obmen pri jeksperimental'noj giperholesterinemii. Problemy ekologichnoi' ta medychnoi' genetyky i klinichnoi' imunologii'. 2013;2(116):230-6. [in Russian].
7. Kornienko VI. Vlijanie benfurama na vodno-jelektrolitnyj obmen v uslovijah ostrogo jeksperimental'nogo nefrita. Ukrai'ns'kyj zhurnal klinichnoi' ta laboratornoi' medycyny. 2013;8(1):116-9. [in Russian].
8. Kornijenko VI, Samura BA. Doslidzhennja vplyvu benfuramu na vodno-elektrolitnyj balans ta fil'tracijnu funkciju nyrok u shhuriv v umovah spontanogo diurezu. Bukovyns'kyj medychnyj visnyk. 2012;16.3(63).2:144-6. [in Ukrainian].
9. Novak VP, Mel'nychenko AP. Cytologija, gistologija, embriologija. Bila Cerkva: Navch. posibnyk; 2005. 256 s. [in Ukrainian].
10. Novak VP, Bychkov JuP, Pylypenko MJu. Cytologija, gistologija, embriologija. Kyiv: Dakor; 2008. 512 s. [in Ukrainian].
11. Lapach SN, Chubenko AV. Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyah s ispolzovaniem EXCEL. Kyiv: Morion; 2000. 320 s. [in Russian].
12. Dzhejms A, Shejman. Patofiziologija pochki. per. s ang. 2-e izd. J.M: SPb: Binom. Nevskij Dialekt; 1999. 206 s. [in Russian].
13. Nadai M, Kato M, Yoshizumi F. Possible involvement of organic anion and cation transporters in renal excretion of xanthine derivatives, 3-methylxanthine and enprofylline. J Life Sci. 2007;22(15):1175-82.
14. Ivanchenko DG, Romanenko NI, Kornienko VI. Synthesis and Antioxidant Activity of 8-bromo-7-(2-hydroxy-3-aryloxyprop-1-yl) theophyllines. Chemistry of Natural Compounds. 2018;54(3):532-4.
15. Kornijenko VI, Duchenko KA, Ladogubec' OV, Ponomarenko OV, Garkusha IV. Vyvchennja mozhyvoi' ul'cerogennoi' ta miscevpodraznjuchoi' dii' benfurama. Svit medycyny ta biologii'. 2018;3(65):159-62. [in Ukrainian].
16. Kornijenko VI, Duchenko KA, Ladogubec' OV, Ponomarenko OV, Garkusha IV. Doslidzhennja gostroi' toksychnosti ta antyeksudatyvnoi' aktyvnosti pohidnyh ilidengidrazydiv 8-piperidinoteofilinil-7-octovoi' kysloty. «Young Scientist». 2018;5(57):5-8. [in Ukrainian].
17. Kornijenko VI, Ladogubec' OV, Ponomarenko OV, Garkusha IV, Duchenko KA. Vyvchennja vplyvu novogo pohidnogo metylteofilinu na funkcional'nyj stan nyrok u shhuriv na tli spontanogo diurezu. Veterynarija, tehnologija tvarynnyctva ta pryrodokorystuvannja. 2018;2:46-8. [in Ukrainian].

МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА СТАНУ НИРОК НА МОДЕЛІ ГОСТРОЇ НИРКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ ПІД ВПЛИВОМ БЕНФУРАМУ

Корнієнко В. І., Серединська Н. М., Ладогубець О. В., Дученко К. А., Пономаренко О. В., Гаркуша І. В.

Резюме. Проведено експериментальне дослідження впливу бенфураму на морфологію нирок при експериментальній нирковій недостатності у щурів. Встановлено, що при підшкірному введенні щурам хромату калію розвивається стійка патологія нирок, що позначається на морфології різних відділів нефронів. Бенфурам проявляє виражений терапевтичний ефект при експериментальній патології нирок, що позитивно впливає на їх морфологічну структуру. За вираженістю лікувального ефекту бенфурам перевищує препарат порівняння корвітин. Бенфурам є перспективною фармакологічною речовиною для подальшого проведення дослідження діуретичної активності і безпечності з метою створення на його основі вискоєфективного препарату для поліпшення видільної функції нирок.

Ключові слова: бенфурам, морфологія нирок, діуретична активність.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПОЧЕК НА МОДЕЛИ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПОД ВЛИЯНИЕМ БЕНФУРАМА

Корниенко В. И., Серединская Н. Н., Ладогубец Е. В., Дученко Е. А., Пономаренко О. В., Гаркуша И. В.

Резюме. Проведено експериментальне дослідження впливу бенфураму на морфологію почек при експериментальній почечній недостатності у крыс. Установлено, що при підкожному введенні крысам хромата калія розвивається стійка патологія почек, которая отражается на морфологии разных отделов нефрона. Бенфурам проявляет выраженный терапевтический эффект при экспериментальной патологии почек, который положительно влияет на их морфологическую структуру. По выраженности лечебного эффекта бенфурам превышает препарат сравнения корвитин. Бенфурам является перспективным фармаколо-

гическим веществом для последующего проведения исследования диуретической активности и безопасности с целью создания высокоэффективного препарата для улучшения выделительной функции почек.

Ключевые слова: бенфурам, морфология почек, диуретическая активность.

MORPHOLOGICAL EVALUATION OF KIDNEY CONDITIONS ON ACUTE KIDNEY FAILURE MODELS OF UNDER INFLUENCE BENFURAM

Kornienko V. I., Seredinska N. M., Ladogubets O. V., Duchenko K. A., Ponomarenko O. V., Harkusha I. V.

Abstract. The aim of the work is a morphological estimation of the renal state under the influence of benfuram at the terms of experimental renal insufficiency. The semiquantitative estimation of indexes, that display the state of renal corpuscles, the tubular and the interstitium were conducted.

The pathology was caused by non-permanent hypodermic introduction of a 2.5% potassium chromate solution (in the dose of 0.07 ml per 100 g of rats body weight). The light-optical research of microslides was conducted under "Leica DM 1000 LED" microscope. The obtained data were processed using non-parametric methods (criterion of Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test).

Macroscopic researches of organs of rats (group of control pathology) showed that buds are megascopic, the capsule is in tense, the surface of bud is smooth and the color is pale grey. On a cut, the picture of layers is smoothed out, the crust layer is expended, the coloring is more pale, than in cerebral layer. For rats, which were administered by benfuram, buds in size, color, state of capsule, character of layers picture, approach rats of intact control. Buds in most rats, which got hypothiazide, were some megascopic in size, had a greyish tint, in a number of cases the picture of tissue was effaced on a cut.

The microscopic supervisions of control group demonstrate nephrons, which are totally stored, clear dividing into a bark and cerebral substance, corpuscles without pathological changes, an epithelium keeps integrity. Introduction of the potassium chromate causes renal tubules and glomerulis necrosis and necrobiosis, expansion of renal tubuli, flattening and dystrophy of epithelium, lymphoid stromal infiltration. The tubulohydrosis and the focal renal tissue atrophy is determined in a cerebral layer.

After seven days of introduction of benfuram in 60% cases – weak changes were observed: the not sharply expressed expansion of opening, swelling of renal tissue, shallow areas of disorganization and cell vacuolisation. The filtration apparatus, collective tubes and direct distal tubules, the stroma of the organ, were not changed. 20% of rats were shown average changes. There are signs of regeneration of the damaged structures of binuclear cells in tubules. Unlike animals from the group of pathology, the signs of tissue regeneration have been appeared. A general index on a group makes 4.24 points, that in 1.94 times lower of control pathology indexes.

Kidneys of animals, which were administered by hypothiazide, show moderate changes in 60% of animals. Not sharply expressed expansion of opening, shallow areas of disorganization and swelling of epithelium were observed. The filtration apparatus, collective tubes and direct distal tubules are untouched. In part of cells in tubules epithelium the regenerative increase of dinuclear cells amount is marked. The opening of some tubules are extended, renal tissue is oblate. The general point of changes on a group made up 4.76 points, that in 1.73 times below of control pathology indexes.

Necrosis of tubules and damage of their basale membranes is the reason of tubule reabsorption disorder and decline of renal secretory function. After introduction of benfuram to most rats, the improvement of histological picture was observed. Thus the damage of the tubule system is in 3.25 times less expressed than in a group with control pathology, and also in 1.8 times changes of renal glomerulis are decreased. The sample drug hypothiazide assisted in morphological structure proceeding of different parts of nephrons, the damage of the tubule system is shown less than in 2.36 times, the changes of renal glomerulis are decreased in 2 times.

Thus, benfuram is a perspective pharmacological substance for further research of specific activity and safety in order to create new effective diuretic drug.

Key words: benfuram, kidney morphology, diuretic activity.

Рецензент – проф. Проніна О. М.

Стаття надійшла 13.04.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-2-156-266-271

УДК 611.61.018.1-055.62]:616-008.9-092.9

Коротчук Є. В., Григор'єва О. А.

ДИНАМІКА МОРФОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ НИРКИ ЩУРІВ, ОТРИМАНИХ ВІД МАТЕРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

Запорізький державний медичний університет (м. Запоріжжя)

korotchuk.zsmu@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом науково-дослідницької роботи кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету «Реактивність органів новонароджених після дії антигенів

та факторів різної дії у внутрішньоутробному періоді», № державної реєстрації 0115U003875.

Вступ. Метаболічний синдром є мультифакторним станом для розвитку серцево-судинних захворювань та цукрового діабету II типу [1]. Поширеність метаболічного синдрому у популяції складає від 10%