

**І.І.Заморський
Т.С.Щудрова**

ВДНЗ України «Буковинський
державний медичний універси-
тет»
Чернівці

Ключові слова: ішемічно-
реперфузійне пошкодження
нирок щурів, морфологічні
зміни, органоспецифічні пеп-
тиди, нефропротекція.

Надійшла: 21.08.2016

Прийнята: 12.09.2016

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2016.3.165-169>

УДК 615.324:577.112.6

ВПЛИВ ОРГАНОСПЕЦИФІЧНИХ ПЕПТИДІВ НА МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ НИРОК ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЇХ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНОГО ПОШКОДЖЕННЯ

Дослідження є фрагментом планової комплексної міжкафедральної теми „Дизрегуляторні порушення нейроімуноендокринних взаємовідносин та шляхи їх корекції” (номер державної реєстрації 0114U002469).

Реферат. У роботі досліджено гістопатологічні зміни нирок щурів за умов ішемічно-реперфузійного пошкодження. Виявлено дистрофічне пошкодження епітеліоцитів проксимальних каналців у вигляді гідропічної вакуолізації та балонної дистрофії, некротичну загибель значного відсотку клітин, що супроводжувалось набряком та порушенням структури клубочків. Встановлено цитопротекторну активність органоспецифічних пептидів, яка полягала у обмеженні ступеня та розповсюдженості патологічних змін.

Morphologia. – 2016. – Т. 10, № 3. – С. 165-169.

© І.І.Заморський, Т.С.Щудрова, 2016

✉ zamorskii@mail.ru

Zamorskii I.I., Shchudrova T.S. The effect of organospecific peptides on morphological changes in kidneys of rats with ischemia-reperfusion kidney injury.

ABSTRACT. Background. Renal ischemia/reperfusion (I/R) accounts for a significant number of acute kidney injury cases in humans. It calls forth the search of novel therapies able to prevent progression and improve prognosis by the protection of tubular cells and restoration of tubular function. **Objective.** To study the histopathological changes in kidneys of rats with I/R with estimation of the renoprotective potential of the organospecific peptides — peptide kidney complex (PKC), synthetic peptides AED, EDL and AEDG. **Methods.** The study was conducted on 42 non-linear rats. Renal I/R was modeled by the clamping of both renal pedicles during 60 min following by 24-hour reperfusion. Documentation of the pathological processes was performed by the computer morphometry of objects in histological preparations. **Results.** Development of the I/R kidney injury resulted in the significant pathological changes in kidney tissue: coagulative necrosis of the 54±3.2% epithelial cells of proximal tubules with the signs of hydropic vacuolization or ballooning degeneration in the rest of cells; 35±2.2% of glomeruli are swollen, some are deformed. In the medulla tubular lumen are dilated and filled with hyaline casts, vascular plethora, hemorrhages and subendothelial edema are found. Use of organospecific peptides PKC, EDL and AEDG contributes to the restraint of the histopathological changes, which is confirmed by the decrease of the prevalence and severity of tubular necrosis and dystrophy. Peptide EDL also prevents the injury of glomeruli. **Conclusion.** Obtained results verify the more significant protective effect of synthetic peptides EDL and AEDG, less marked mitigation of injury under the influence of PCK along with the absence of significant improvement of kidney histopathology in case of peptide AED use.

Key words: Ischemia-reperfusion kidney injury, morphological changes, organospecific peptides, renoprotection.

Citation:

Zamorskii I.I., Shchudrova T.S. [The effect of organospecific peptides on morphological changes in kidneys of rats with ischemia-reperfusion kidney injury]. *Morphologia*. 2016;10(3):165-9. Ukrainian.

Вступ

Ішемічно-реперфузійне пошкодження (І/Р) — це головна причина клінічної маніфестації гострого ураження нирок та його наслідків, розвиток якого зумовлений комплексною взаємодією між судинними, каналцевими та запальними факторами [1; 2; 3]. Сучасні доклінічні дослідження спрямовані на пошук засобів для попередження та покращення перебігу І/Р, які здатні

впливати на головні патогенетичні ланки розвитку патології, захищати клітини каналців від uszkodження та сприяти їх регенерації [4; 5].

Отже, **метою** нашого дослідження було вивчення впливу розроблених у Санкт-Петербурзькому інституті біорегуляції та геронтології (РФ) органоспецифічних для нирок пептидів: пептидного комплексу нирок (ПКН), синтетичних пептидів AED, EDL, а також пінеалос-

пецифічного пептиду AEDG, які проявляють нефропротекторну дію [6; 7], на зміни гістоархитури нирок щурів на тлі розвитку І/Р.

Матеріали та методи

Досліди проведено на 42 статевозрілих нелінійних білих щурах масою 150–200 г. Тварин було розподілено на 6 груп (n=7): I група — контроль (псевдооперовані тварини), II група — моделювання І/Р, тваринам III групи протягом трьох днів до моделювання І/Р вводили ПКН (300 мкг/кг), IV групи — пептид EDL (3 мкг/кг), V групи — пептид AED (3 мкг/кг) та VI групи — пептид AEDG (7 мкг/кг). Ішемію моделювали із дотриманням умов асептики під загальною анестезією (етамінал-натрій, 40 мг/кг): виконували середню лапаротомію, виділяли кожну нирку, накладаючи на ниркову ніжку затискач з метою перетискання артерії, вени та сечоводу терміном на 60 хв з наступною герметизацією черевної порожнини. Після видалення затискача черевну порожнину пошарово ушивали з наступною 24-годинною реперфузією та оцінкою структурного стану нирок. Тканину нирок, яку відбирали для мікроскопічних досліджень, фіксували впродовж 48 годин у розчині нейтрального забуференого формаліну (10%), після чого проводили процедуру зневоднювання у висхідній батареї етанолу та парафінову заливку при температурі 58°C. Для морфологічної оцінки гістологічних зрізів отримували гістологічні зрізи 5 мкм завтовшки, забарвлені гематоксиліном і еозином. Документацію патологічних процесів проводили шляхом комп'ютерної морфометрії об'єктів у гістологічних препаратах. Цифрові копії оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів отримували за допомогою цифрової фотокамери Olympus (модель C740UZ) та мікроскопа ЛЮ-ММ-Р8 із створенням банку цифрових мікрофотографій та в подальшому аналізували у середовищі комп'ютерної програми «ВидеоТест – Розмер 5.0» (ТОВ «Видеотест», РФ). Всі дослідження здійснено у відповідності до Директиви Європейського союзу 2010/63/EU про захист тварин, що використовуються у наукових цілях.

Результати та їх обговорення

Розвиток ішемічно-реперфузійного пошкодження характеризувався гіпоксичним ураженням нефроцитів, що призвело до дезінтеграції цитоскелету та загибелі тубулярних клітин, втрати міжклітинних з'єднань, підвищення парацелюлярної проникності із зворотним током рідини та подальшим порушенням кровообігу.

В гістопрепаратах нирок тварин з ішемічно-реперфузійним пошкодженням виявлені значні, порівняно з групою псевдооперованих тварин, зміни структури нирок (рис. 1).

За відсутності клітин без патологічних змін, 54±3,2% епітеліальних клітин проксимальних каналців знаходились у стані коагуляційного некрозу, решта клітин — з ознаками гідропічної

вакуолізації до ступеня балонної дистрофії. 35±2,2% клубочків набряклі, визначалися клубочки з порушеною структурою (рис. 1.А).

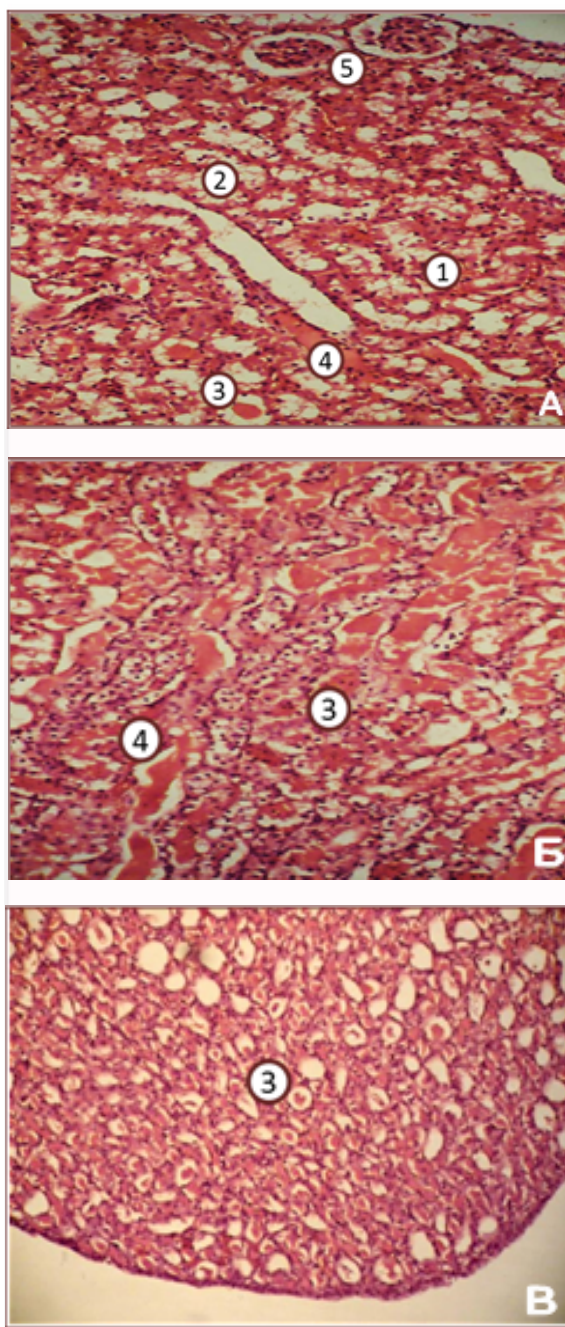


Рис. 1. Препарат нирки (А – кіркова речовина, Б – мозкова речовина, В – сосочок) щура з ішемічно-реперфузійним пошкодженням нирок, 24 год. Некроз епітеліоцитів (1), дистрофічні зміни епітеліоцитів (2), циліндри (3), крововиливи (4), розширення просвіту Боумена (5). Забарвлення гематоксиліном і еозином. ×100.

В мозковій речовині просвіти каналців значно розширені, тотально заповнені гіаліновими циліндрами, визначалися ділянки повнокрів'я та крововиливів, в судинах спостерігалось виразний

субендотеліальний набряк (рис. 1.Б). У ділянці сосочка збірні трубочки розширені, переважна більшість заповнена гіаліновими циліндрами (рис. 1.В).

Застосування ПКН дещо обмежило виразність пошкодження, на що вказує зменшення кількості клітин, уражених некрозом, до $34 \pm 1,6\%$. Відмічалось гідропічне набухання та вакуолізація $65 \pm 2\%$ епітеліоцитів проксимальних каналців. Просвіти каналців заповнені циліндрами, відзначалися ділянки повнокрів'я та крововиливів, набряк $30 \pm 1,2\%$ клубочків (рис. 2).

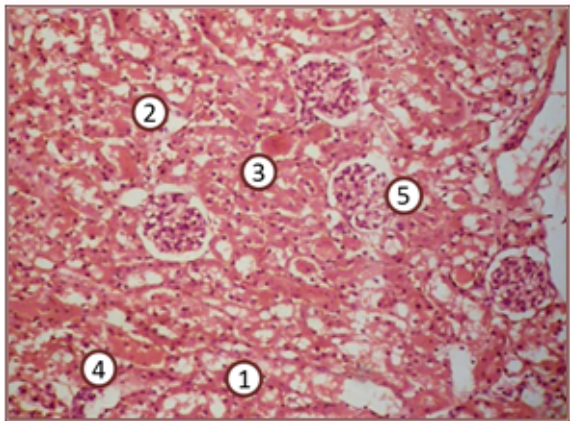


Рис. 2. Препарат нирки щура (кіркова речовина) з ішемічно-реперфузійним пошкодженням нирок, якому вводили пептид ПКН, 300 мкг/кг. Некроз (1), дистрофія епітеліоцитів (2), циліндри (3), крововиливи (4), розширення просвіту Боумена (5). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$.

При застосуванні AED гістоструктура нирок наближалася до групи модельної патології (рис. 3). Некроз розповсюджений на $46 \pm 2\%$ епітеліоцитів проксимальних каналців, решта клітин з ознаками гідропічної дистрофії та вакуолізації,

просвіти каналців переважно розширені та заповнені циліндрами, структура клубочків порушена, зберігалися ділянки повнокрів'я та крововиливів.

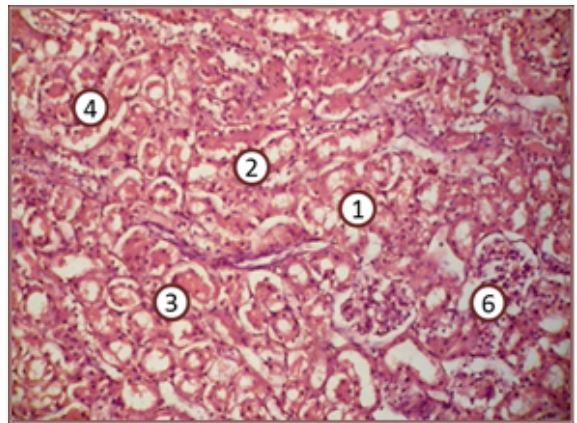


Рис. 3. Препарат нирки щура (кіркова речовина) з ішемічно-реперфузійним пошкодженням нирок, якому вводили пептид AED, 3 мкг/кг. Некроз (1), дистрофія епітеліоцитів (2), циліндри (3), крововиливи (4), порушення структури клубочків (6). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$.

При застосуванні пептиду AEDG виявлено виразне покращання гістологічної картини (рис. 4): $25 \pm 1,5\%$ епітеліоцитів проксимальних каналців кіркової речовини нирок знаходилися у стані некрозу, $70 \pm 1,3\%$ клітин уражені гідропічною дистрофією, біля $5 \pm 1\%$ клітин не уражені. Зберігалися набряк третини клубочків та розширення в них просвіту Боумена. Просвіти каналців як кіркової, так і мозкової речовини заповнені циліндрами, їх кількість дещо менша порівняно з нелікованими тваринами. Відзначалися поодинокі крововиливи.

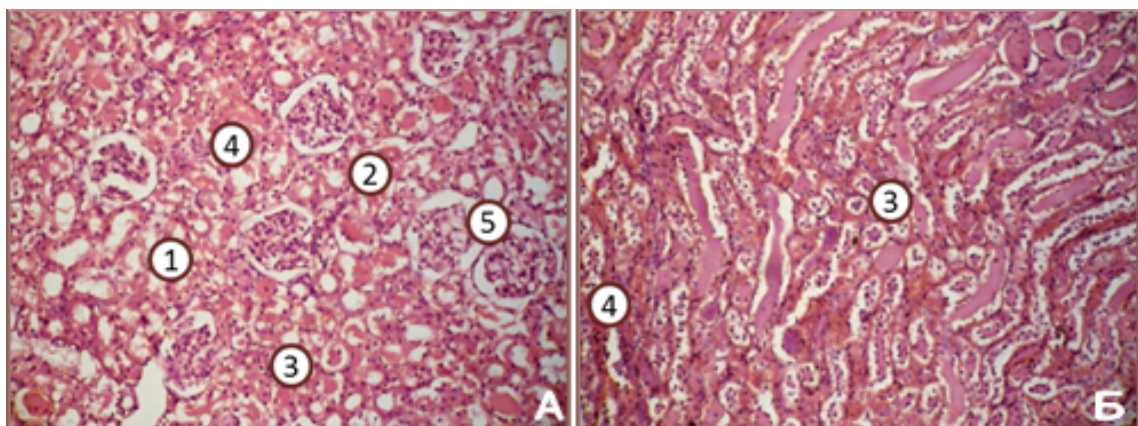


Рис. 4. Препарат нирки щура (А – кіркова речовина, Б – мозкова речовина) з ішемічно-реперфузійним пошкодженням нирок, якому вводили пептид AEDG, 7 мкг/кг. Некроз (1), дистрофія епітеліоцитів (2), циліндри (3), крововиливи (4), розширення просвіту Боумена (5). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$.

В групі тварин, яким вводили пептид EDL, виявлений найвиразніший захисний вплив щодо тканини нирок (рис.5). Некротичні зміни виявлені в $9\pm 1,4\%$ клітин проксимальних канальців, $84\pm 2,1\%$ клітин — з ознаками зернистої дистрофії, біля $7\pm 1\%$ клітин — без ознак пошкодження.

Клубочки нормальної структури та розміру, провіт Боумена звичайного діаметру. Циліндри присутні у невеликій кількості у кірковій, мозковій речовині та сосочку, наявні поодинокі крововиливи.

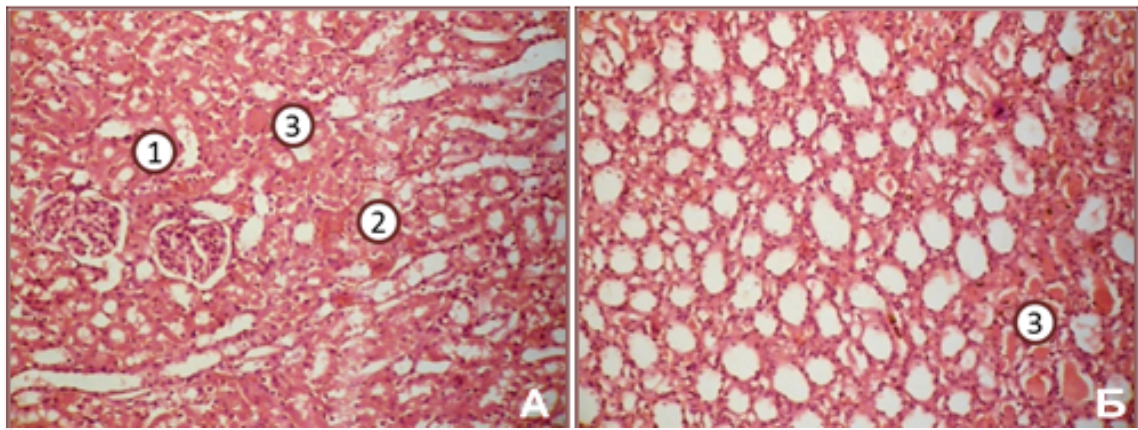


Рис. 5. Препарат нирки щура (А – кіркова речовина, Б – сосочок) з ішемічно-реперфузійним пошкодженням нирок, якому вводили пептид EDL, 3 мкг/кг. Некроз (1), дистрофія епітеліоцитів (2), циліндри (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$.

Висновки

Проведене морфологічне дослідження дозволяє верифікувати більш виражений протекторний вплив нефроспецифічного пептиду EDL та пінеалоспецифічного пептиду AEDG, зменшення ступеня ішемічного пошкодження нирок при застосуванні пептидного комплексу нирок та

відсутність достовірного покращення гістоструктури нирок під впливом нефроспецифічного пептиду AED за умов ішемії-реперфузії.

Перспективи подальших розробок. Порівняти нефропротекторну ефективність нефроспецифічних пептидів з існуючими лікарськими засобами.

Літературні джерела References

1. Krishnamoorthy A, Ajay AK, Hoffmann D, Tae-Min K, Ramirez V, Campanholle G, Bobadilla NA. Fibrinogen β -derived $\beta\beta_{15-42}$ peptide protects against kidney ischemia/reperfusion injury. *Blood*. 2011;118(7):1934-42. DOI: 10.1182/blood-2011-02-338061.
2. Urbschat A, Zacharowski K, Obermüller N, Rupprecht K, Penzkofer D, Jennewein C. The small fibrinopeptide $\beta\beta_{15-42}$ as renoprotective agent preserving the endothelial and vascular integrity in early ischemia reperfusion injury in the mouse kidney. *PLoS ONE*. 2014;9(1):e84432. DOI: 10.1371/journal.pone.0084432
3. Yalavarthy R, Edelstein CL. Therapeutic and predictive targets of AKI. *Clin Nephrol*. 2008;70(6):453-63. PMID: 19049701
4. Ahmad QZ, Jahan N, Ahmad G, Tajuddin. An appraisal of nephroprotection and the scope

- of natural products in combating renal disorders. *J Nephrol Ther*. 2014;4:170. DOI: 10.4172/2161-0959.1000170
5. Lempiainen J, Finckenberg P, Mervaala E. Dexmedetomidine preconditioning ameliorates kidney ischemia-reperfusion injury. *Pharma Res Per*. 2014;2(3):e00045. DOI: 10.1002/prp2.45
6. Zamorskii II, Shchudrova TS, Lin'kova NS, Nichik TE, Khavinson VKh. Peptides restore functional state of the kidneys during cisplatin-induced acute renal failure. *Bull Exp Biol Med*. 2015;159:736-9. DOI: 10.1007/s10517-015-3062-y
7. Zamorskii II, Shchudrova TS. Main mechanisms of rhabdomyolysis caused kidney injury and their correction by organospecific peptides. *Biophysics*. 2014;59:834-6. DOI: 10.1134/S0006350914050315

Заморский И.И., Щудрова Т.С. Влияние органоспецифических пептидов на морфологические изменения почек крыс в условиях развития их ишемически-реперфузионного повреждения.

Реферат. В работе исследованы гистопатологические изменения почек крыс в условиях ишемически-реперфузионного повреждения. Выявлено дистрофическое повреждение эпителиоцитов проксимальных канальцев в виде гидropической вакуолизации и баллонной дистрофии, некроз значительного количества клеток, что сопровождалось отеком и нарушением структуры клубочков. Установлена цитопротекторная активность органоспецифических пептидов, что подтверждается ограничением степени и распространенности патологических изменений.

Ключевые слова: ишемически-реперфузионное повреждение почек крыс, морфологические изменения, органоспецифические пептиды, нефропротекция.