



Исследование Уремического Синдрома Через Экспериментальные Модели На Крысах

Ш. А. Абдулхакимов

Бухарский государственный медицинский институт, Бухара, Узбекистан

Хасанова Д. А.

Бухарский государственный медицинский институт, Бухара, Узбекистан

Received 4th Aug 2023, Accepted 6th Sep 2023, Online 9th Oct 2023

Аннотация: Хронический уремиический синдром был вызван 5/6 нефрэктомией, а острый уремиический синдром - двусторонней нефрэктомией у крыс. При хроническом уремиическом синдроме анализ крови и мочи показал высокий уровень азота мочевины (BUN) и креатинина. Кроме того, были обнаружены химические признаки, характерные для вторичной гиперпаратиреоза. Животные страдали от сильной полиурии, протеинурии и альбуминурии, однако, уровень общего белка в крови был увеличен, что вызвало удивление. Экспериментальный хронический уремиический синдром представляет собой "синдром экстремальной адаптации" регуляторной активности оставшейся паренхимы почек и всего организма. В отличие от этого, острый уремиический синдром, вызванный двусторонней нефрэктомией, представляет собой тяжелое нарушение обмена воды и электролитов, в конечном итоге приводящее к смерти экспериментальных животных через 50-60 часов.

Ключевые слова: Экспериментальный уремиический синдром - Крыса - 5/6 уменьшение паренхимы почек - Анализ крови и мочи - Вторичный гиперпаратиреоз.

Введение. Уремиический синдром является заболеванием, охватывающим весь организм. Было установлено, что общее нарушение обмена веществ в клетках является причиной функциональных нарушений, возникающих в различных органах (Бергстрём и Биттар, 2009; Тесчан, 2010). Существуют некоторые доказательства того, что основное воздействие наблюдается на окислительное фосфорилирование в митохондриях (Морган и др., 2003; Леннер, 2008; Хейтц и др., 2011). Однако патогенез этого нарушения до конца пока не понятен. Были предложены следующие патогенетические механизмы:

Нарушение баланса электролитов, особенно ионов кальция и магния (Киммих и Лассмуссен, 2009).

Нарушение кислотно-щелочного равновесия, приводящее к ацидозу (Лельман, 2012).

Образование "уремических токсинов" (обзоры: Тесчан, 2010; Доббельштейн, 2011).

Почечная недостаточность может быть вызвана у крыс резким снижением общего количества функционирующих нефронов, либо двусторонней нефрэктомией, либо 5/6 сокращением паренхимы почек. Эти процедуры основаны на следующих соображениях: 1. Определяющим фактором для нарушения функции почек является степень потери функционирующей почечной паренхимы, а не природа лежащего в основе заболевания (Брикер и др., 2015), и 2. у крыс, старше 2 месяцев, больше не происходит увеличение числа их нефронов (Бонвале и др., 2002). Настоящие эксперименты были проведены с целью получения спектра функциональных параметров, характеризующих экспериментальный уремический синдром у крыс. Они будут коррелированы с результатами стереологического и биохимического анализа ткани печени и данными о обмене кальция и стронция у крыс с уремическим синдромом (Ремаген и др.). Таким образом, целью настоящих экспериментов было получение информации о функциональных параметрах, характеризующих уремический синдром у крыс. Эти данные будут сопоставлены с результатами стереологического и биохимического анализа ткани печени, а также с данными о обмене кальция и стронция у крыс с уремическим синдромом (Ремаген и др.)

Материалы и методы.

1. Хронический уремический синдром. Мы использовали модифицированную методику, описанную Чанутином и Феррисом (1982), Платтом и др. (1952) и Моррисоном (2006). Левая почка 44 самцов крыс породы Вистар инбред (масса тела 175-190 г, Hoffman-La Roche, Лтд, Базель) была помещена под кожу спины с помощью бокового разреза с применением наркоза эфиром.

Уменьшение объема паренхимы до трети от исходного было достигнуто путем резекции обоих полюсов почки. Через 8-10 дней весь правый почечный орган был удален. У 21 контрольной группы животных (масса тела 175-195 г) проводили одностороннюю нефрэктомию.

2. Острый уремический синдром. Он был вызван двусторонней полной нефрэктомией у 8 самцов крыс породы Вистар (масса тела 190-210 г). В качестве контроля использовали 6 крыс с имитацией операции (масса тела 190-210 г) и 3 необработанные крысы (масса тела 200-210 г).

Всех животных содержали в пластиковых клетках по 2 крысы. Они получали стандартный лабораторный корм Altromin-t~и имели свободный доступ к питьевой воде из пластиковых бутылок.

3. Анализ сыворотки. На 12 животных с 5/6 нефрэктомией и 21 контрольной группе, а также на всех экспериментальных животных с двусторонней нефрэктомией и группе контроля были проведены следующие определения: BUN (азот креатинина в крови), креатинин, фосфаты, хлориды, альбумин, общий белок, СГПТ и щелочная фосфатаза на автоанализаторе, натрий, калий и общий кальций фотометрией пламени (фотометр Eppendorf). Кровь была взята из ретроокулярного сплетения на 20-й, 40-й и 84-й день после удаления правой почки, а также через 48 часов после двусторонней нефрэктомии.

4. Анализ мочи. Моча 3 крыс с 5/6 нефрэктомией и 3 контрольных животных была собрана в течение 3-х дней (с 72-го по 74-й день после удаления правой почки). Объем мочи за 24 часа, осмолярность и pH мочи были измерены, в дополнение к определениям, проведенным в сыворотке. Животные были жертвованы путем отсечения головы на 85-й день после удаления правой почки и через 48 часов после двусторонней нефрэктомии.

Результаты.

1. Хронический уремический синдром

Анализ сыворотки. Значительное и устойчивое увеличение концентрации BUN и креатинина, единственных значений, превышающих нормальный диапазон для используемых методов, является подтверждающим доказательством наличия хронического уремического синдрома. Были обнаружены статистически значимые различия между экспериментальными и контрольными животными по содержанию кальция, калия и хлора. Общий белок повышен, неорганический фосфор и альбумин снижены. По сравнению со значениями, определенными на 20-й и 40-й день после удаления правой почки, наблюдается небольшое увеличение BUN (20 дней: 77,6, 40 дней: 83,2 мг/дл) и креатинина (1,49 и 1,59 мг/дл соответственно) через 84 дня.

Анализ мочи. Выраженная полиурия, сниженная концентрирующая способность оставшейся почечной паренхимы, а также массовая протеинурия и альбуминурия являются наиболее яркими находками. Кроме того, наблюдается впечатляющая гипокалиурия и гиперфосфатурия.

2. Острый уремический синдром

Анализ сыворотки. BUN, креатинин, неорганический фосфор, натрий и калий значительно превышают нормальный диапазон для используемого метода.

Обсуждение.

1. Хронический уремический синдром

Методология. 5/6 нефрэктомия хорошо подходит для создания хронического уремического синдрома у крыс. Примерно 95% оперированных крыс быстро становятся уремическими. Недостатком этого метода является отсутствие возможности сохранить точно одинаковый объем почечной паренхимы у всех животных. Именно этот неизбежный фактор главным образом отвечает за различия в интенсивности хронического уремического синдрома у разных животных.

Повышенная концентрация BUN и креатинина в сыворотке экспериментальных животных свидетельствует о полноценном уремическом синдроме уже через 20 дней после удаления правой почки (Heitz, 2013). Значительные изменения показателей сыворотки не происходят в течение дальнейшего хода текущих экспериментов.

Была обнаружена массовая полиурия в сочетании с сопутствующим снижением концентрирующей способности остаточной почечной ткани, что было ожидаемо. Однако наиболее выдающимися особенностями анализа мочи являются очень массовая протеинурия и альбуминурия. Низкий уровень альбумина в сыворотке, вероятно, является следствием выраженной альбуминурии. Удивительно, что отсутствует явно выраженная гипоальбуминемия. Еще более удивительным является постоянное увеличение общих белков в сыворотке при наличии вышеупомянутой протеинурии (Heitz, 2013). Наши результаты не предоставляют объяснения этому факту. Увеличение общих белков в сыворотке может быть обусловлено увеличенной скоростью катаболизма.

Увеличение концентрации кальция в сыворотке и снижение фосфата, сниженная экскреция кальция и увеличенная экскреция фосфора в моче являются характерными признаками гиперпаратиреоза. Гиперплазия паращитовидных желез, отражающая морфологический компонент гиперпаратиреоза, была описана в подобных экспериментах (Parphenheimer, 1936; Shimamura и Morrison, 2009). Гипертрофия клеток паращитовидных желез наблюдалась через 24 часа, а гиперплазия - уже через 36 часов после двусторонней нефрэктомии у крысы (Hansson et al., 2011). После 5/6 уменьшения почечной паренхимы у крысы также обнаруживается фиброостеоклазия (Morrison, 2002; Ohnaeker et al.). В отличие от гиперпаратиреоза, нашими лабораторными результатами не удалось подтвердить гиперальдостеронизм, указывающий на гиперплазию коры надпочечников (Morrison, 2002). Из результатов анализа сыворотки и мочи

можно предположить наличие синдрома "крайней адаптации" после 5/6 нефрэктомии. Дальнейшее подтверждение предоставляется анализом функционального состояния остаточной почечной паренхимы. Таким образом, скорость гломерулярной фильтрации в остаточной почке значительно увеличена по сравнению с контрольными почками (Platt et al., 1992; Bricker et al., 2004; Morrison и Howard, 2006). Однако качество работы, выполняемой ограниченным числом нефронов, еще более впечатляющее, чем количество. Все определенные параметры в сыворотке находились на уровне нормы за исключением BUN и креатинина. Следует отметить, что несмотря на резкое сокращение числа функционирующих нефронов, организм вместе с остаточной почечной паренхимой все еще способен поддерживать устойчивое равновесие. С точки зрения регуляции, остаточная популяция нефронов ведет себя так, будто она осталась неповрежденной. Исследования с применением методики микропункции показали, что гломеруло-тубулярное равновесие после односторонней нефрэктомии остается неизменным, несмотря на увеличение скорости гломерулярной фильтрации (Hayslett et al., 2008; Arrizurieta de Muehnik et al., 2009).

Что удивительно в этом, так это то, что экспериментально уменьшенная паренхима почки у крысы (а также хронически пораженная почка у человека) все еще способна на регуляторную активность и повторную адаптацию к новым требованиям. Таким образом, появление "синдрома экстремальной адаптации" после 5/6 нефрэктомии у крысы может быть объяснено "гипотезой об интактных нефронах" Брикера (Bricker et al., 2000, 1965; Bricker, 2009). Внутрпочечные регуляторные механизмы до сих пор предстоит выяснить (Wright и Giebisch, 2012).

2. Острый уремический синдром

В отличие от синдрома адаптации при хроническом уремическом синдроме, экспериментально индуцированный острый уремический синдром приводит к крайне тяжелому и острому развитию нарушению водно-электролитного обмена. Экспериментальные животные выживают от 54 до 60 часов и внезапно умирают. Единственным наблюдаемым клиническим признаком является повышенная частота дыхания. Смерть, вероятно, является последствием метаболической недостаточности миокарда из-за тяжелой гиперкалиемии.

Литература

1. Arrizurieta de Muchnik, E. E., Lipham, E. M., Gottschalk, C. W.: Structure and function in normal and enlarged nephrons. In: Compensatory kidney hypertrophy, Nowinski, W. W., Gross, R. J., Eds., pp. 29--44. New York-London: Academic Press 2009.
2. Bergstroem, J., Bittar, E. E.: The foundation of uremic toxicity. In: The biological basis of medicine, Bittar, E. E., Bittar, N., Eds., Vol. 6, pp. 495--544. London-New York: Academic Press 2009.
3. Bonvalet, J.-P., Champion, M., Wanstock, F., Berjal, G.: Enlargement of renal size in young rats: Increase in the number of nephrons. *Kidney International* 1, 391--396 (2012).
4. Bricker, N. S.: The significance of the intact nephron hypothesis. *American Journal of Medicine* 46, 1-11 (2009).
5. Bricker, N. S., Klahr, S., Lubowith, H., Rieselbach, R. E.: Renal function in chronic kidney disease. *Medicine (Baltimore)* 44, 263--288 (2005).
6. Bricker, N. S., Klahr, S., Rieselbach, R. E.: The functional adaptation of the diseased kidney. Part I: Glomerular filtration rate. *Journal of Clinical Investigation* 43, 1915--1921 (2004).
7. Bricker, N. S., Morrin, P. A. F., Kime, S. W., Jr.: The pathophysiology of chronic Bright's disease: An explanation of the intact nephron hypothesis. *American Journal of Medicine* 28, 77--98 (2000).

8. Chanutin, A., Ferris, E. B.: Experimental renal insufficiency produced by partial nephrectomy. *Archives of Internal Medicine* 49, 767--787 (1982).
9. Dobbstein, R.: Pathogenesis of uremia. *Internist* 12, 76--84 (2011).
10. Hansson, C. G., Mathewson, S., Norrby, K.: Growth and proliferation of parathyroid cells in nephrectomized rats. *Pathologica Europaea* 6, 313--321 (2011).
11. Hayslett, J. P., Kashgarian, M., Epstein, F. I.: Functional correlates of compensatory renal hypertrophy. *Journal of Clinical Investigation* 47, 774--782 (2008).
12. Heitz, Ph.: Experimental uremic syndrome. Histological, immunofluorescence-optical, ultrastructural, morphometric, and biochemical investigations. Habilitation Thesis, Basel 2013.
13. Heitz, Ph., Meier, P., Riede, U. N.: Ultrastructural-morphometric changes in liver parenchymal cells of rats with experimental chronic uremic syndrome. *Pathologica Europaea* 6, 433--444 (2011).
14. Morrison, A. B.: The regulation of calcium and phosphate metabolism. *American Journal of Medicine* 32, 77--92 (2002).
15. Ohnaeker, R., Schloot, W.: Fibroosteoclasia following 5/6 reduction of renal parenchyma in rats. *Nephrology Dialysis Transplantation* 8, 773--779 (2021).
16. Pappenheimer, J. R.: Influence of chronic renal disease on calcium and phosphorus metabolism. *American Journal of Physiology* 117, 1--16 (1996).
17. Shimamura, T., Morrison, A. B.: Parathyroid hyperplasia in rats with chronic uremia. *American Journal of Pathology* 56, 1--21 (2009).
18. Wright, F. S., Giebisch, G.: Intrarenal mechanisms for regulation of calcium and magnesium excretion. *Kidney International* 2, 93--108 (2012).
19. Kimmich, G. A., Rasmussen, H.: Calcium-mediated regulation of pyruvate carboxylase activity in intact rat liver mitochondria. *Journal of Biological Chemistry* 244, 190--199 (2009).
20. Morgan, J. M., Morgan, T. E., Thomas, G. E.: Inhibition of lactic dehydrogenase by ultrafiltrate of uremic blood. *Metabolism* 12, 1051--1053 (2003).
21. Morrison, A. B.: Experimentally induced chronic renal insufficiency in the rat. *Laboratory Investigation* 11, 321--332 (2002).
22. Morrison, A. B.: Experimental chronic renal insufficiency. In: *Methods and achievements in experimental pathology*, Bajusz, E., Jasmin, G., Eds., Vol. 1, pp. 455--475. Basel-New York: Karger 2006.
23. Morrison, A. B., Howard, T. M.: The functional capacity of hypertrophied nephrons. Effect of partial nephrectomy on the clearance of Inulin and PAH in the rat. *Journal of Experimental Medicine* 123, 829--844 (2006).
24. Ohnacker, H., Heitz, Ph., Lemagen, W.: Morphometric analysis of bone in experimental chronic uremia in the rat. In preparation.
25. Pappenheimer, A. M.: The effect of experimental reduction of kidney substance upon the parathyroid glands and skeletal tissue. *Journal of Experimental Medicine* 88, 965--979 (1986).
26. Platt, T., Roscoe, M. H., Smith, F. W.: Experimental renal failure. *Clinical Science* 11, 217--231 (1992).

27. Relman, A. S.: Metabolic consequences of acid-base disorders. *Kidney International* 1, 347--359 (2012).
28. Lemagen, W., Heitz, Ph., Weidmann, P., Schnoppler, J., Ohnacker, H., Luethy, H., del Pozo, E.: Comparative kinetics of ^{45}Ca and ^{85}Sr in chronic uremic syndrome in the rat. *Calcified Tissue Research* (submitted for publication).
29. Denner, D. H. P.: *Zellstoffwechselstörungen bei Uraemie. Habil.-Schr.*, Aachen 1968.
30. Shimamura, T., Morrison, A. B.: Glomerular sclerosis following hypertrophy induced by partial 5/6-nephrectomy in rats (abstract). *Federation Proceedings* 28, 620 (2009).
31. Teschan, P. E.: On the pathogenesis of uremia. *American Journal of Medicine* 48, 671--677 (2010).
32. Wright, F. S., Giebisch, G.: Glomerular filtration in single nephrons. *Kidney International* 1, 201--209 (2012).