

---

# МОРФОЛОГИЯ

---

Н. Г. Паньшин, А. В. Смирнов, Г. Л. Снигур, А. А. Спасов, И. Н. Иежица, М. В. Харитонова

Кафедра патологической анатомии, кафедра фармакологии ВолГМУ,  
Волгоградский научный центр РАМН и АВО

## СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЧЕК КРЫС В УСЛОВИЯХ АЛИМЕНТАРНОГО ДЕФИЦИТА МАГНИЯ

УДК 616.61:546.46

При изучении морфологических изменений почек крыс в условиях экспериментального дефицита магния обнаружено образование кальцификатов преимущественно во внутренней зоне мозгового вещества и собирательных трубочках с развитием перифокального воспаления.

*Ключевые слова:* почка, магний, дефицит, воспаление, кальцификаты, крыса.

N. G. Panshin, A. V. Smirnov, G. L. Snigur, A. A. Spasov, I. N. Iezhitsa, M. V. Kharitonova

## STRUCTURAL FEATURES OF RAT KIDNEYS IN ALIMENTARY MAGNESIUM DEFICIENCY

Morphological alterations in rat kidneys were studied in experimental alimentary magnesium deficiency. They resulted in urolithic processes in inner renal medulla and collecting ducts followed by secondary interstitial inflammation.

*Key words:* kidney, magnesium, deficiency, inflammation, urolithic process, rat.

Магний играет важное физиологическое значение в жизнедеятельности организма. Он входит в состав множества ферментов и участвует практически во всех видах обмена веществ. Данным фактом объясняется многообразие клинических проявлений нарушения гомеостаза магния в организме [3, 9].

Одним из проявлений дефицита магния является развитие мочекаменной болезни, при этом у 70—80 % пациентов в состав камней входит кальция оксалат и кальция фосфат [1]. Известно, что фосфат кальция может служить основой для образования кристаллов кальция оксалата и способен усиливать агрегацию кристаллов кальция оксалата [5, 7]. A. Schmiedl, P. O. Schuille показали, что у больных идиопатической возвратной гиперкальциемией, сопровождающейся нефролитиазом, часто наблюдается снижение уровня магния в эритроцитах [8]. Минеральный состав питьевой воды и рацион питания также влияет на частоту развития уролитиаза, поэтому нами была предпринята попытка изучения структурных изменений почек крыс при алиментарном дефиците магния.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определение влияния алиментарной недостаточности магния на структурные изменения почек крыс.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования были выполнены на 30 половозрелых нелинейных белых крысах-самцах массой 170—260 г. Интактная группа животных ( $n = 10$ ) составляла контроль. У остальных крыс (20 животных) моделировали магнидефицитное состояние. Животные содержались в условиях вивария, согласно правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ Р 50258-92, ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96) с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997). Эксперименты были одобрены комитетом по этической экспертизе исследований Волгоградского государственного медицинского университета (протокол № 95-2009 от 18.03.2009).

Для моделирования алиментарного дефицита магния животные содержались на магнийдефицитной диете «ICN Biomedicals Inc.» (Aurora, Ohio, США), которая включала 20 % казеина, 70 % крахмала, 0,3 % DL-метионина, 0,2 % холина битартрата, 5 % кукурузного масла, 1 % поливитаминной смеси, 3,5 % диеты составляла полиминеральная смесь AIN-76, не содержащая магния. Для питья использовалась дистиллированная вода.

Скорость и глубину развития гипомagneзиемии контролировали, определяя концентрацию магния в плазме и эритроцитах крови по цветной реакции с титановым желтым (Sigma, США) с измерением на спектрофотометре «СФ-26» (ЛОМО, Россия) в кювете с длиной оптического пути 1 см при длине волны 550 нм.

При снижении концентрации магния ниже 1,4 ммоль/л в эритроцитах и ниже 0,7 ммоль/л в плазме считалось, что у животных развилась гипомagneзиемия средней тяжести. К началу 8-й недели магнийдефицитной диеты у животных наблюдалось статистически значимое снижение уровня магния в эритроцитах на 57 % и в плазме — на 47 % ( $p < 0,05$ ) по отношению к группе интактных крыс, после чего животных наркотизировали введением этаминала натрия в дозе 40 мг/кг, внутрибрюшинно.

Материал фиксировали в течение 24 часов в 10%-м растворе нейтрального забуференного формалина (рН 7,4), обезвоживали и заливали в парафин по общепринятой гистологической методике. На ротаторном микротоме изготавливали срезы толщиной 3—5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике.

Гистологические препараты фотографировали цифровой камерой Canon (Japan, 5.0 мегапикселей) на базе микроскопа «Axiostar plus» (Карл Цейс, Германия) с использованием объектива  $\times 10$ ;  $\times 40$  и окуляра  $\times 10$ . При морфологическом исследовании оценивали наличие кальцификатов в корковом, мозговом слоях и собирательных трубочках. При этом мозговой слой подразделяли на наружную и внутреннюю зоны. С помощью морфометрического метода исследования (ВидеоТест-Морфо-4, Россия, 2004) определяли объемную долю кальцификатов (ОД, %), размеры (у.е.), и их суммарную площадь от поля зрения (%). Проводился расчет базовых статистических показателей ( $M$ ,  $m$ ), с использованием парного  $t$ -критерия Стьюдента при достоверности  $p < 0,05$ . Полученные данные обрабатывались методами базисного статистического анализа в программе STATISTICA 5.0 фирмы StatSoft, Inc., (США) для Windows.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У животных интактной группы в изучаемых микропрепаратах в корковом, мозговом слоях и собирательных трубочках отложений солей кальция и воспаления не определялось (рис.).

В группе животных с дефицитом магния в корковом веществе и наружной зоне мозгового вещества отложения солей кальция отсутствовали. Однако в других отделах почек, преимущественно в канальцах, определялись множественные участки кальциноза. Прежде всего, кальций определялся на базальных мембранах и эпителии канальцев расположенных преимущественно во внутренней зоне мозгового вещества. Вне- и внутриклеточные кальцификаты были представлены единичными гомогенными интенсивно базофильными глыбками полиморфных размеров, а также их скоплениями (объемная доля — 5 %, площадь — 0,8 %). Реже кальцификаты определялись в зоне собирательных трубочек, где они располагались как в интерстициальных пространствах, так и в просветах собирательных трубочек (табл.). Кальцификаты также имели гомогенное строение и интенсивную базофильную окраску (объемная доля — 0,3 %, площадь — 0,19 %) (табл). Изменения почечных канальцев характеризовались незначительным расширением их просвета, умеренным уплощением эпителиальной выстилки с развитием белковой дистрофии эпителиоцитов. По ходу канальцев и вокруг солей кальция отмечалась незначительная или умеренная воспалительная инфильтрация, как правило, макрофагами и лимфоцитами (рис.).

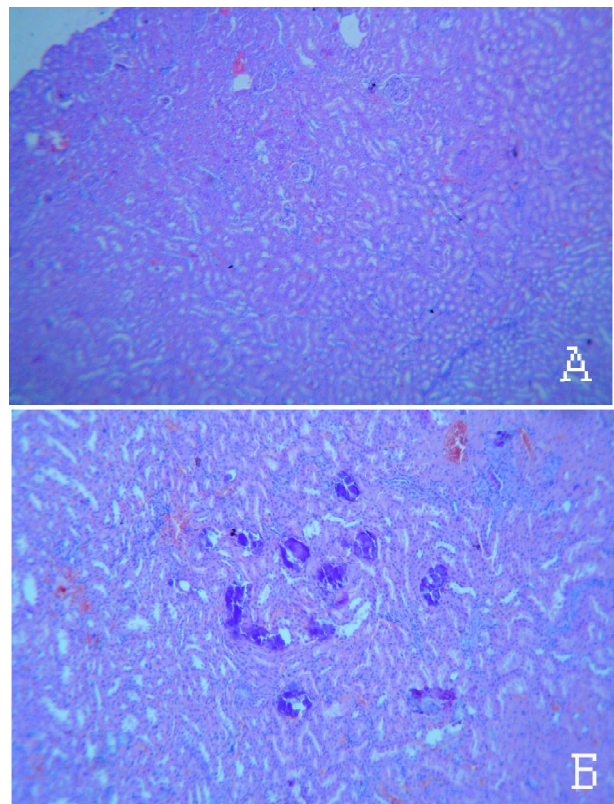


Рис. Объемная доля кальцификатов в почках крыс:

А — контрольная интактная группа; Б — группа животных с дефицитом магния. Окраска гематоксилином и эозином, окуляр  $\times 5$ , объектив  $\times 10$

**Морфометрические параметры кальцификатов почечной паренхимы животных с алиментарным дефицитом магния**

	Объемная доля, %	Размер, у.е.	Суммарная площадь, %
Корковое вещество	0	0	0
Наружная зона мозгового вещества	0	0	0
Внутренняя зона мозгового вещества	5	7,2 ± 0,8	0,8
Собирательные трубочки	0,3	3,2 ± 0,7	0,19

В результате исследования были обнаружены кристаллы солей кальция во внутренней зоне мозгового вещества почек, которая состоит из нисходящих и восходящих сегментов петель Генле и дистальных прямых канальцев. Обнаруженные изменения согласуются с литературными данными, в которых предполагается, что восходящий толстый сегмент петли Генле играет ключевую роль в реабсорбции магния, так как в нем всасывается 65—75 % ультрафильтруемого магния пассивно через парацеллюлярный путь. Движение магния происходит за счет разности потенциалов между люминальной и базолатеральной стороной клетки. В результате снижения концентрации магния на люминальной поверхности клетки происходит активация кальциевого рецептора CaSR (calcium-sensing receptor), что приводит к повышению внутриклеточной концентрации кальция и в дальнейшем ведет к развитию кальциево-оксалатного уролитиаза [4, 6].

Кроме того, обнаруженные кристаллы солей кальция являются субстанцией, способной индуцировать тканевые реакции в эпителии дистальных почечных канальцев и собирательных трубочек. Воспалительные изменения, возникающие в дистальных почечных канальцах и собирательных трубочках, являются результатом воздействий кри-

сталлов кальция оксалата. В дальнейшем, после развития этих изменений создаются условия для адгезии к эпителиальным клеткам кристаллов солей и формирования очага кристаллизации с последующим увеличением его размеров и отделением от стенки канальца или собирательной трубочки. Продолжение роста и увеличение камня продолжается уже в просвете чашечно-лоханочной системы [6].

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В результате проведенного морфологического исследования было выявлено интенсивное отложение солей кальция с перифокальной воспалительной реакцией преимущественно во внутренней зоне мозгового вещества и собирательных трубочках почек крыс, находившихся в условиях алиментарного дефицита магния.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Coe F. L., Evan A. // Clin Invest. — 2005. — Vol. 115, № 10. — P. 2598—2608.
2. Coe F., Favus M., Asplin J. // BRENNER & RECTOR'S The Kidney. Elsevier USA. — 2004. — P. 753—778.
3. Lowenthal D. T. // The Role of Magnesium Chloride Therapy in Clinical Practice. Clifton, NJ: Oxford Health Care. — 1998. — P. 9—10.
4. Maier J., Malpuech-Brugere C., Mazur A. // Biochimica et Biophysica Acta. — 2004. — Vol. 1689. — P. 13—21.
5. Meyer J. L., Smith L. H. // Clin. Sci. Mol. Med. — 1975. — Vol. 49. — P. 369.
6. Nishizawa Y., Durlach J. // New perspectives in magnesium research: nutrition and research. Springer London. — 2007. — P. 293—302.
7. Ohman S., Larsson L., Tiselius H. // Ann. Clin. Biochem. — 1992. — Vol. 29. — P. 53—63.
8. Schmid A., Schwille P. O. // Eur. J. Chem. Clin. Biochem. — 1996. — Vol. 34, № 5. — P. 393—400.
9. Sutton R., Dakhaee K. // The Principles and Practice of Nephrology. Philadelphia: B.C. Decker. — 1995. — P. 136—139.