

УДК 615.361:615.451.1:618.46]:57.086.13:612.1:616.61-008.6

В.И. Строна, М.В. Рєпін, Л.М. Марченко, Т.П. Говоруха, А.М. Васькович

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

ВПЛИВ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ РІЗНИХ ВИДІВ ТВАРИН НА СКЛАД ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ ПРИ ГОСТРІЙ НИРКОВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ

Наведено результати експериментальних досліджень зміни показників периферійної крові та показаний їх зв'язок з рівнем креатиніну крові у щурів з гострою нирковою недостатністю на тлі використання кріоекстракту плаценти аlogenного та ксеногенного походження. Передбачається, що введення кріоекстракту плаценти до виникнення гострої ниркової недостатності буде чинити нефропротекторну дію на перебіг захворювання.

Ключові слова: *гостра ниркова недостатність, кріоекстракт плаценти, нефропротекторна дія, периферійна кров.*

Вступ

Гостра ниркова недостатність – це порушення гомеостазу, що викликано безповоротним зниженням маси діючих нефронів нирки. Виникає вона при всіх прогресуючих захворюваннях нирок і виявляється багатосимптомним комплексом, що відображає участь у цьому процесі практично всіх органів і систем. Під назвою гостра ниркова недостатність об'єднуються різні стани, для яких характерним є раптове порушення функції нирок з розвитком гострої токсичної нефропатії [1–3].

З'ясування патогенезу і розробка на цій основі ефективних методів профілактики і терапії нефриту залишається однією з невирішених і актуальних проблем клінічної і експериментальної медицини [2, 4]. Введення активних біологічних сполук активізує при пошкодженні регенерацію клітин і відновлює порушений клітинний і тканинний гомеостаз [5]. Результати експериментальних досліджень і деякі аспекти клінічного використання похідних кріоконсервованої плацентарної тканини узагальнені в роботах В.І. Грищенко, А.М. Гольцева, Т.М. Юрченко [6, 7].

Більшість дослідників вважають, що основною ланкою в патогенезі гострої ниркової недостатності, що розвинулася в результаті гострих отруєнь, є порушення ниркового кровообігу і гемодинаміки. Для гострої ниркової недостатності характерним є ураження всього комплексу функціонування нирок, переважно тубулярно-інтерстиціального апарату [8].

Найбільш показовим критерієм розвитку тубулярного нефрозу служить підвищений вміст креатиніну в крові і сечі, що є кінцевим продуктом білкового обміну, який рівномірно розподіляється в рідких середовищах організму.

Кількісний і якісний склад крові залежить від функціонального стану організму. Складні біохімічні і фізіологічні зміни, що відбуваються в організмі при різних патологіях, змінюють функціональний стан гемопоетичної системи.

При патологічних станах організму склад спеціальних гранулоцитів значно змінюється. Різко зменшується кількість сегментоядерних клітин і зростає кількість паличкоядерних (П) і юних (Ю) нейтрофілів та навіть міелоцитів (М), які мобілізуються із кісткового мозку в судинну кров. Оскільки в лівій графі лейкоцитарної формули знаходяться найбільш молоді, не присутні в нормальній крові міелоцити, а усі більш дорослі форми, що зустрічаються, – юні, паличкоядерні і сегментоядерні (С) нейтрофіли, розміщуються у відповідних графах правіше, то і збагачення крові молодшими формами отримало назву «зрушення ядра вліво». Розрізняють два основних типи зрушення ядра: регенеративний і дегенеративний.

Регенеративне зрушення ядра виражається в збільшенні в крові паличкоядерних і юних нейтрофілів і навіть міелоцитів; зазвичай при цьому спостерігається лейкоцитоз. Це зрушення і посилення лейкопоезу є показником роздратування кісткового мозку, що відбувається при його функціональній недостатності.

© В.И. Строна, М.В. Рєпін, Л.М. Марченко та ін., 2017

Кістковий мозок, компенсуючи загибель нейтрофілів у боротьбі з інфекцією, віддає в кров'яне русло разом зі зрілими нейтрофілами зростаючу кількість недостатньо зрілих форм, що зазвичай не поступають у судинну кров.

При дегенеративному зрушенні загальна кількість лейкоцитів часто зменшується, спостерігається зростання паличкоядерних форм нейтрофілів, у значній мірі дегенеративних, без подальшого зрушення ядра вліво. Дегенеративне зрушення є показником функціональної недостатності кісткового мозку, в якому спостерігається тканинна дегенерація.

Індексом зрушення ядра називається відношення $(M+Ю+П)/С$. В легких випадках патологічного процесу зрушення ядра вліво не йде далі збільшення паличкоядерних нейтрофілів і частково їхніх юних форм. Навпаки, поява великої кількості мієлоцитів і юних гранулоцитів в крові свідчить про тяжке захворювання.

Існує маса публікацій, присвячених клінічним проявам гострої і хронічної ниркової недостатності – порушенню водно-електролітного балансу і кислотно-лужної рівноваги, фосфорно-кальцієвого обміну, метаболізму білків, вуглеводів, жирів; поразці нервової і серцево-судинної систем і легенів, органів травлення, порушенню імунітету, змінам в системі крові. Експериментальних або клінічних даних про кількісний і якісний склад лейкоцитарної формули при нирковій патології в доступній літературі ми не виявили.

Метою проведених досліджень було вивчення морфологічних і кількісних характеристик білого паростка кровотворення при експериментальній гострій нирковій недостатності на різних стадіях розвитку захворювання, а також при корекції цього процесу шляхом введення кріоекстракту плаценти.

Матеріал і методи

Дослідження проведені на 48 білих безпородних щурах масою 200–300 г, віком 4 місяці. Тваринам вводили кріоекстракти плацентарної тканини різного походження по 0,5 мл три рази на тиждень. Через тиждень після введення кріоекстрактів розпочинали моделювання гострої ниркової недостатності. Для моделювання токсичної ниркової недостатності щурів витримували 24 години без їжі, після чого внутрішньом'язово вводили 50%-вий водний розчин гліцеролу в дозі 10 мл на 1 кг маси тіла. Тварини були розподілені на чотири групи по 5 особин у кожній: 1-ша – щури з моделлю гострої ниркової недостатності;

2-га, 3-тя та 4-та групи – щури з моделлю гострої ниркової недостатності, яким попередньо вводили кріоекстракт плаценти щура (КПЩ), людини (КПЛ) та кроля (КПК) відповідно. Тварин виводили з експерименту на 1-й, 2-й та 3-й тижні після введення гліцеролу. Під час забою тварин проводили забір крові для виготовлення мазків, які потім забарвлювали за Паппенгеймом для підрахування формули крові і розрахунку індексу зрушення ядра, лейкоцитарного індексу інтоксикації (ЛІІр) та лейкоцитарного індексу (ЛІ) [9]. Моделювання гострої ниркової недостатності виконано згідно з методичними рекомендаціями [10].

Результати та їх обговорення

В крові контрольних тварин превалюють лімфоцити – $(79 \pm 16)\%$, що узгоджується з даними літератури $(65 - 85\%)$ [9].

У нормі індекс зрушення ядра дорівнює нулю, оскільки відсутні молоді форми кровотворних клітин (табл. 1).

При моделюванні гострої ниркової недостатності через один тиждень спостерігаються наступні зміни в крові. Індекс зрушення ядра вліво сягає 0,45 внаслідок появи мієлоцитів, юних і паличкоядерних форм лейкоцитів. У лімфоцитах деяких щурів з'являється токсична зернистість, препарат збіднений клітинами білого паростка, тоді як у інших тварин структура клітин збережена, зернистість спостерігається в одиночних клітинах. Це свідчить про індивідуальну чутливість тварин, хоча у всіх спостерігається зрушення формули крові вліво, що свідчить про виражений запальний процес.

Через два тижні індекс зрушення ядра склав 0,34, в крові з'явилася велика кількість молодих форм клітин. В результаті відбулося незначне збільшення кількості лімфоцитів – $(72,5 \pm 12)\%$. Слід зазначити, що структура клітин і ядра добре збережена – без фрагментації, розривів мембран і руйнування.

Через три тижні у тварин з гострою нирковою недостатністю індекс зрушення ядра знизився до 0,31, проте морфологічна картина крові дещо погіршала: багато зруйнованих клітин, переважно сегментоядерних лейкоцитів, поява зернистості в полі зору (табл. 1).

В групі тварин, яким до моделювання гострої ниркової недостатності попередньо вводили КПЩ, через тиждень спостерігалась поява молодих форм нейтрофілів, також вірогідно збільшувалась кількість моноцитів. Кількість таких показників, як ЛІІр, ЯІ та ЛІ, становила $0,75 \pm 0,1$; $0,31 \pm 0,1$ та $2,9 \pm 0,3$ відповідно, що свідчить про початок запалення,

Таблиця 1. Кількісний склад крові щурів у нормі при гострій нирковій недостатності (ГНН) і попередньому введенні КПЩ, КПЛ та КПК

Група за тиждень	Мієлоцити	Юні нейтрофіли	Паличкоядерні нейтрофіли	Сегментоядерні нейтрофіли	Моноцити
Інтактні	–	1,0±0,1	–	15,0±2,5	3,0±0,6
ГНН					
1-й тиждень	2,2±0,5 ¹	4,8±0,5 ¹	1,4±0,1 ¹	22,0±3,5 ¹	3,4±0,2
2-й	1,8±0,2	3,7±0,5 ¹	2,5±0,3 ¹	17,3±2,0 ²	2,0±0,2
3-й	3,2±1,2 ^{1 2}	3,7±0,5 ¹	2,3±0,4 ¹	14,7±2,1 ²	5,17±1,10 ^{1 2}
КПЩ					
1-й	2,0±0,2 ¹	2,8±0,2 ^{1 3 4}	2,3±0,2 ^{1 5}	16,7±2,2 ^{3 4 5}	7,3±1,1 ^{1 3}
2-й	3,7±0,5 ^{1 2 3}	6,0±0,5 ^{1 2 3}	3,0±1,2 ¹	20,2±2,0 ^{1 2 4 5}	6,2±1,0 ^{1 3 5}
3-й	6,3±0,4 ^{1 2 3 5}	3,8±0,8 ^{1 2 4 5}	2,2±0,6 ^{1 2 5}	19,5±4,0 ^{1 3 5}	10,3±1,2 ^{1 2 3 4}
КПЛ					
1-й	3,2±1,2 ^{1 3}	8,0±1,0 ^{1 3}	3,2±0,6 ^{1 3}	29,2±3,2 ^{1 3}	6,8±0,8 ^{1 3}
2-й	5,5±0,5 ^{1 2 3}	5,5±0,5 ^{1 2}	4,5±0,5 ^{1 3}	43,5±11,0 ^{1 2 3}	6,8±4,2 ^{1 3}
3-й	7,7±1,0 ^{1 2 3}	7,2±1,0 ^{1 2 3}	2,3±0,2 ^{1 2}	20,0±5,0 ^{1 2 3}	6,8±0,6 ¹
КПК					
1-й	7,3±1,0 ^{1 3}	3,8±1,2 ¹	5,7±2,0 ^{1 3}	30,3±4,1 ^{1 3}	9,7±1,0 ^{1 3}
2-й	9,0±1,5 ^{1 2 3}	5,3±1,0 ^{1 2}	4,0±0,5 ^{1 3}	35,7±8,1 ^{1 2 3}	8,7±1,2 ^{1 3}
3-й	3,0±0,1 ^{1 2}	7,0±0,7 ^{1 2 3}	6,3±0,5 ^{1 3}	36,0±4,2 ^{1 3}	12,7±1,1 ^{1 3}

Продовження табл. 1

Група за тиждень	Лімфоцити	ЛШр	ЯІ	ЛІ
Інтактні	79±16	0,27±0,05	0,06±0,01	4,6±0,5
ГНН				
1-й тиждень	64,0±60 ¹	0,44±0,10 ¹	0,45±0,05 ¹	2,1±0,2 ¹
2-й	72,5±12,0 ^{1 2}	0,47±0,06 ¹	0,34±0,04 ¹	2,9±0,4 ¹
3-й	71,0±8,0	0,76±0,20 ^{1 2}	0,31±0,10 ¹	3,0±0,5 ¹
КПЩ				
1-й	68,8±8,2	0,75±0,10 ^{1 3}	0,31±0,10 ¹	2,9±0,3 ¹
2-й	61,0±8,0 ^{1 4 5}	0,75±0,10 ^{1 3 4 5}	0,49±0,10 ^{1 2 3 4 5}	1,9±0,2 ^{1 2 3 4 5}
3-й	57,3±7,5 ^{1 3 5}	0,84±0,20 ^{1 3}	0,47±0,10 ¹	1,8±0,2 ¹
КПЛ				
1-й	49,5±5,1 ^{1 3}	0,62±0,10 ^{1 3}	0,77±0,15 ^{1 3}	1,1±0,1 ^{1 3}
2-й	34,0±4,5 ^{1 2 3}	0,39±0,02 ^{1 3}	1,45±0,15 ^{1 2 3}	0,6±0,1 ^{1 3}
3-й	59,3±7,5 ^{1 2 3}	0,82±0,07 ^{1 2}	0,56±0,10 ^{1 2 3}	1,6±0,1 ^{1 2 3}
КПК				
1-й	42,7±4,0 ^{1 3}	0,6±0,1,0 ^{1 3}	0,9±0,1 ^{1 3}	0,90±0,12 ^{1 3}
2-й	30,7±3,0 ^{1 2 3}	0,50±0,02 ^{1 3}	1,4±0,1 ^{1 3}	0,6±0,1 ^{1 3}
3-й	31,7±4,5 ^{1 3}	0,7±0,1 ¹	1,2±0,1 ^{1 3}	0,6±0,1 ^{1 3}

Примітка. p<0,05; 1 – вірогідно в порівнянні з групою контролю; 2 – вірогідно в порівнянні з попереднім терміном спостереження; 3 – вірогідно в порівнянні з групою ГНН; 4 – вірогідно в порівнянні з групою КПЛ; 5 – вірогідно в порівнянні з групою КПК.

а саме ексудативної фази альтеративного запалення.

Через два тижні після моделювання гострої ниркової недостатності достовірно зростає кількість молодих форм гранулоцитів, кількість ЛШр, ЯІ та ЛІ становила 0,75±0,1; 0,49±0,1 та 1,9±0,2, що вказує на посилення запалення та інтоксикації.

Через три тижні після попереднього введення КПЩ і моделювання гострої ниркової недостатності кількість молодих форм нейтрофілів

була ще більшою відносно попереднього терміну експерименту, показники ЛШр, ЯІ та ЛІ не змінювались відносно показників на другому тижні експерименту, що, можливо, вказує на ініціацію проліферативної фази запалення.

В групі тварин, яким до моделювання гострої ниркової недостатності попередньо вводили КПЛ, через тиждень спостерігалось вірогідне збільшення молодих форм нейтрофілів відносно групи інтактних тварин і тварин з гострою нирковою недостатністю. Од-

нак спостерігалась лімфопенія. Показники ЛШр, ЯІ та ЛІ становили $0,62 \pm 0,10$; $0,77 \pm 0,15$ та $1,10 \pm 0,10$ відповідно, що свідчить про початок запалення, його ексудативної фази, з пригніченням лімфоїдної тканини.

Через два тижні після попереднього введення КПЛ і моделювання гострої ниркової недостатності достовірно з попереднім терміном експерименту зросла кількість молодих форм гранулоцитів, а також кількість сегментоядерних гранулоцитів, посилилась лімфопенія, показники ЛШр, ЯІ та ЛІ становили $0,39 \pm 0,02$; $1,45 \pm 0,15$ та $0,6 \pm 0,1$. Ці показники були вірогідно нижчими, ніж у групі інтактних тварин і тварин з групи гострої ниркової недостатності у той же термін експерименту, що вказує на посилення запалення та інтоксикації.

Через три тижні після попереднього введення КПЛ і моделювання гострої ниркової недостатності кількість молодих форм нейтрофілів була ще більшою відносно попереднього терміну експерименту. Однак почала нормалізуватися кількість лімфоцитів. Показники ЛШр, ЯІ та ЛІ стали вірогідно вищими відносно показників на другому тижні експерименту, що, можливо, вказує на ініціацію проліферативної фази запалення.

В групі тварин, яким до моделювання гострої ниркової недостатності попередньо вводили КПК, через тиждень спостерігалось вірогідне збільшення молодих форм нейтрофілів відносно групи інтактних тварин і тварин з гострою нирковою недостатністю. Спостерігалась лімфопенія. Показники ЛШр, ЯІ та ЛІ становили $0,6 \pm 0,1$; $0,9 \pm 0,1$ та $0,9 \pm 0,1$ відповідно, що свідчить про початок запалення, його ексудативної фази з пригніченням лімфоїдної тканини.

Через два тижні після попереднього введення КПК і моделювання гострої ниркової

недостатності достовірно з попереднім терміном експерименту зросла кількість молодих форм гранулоцитів, а також кількість сегментоядерних гранулоцитів, посилилась лімфопенія, показники ЛШр, ЯІ та ЛІ становили $0,5 \pm 0,02$; $1,4 \pm 0,1$ та $0,6 \pm 0,1$. Ці показники були вірогідно нижчими, ніж у групі інтактних тварин і тварин з групи гострої ниркової недостатності у той же термін експерименту, що вказує на посилення ексудативної фази запалення й зростаючу інтоксикацію.

Через 3 тижні після попереднього введення КПК і моделювання гострої ниркової недостатності кількість молодих форм нейтрофілів декілька зменшувалась відносно попереднього терміну експерименту. Кількість лімфоцитів була досить низькою. Показники ЛШр, ЯІ та ЛІ вірогідно не змінились відносно показників на другому тижні експерименту, що свідчить про продовження ексудативної фази запалення.

Проведений кореляційний аналіз між показниками кількісного складу лейкоцитів крові та рівнем креатиніну крові тварин, яким до моделювання гострої ниркової недостатності вводили КПЩ, КПЛ та КПК, показав, що існує взаємоз'язок між запаленням і рівнем креатиніну крові в групі тварин з гострою нирковою недостатністю (табл. 2). Запалення, що виникає в нирці, призводить до порушення її функції.

Поява молодих форм гранулоцитів у групі тварин, яким вводили КПЛ, та подальше запалення в нирці призводять до порушення функції, а підвищення індексу лейкоцитарної інтоксикації пов'язано з лімфопенією.

В групі тварин, яким вводили КПК, у запаленні приймають участь молоді форми гранулоцитів, аж до 3-го тижня ексудативна фаза запалення не змінюється на проліферативну, що є причиною гіперкреатиніемії.

Таблиця 2. Результати кореляційного аналізу між показниками кількісного складу лейкоцитів крові і рівнем креатиніну крові у тварин, яким до моделювання гострої ниркової недостатності вводили КПЩ, КПЛ та КПК

Склад лейкоцитів крові	Рівень креатиніну крові, кмоль/л, тварин, яким вводили			
	до моделювання	КПЩ	КПЛ	КПК
Міелоцити	0,52	0,59	0,76	0,94
Юні нейтрофіли	0,73	-0,23	0,91	0,60
Паличкоядерні нейтрофіли	0,95	0,01	0,43	0,54
Сегментоядерні нейтрофіли	0,24	0,07	0,05	0,81
Моноцити	-0,16	0,75	0,82	0,51
Лімфоцити	-0,50	-0,36	-0,34	-0,83
ЛШр	0,54	0,39	0,98	0,45
ЯІ	-0,57	0,13	0,13	0,89
ЛІ	-0,73	-0,24	-0,65	-0,81

Відсутність залежності між гранулоцитами та функціональним показником, таким, як рівень креатиніну крові, в групі тварин, яким вводили КППЦ, свідчить про те, що поліпшення функції нирок у них пов'язане зі швидким переходом з ексудативної фази запалення до проліферативної. Застосування препаратів фетоплацентарного комплексу знаходить висвітлення в неспецифічному впливі на організм реципієнта і проявляється стимуляцією репаративних здатностей тканин організму і за рахунок цього підтримує тканинний, організмений гомеостаз, що здійснюється включенням нервової, ендокринної та імунної систем.

Список літератури

1. Струков А.И., Серов В.В. Патологическая анатомия. Москва: Медицина, 1993. 688 с.
2. Murigan R., Kellum J.A. Acute kidney injury: what's the prognosis? // Nat. Rev. Nephrol. 2011. V. 7. P. 209–217.
3. Churg J., Duffy J.L. Classification of glomerulonephritis based on morphology // Glomerulonephritis. Part V.; Ed E.L. Becker. New York, 1973. P. 43–62.
4. Серов В.В., Куприянова Л.А., Варшавский В.А. Морфогенез иммуннокомплексного гломерулонефрита // Архив патологии. 1979. № 10. С. 27–35.
5. Грищенко В.И., Гольцев А.Н. Трансплантация продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения // Проблемы криобиологии. 2002. № 1. С. 54–85.
6. Грищенко В.И., Юрченко Т.Н. Плацента: криоконсервирование, структура, свойства и перспективы клинического применения. Харьков: СПД ФЛ Бровин А.В., 2011. 292 с.
7. Гольцев А.Н., Юрченко Т.Н. Плацента: криоконсервирование, клиническое применение. Харьков: СПД ФЛ Бровин А.В., 2013. 318 с.
8. Sharfuddin A.A., Molitoris, B.A. Pathophysiology of ischemic acute kidney injury // Nat. Rev. Nephrol. 2011. № 7. P. 189–200.
9. Островский В.К., Мащенко А.В., Янголенко Д.В., Макаров С.В. Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваниях // Клиническая лабораторная диагностика. 2006. № 6. С. 50–53.
10. Заготівля, криоконсервування плацентарної тканини і її клінічне застосування: Метод рекомендації. Харків, 1996. 15 с.

В.И. Строна, Н.В. Репин, Л.Н. Марченко, Т.П. Говоруха, А.М. Васюкович

ВЛИЯНИЕ КРИОЭКСТРАКТА ПЛАЦЕНТЫ РАЗНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ НА СОСТАВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Приведены результаты экспериментальных исследований изменений показателей периферической крови крыс с острой почечной недостаточностью на фоне использования криоэкстракта плаценты аллогенного и ксеногенного происхождения. Предполагается, что введение криоэкстракта плаценты до развития острой почечной недостаточности будет оказывать нефропротекторный эффект на течение заболевания.

Ключевые слова: острая почечная недостаточность, криоэкстракт плаценты, нефропротекторное действие, периферическая кровь.

V.I. Strona, N.V. Repin, L.N. Marchenko, T.P. Govorukha, A.M. Vaskovych

INFLUENCE OF PLACENTAL CRYOEXTRACT OF VARIOUS ANIMAL SPECIES ON COMPOSITION OF PERIPHERAL BLOOD IN ACUTE RENAL FAILURE

The results of research experimental studies of the changes in indices of peripheral blood of the rats with acute renal failure on the background of using the placental cryoextract of allogenic and xenogenic origins. It is supposed that introduction of placental cryoextract prior to acute renal failure development will render a nephroprotective effect on the disease course.

Keywords: acute renal failure, placental cryoextract, nephroprotective action, peripheral blood.

Надійшла до редакції 31.05.17