

## РЕАКЦИЯ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК НА СТРУКТУРНЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧКИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ

Блинкова Н. Б., Данилова И. Г., Гетте И. Ф.,  
Булавицкая Т. С.

*Уральский федеральный университет, Институт иммунологии и физиологии  
Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Россия*

На модели аллоксанового диабета у крыс изучали реакцию иммунокомпетентных клеток на повреждение почки. Нарастающие структурные нарушения почки в условиях хронической гипергликемии сопровождались усилением миграции лейкоцитов, Т-лимфоцитов, уменьшением численности В-лимфоцитов и макрофагов в строме органа.

*Ключевые слова: иммунокомпетентные клетки, аллоксановый диабет, почка*

Современное течение сахарного диабета (СД) 1-го и 2-го типов определяют диабетические ангиопатии, так что СД называют обменно-сосудистым заболеванием. Почки в наибольшей степени подвержены диабетической ангиопатии, поскольку содержат до 2-2,5 млн. сосудистых клубочков, в каждом из которых имеется около 50 капиллярных петель [1]. В основе почечного повреждения, связанного с гипергликемией, лежит гликирование структурных белков организма с последующей их фиксацией на базальных мембранах почечных клубочков и отложением иммунных комплексов [2]. Иммунокомпетентные клетки (ИКК) имеют рецепторы к конечным продуктам гликирования белков, и их активация играет решающую роль в повреждении и регенерации почки при СД [2, 3].

**Цель работы.** Оценить реакцию ИКК на структурные повреждения почки при аллоксановом диабете у крыс.

**Материал и методы.** Эксперименты выполнены на 15 крысах-самцах породы Wistar массой  $210 \pm 5,6$  г. в соответствии с этическими нормами Директивы Совета ЕС 2010/63. СД 1-го типа моделировали введением аллоксана по ранее разработанной методике [4]. Животных разделили на 3 группы: интактные ( $n=5$ ), СД длительностью 30 суток ( $n=5$ ), СД 60 суток ( $n=5$ ). Биохимические показатели определяли с использованием наборов реактивов «Витал Диагностикс СПб», «ФОСФОСОРБ» и полуавтоматического фотометра «Cormay Plus». Об-

разцы почек подвергали стандартной гистологической обработке, серийные срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин и эозином. Проводили иммуногистохимическое (ИГХ) исследование ИКК (лейкоцитов и макрофагов) в почках с оценкой экспрессии CD68, CD45, CD45RA, CD3 (BD, США). Морфометрическое исследование выполнено с помощью программы анализа изображений ВидеоТест Морфология 5.2., оценивали относительное количество поврежденных клубочков (%), среднюю ширину мочевого пространства капсулы клубочка (мкм), количество клеток, экспрессирующих CD68, CD45, CD45RA, CD3 на  $1\text{мм}^2$  в корковом и мозговом слое почки при увеличении микроскопа  $\times 400$  в 20 полях зрения каждого образца. Для статистического анализа использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни, программное обеспечение BioStat Pro 5.9.8.

**Основные результаты.** По данным биохимического исследования периферической крови крыс через 30 суток после введения аллоксана зафиксировано повышение уровня глюкозы ( $25,98 \pm 1,84$  ммоль/л;  $p < 0,05$ ) и гликозилированного гемоглобина ( $7,10 \pm 0,60$  %;  $p < 0,05$ ), по сравнению с интактными крысами ( $5,9 \pm 0,3$  ммоль/л и  $5,1 \pm 0,2$  %, соответственно), что указывало на формирование СД.

При морфологическом и морфометрическом исследовании почки интактных животных структурных нарушений не выявлено. В почках крыс с СД 30 и 60 суток выявлены значительные нарушения гломерулярного ап-

парата – повреждение капиллярных петель, полнокровие, межпетлевые спайки с формированием поврежденных «лапчатых» клубочков. При этом повреждение клубочков нарастало. Так, на 30 сутки СД выявлено 40,5%±1,93 «лапчатых» клубочков, на 60 сутки их относительное количество увеличилось до 52,48%±3,62;  $p < 0,05$ . Также на 30 сутки СД отмечено существенное расширение мочевого пространства капсулы клубочков (15,54±1,31;  $p < 0,05$ ), по сравнению с интактной группой (8,52 ± 0,58), что свидетельствовало о нарушении проницаемости сосудистой стенки. Обнаружены дистрофические изменения эпителия канальцев и лимфогистиоцитарная инфильтрация интерстиция почки.

ИГХ анализ позволил выявить в клеточных инфильтратах лейкоциты (CD45<sup>+</sup>), Т-лимфоциты (CD3<sup>+</sup>), В-лимфоциты (CD45RA<sup>+</sup>) и макрофаги (CD68<sup>+</sup>). По данным морфометрии, в корковом слое почки к 60 суткам СД существенно увеличивалось количество лейкоцитов CD45<sup>+</sup> (190,8±18,62;  $p < 0,05$ ) по сравнению с интактной группой (136,701±12,12) и с группой СД 30 суток (114,5±11,73). На 60 сутки СД увеличивалось количество Т-лимфоцитов CD3<sup>+</sup> (22,84±2,65;  $p < 0,05$ ), снижалось число В-лимфоцитов CD45RA<sup>+</sup> (8,1±0,76;  $p < 0,05$ ) и макрофагов CD68<sup>+</sup> (46,64±7,35;  $p < 0,05$ ), по сравнению с показателями интактной группы (10,81±3,03; 12,42±1,87 и 92,64±12,0, соответственно). В мозговом слое почки увеличилось количество Т-лимфоцитов на 30 и 60 сутки СД (19,92±2,62 и 15,02±3,33, соответственно;  $p < 0,05$ ), по сравнению с интактными крысами (2,59±0,75). Число В-лимфоцитов на 30 сутки достоверно увеличилось (5,84±0,84;  $p < 0,05$ ), по

сравнению с интактной группой (2,59±0,75), с последующим существенным снижением к 60 суткам СД. Количество макрофагов в мозговом слое на 60 сутки СД значительно меньше (22,77± 2,59;  $p < 0,05$ ), чем у интактных крыс (44,57 ± 5,04) и при СД 30 суток (54,48 ± 5,11).

Таким образом, реакция ИКК на прогрессирующие структурные нарушения почки в условиях аллоксанового диабета характеризуется увеличением общего количества лейкоцитов, Т-лимфоцитов и снижением численности В-лимфоцитов и макрофагов в строме органа. Полученные данные могут служить теоретическим обоснованием направленной коррекции диабетической нефропатии через стимуляцию активности макрофагов, регуляторов репаративных процессов.

Исследования выполнены при поддержке гранта РНФ, № проекта 16-15-00039.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дзугкоев С. Г., Дзугкоева Ф. С. Патогенетические аспекты диабетической нефропатии при экспериментальном сахарном диабете у крыс. Современные наукоемкие технологии, 2007, 3, 44-46.
2. Шестакова М. В., Дедов И. И. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек. Москва: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009, 482.
3. Chow F. Y., Nikolic-Paterson D. J., Atkins R. C., Tesch G. H. Macrophages in streptozotocin-induced diabetic nephropathy: potential role in renal fibrosis. *Nephrol. Dial. Transplant*, 2004, 19, 2987-2996.
4. Danilova I. G., Sarapultsev P. A., Medvedeva S. U. Morphological restructuring of myocardium during the early phase of experimental diabetes mellitus. *Anat. Rec. (Hoboken)*, 2015, 298(2), 396-407.

### REACTION OF IMMUNOCOMPETENT CELLS TO KIDNEY ALTERATION IN EXPERIMENTAL ALLOXAN DIABETES

Blinkova N. B., Danilova I. G., Gette I. F., Bulavintseva T. S.

*Ural Federal University, Institute of Immunology and physiology UB RAS, Yekaterinburg, Russia*

The reaction of immunocompetent cells to renal alteration was studied on the model of alloxan diabetes in rats. The growing structural violations in the kidney in a chronic hyperglycemia accompanied by increased migration of leukocytes, T-lymphocytes and a decrease in the number of B-lymphocytes and macrophages in the stroma of the organ.

*Key words:* immunocompetent cells, alloxan diabetes, kidney