

Биохимические и морфологические изменения в почках крыс при длительном применении комбинированной противотуберкулезной терапии

Луганский государственный медицинский университет имени СВЯТИТЕЛЯ ЛУКИ


Баранова В.В. доцент кафедры фтизиатрии, клинической иммунологии и медицинской генетики к.мед.н.

Вайленко Д.С. – ассистент кафедры медицинской химии

Тананакина Т.П. зав. каф. физиологии, д.мед.н., проф.

Телешова О.В. зав. каф. патологической анатомии и судебной медицины, к.мед.н., доцент,

Актуальность

- ▶ В диапазоне нежелательных явлений (НЯ) при химиотерапии (ХТ) больных туберкулезом, частота нефротоксических реакций варьирует от 5 до 16% по данным авторов. Для развития лекарственно индуцированной нефротоксичности у больных туберкулезом имеются все предпосылки: наличие тяжелого инфекционного заболевания с интоксикационным синдромом и полиорганным поражением внутренних органов, длительный прием большого количества (4-6 химиопрепаратов) противотуберкулезных препаратов (ПТП), наличие сопутствующей патологии (хронические заболевания почек, диабет, гепатиты).
-
- 

Лекарственное поражение почек

- ▶ За последние годы лекарственное поражение почек (ЛПП) развивается чаще, достигая 50%. Под термином «лекарственная болезнь» понимают неспецифические синдромы, имеющие сходную клиническую картину с системными заболеваниями и развивающиеся при назначении лекарственных средств (ЛС), в формировании которых участвуют иммунопатологические реакции.
- ▶ Имеют значение доза и длительность приема ЛС, тем более что некоторые из них способны накапливаться в организме.
- ▶ Распространение ЛПП среди населения земного шара изучено недостаточно.
- ▶ Четкой зависимости между проявлениями лекарственной болезни и дозой препарата не установлено, однако известно, что вероятность ее развития существенно увеличивается при одновременном (нередко необоснованном) применении нескольких препаратов.
- ▶ Комбинированная противотуберкулезная терапия является моделью вынужденной полипрагмазии.




-
- ▶ **Побочное действие или реакция** это отрицательное влияние лекарственного препарата на органы и системы человека, приводящие к нарушению их деятельности
 - ▶ (Н.А.Шмелев, Э.С. Степанян 1977г.).



Побочные эффекты противотуберкулезных препаратов на почки:

| Противотуберкулезный препарат (ПТП) | Действие на почки |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Рифампицин | индукция порфирии, нефронекроз, интерстициальный нефрит, |
| Пиразинамид | интерстициальный нефрит, дизурия |
| Амикацин (аминогликозиды) | нефротоксичность (олигурия, протеинурия, микрогематурия, почечная недостаточность), |
| Левифлоксацин (фторхинолоны) | интерстициальный нефрит, острая почечная недостаточность |
| Линезолид | <i>Часто:</i> повышение концентрации мочевины крови; <i>Нечасто:</i> почечная недостаточность, повышение концентрации креатинина в плазме крови, полиурия. |
| Протионамид | При использовании одновременно с другими противотуберкулезными средствами проявляется синергизм по отношению к главному действию. |

Дизайн исследования:

- ▶ Сравнительное изучение токсического влияния комплексной длительной противотуберкулезной терапии первого и второго рядов на почки экспериментальных животных при исключении других причин поражения почек (хронического специфического воспаления и отсутствие сопутствующих патологий) с целью определения рисков развития и характера лекарственного поражения почек.
-
- 

Материалы и методы

- ▶ Эксперимент был проведен на белых беспородных половозрелых крысах (самцах) массой 200-230г на базе вивария ГУ ЛНР «ЛГМУ им. Св. Луки», которые были разделены на контрольную (К) и две опытные группы, в которых крысы получали ежедневно комбинированную терапию, рекомендуемую для лечения туберкулеза вызванного штаммами микобактерий туберкулеза (МБТ) с сохраненной чувствительностью к ПТП: I ряд противотуберкулезных препаратов (I) – группа 1; II ряд противотуберкулезных препаратов (II) при химиорезистентном туберкулезе – группа 2. В каждой группе по 40 экспериментальных животных. Препараты вводились внутривентрикулярно, за исключением канамицина, он вводился внутримышечно. Забои проводились на протяжении 120 дней с интервалом в 30 дней. В соответствии с Дозы препаратов рассчитывались в соответствии с руководством по проведению доклинических исследований (по Хабриеву Р. У.):
 - ▶ РАСЧЕТНАЯ ДОЗА крысы = $ED_{50} * (КОЭФ.Ч-КА) / (КОЭФ.КРЫСЫ)$
 - ▶ Препараты 1-го ряда: изониазид – РД 15 мг; рифампицин – РД 30 мг; пиперазин – РД 75 мг; этамбутол – РД 60 мг.
 - ▶ Препараты 2-го ряда: левофлоксацин – РД 45 мг; линезолид – РД 25,7 мг; бедаквилин (по схеме) 2 недели ежедневно РД 17,1 мг, а затем 22 недели 1 раз в 3 дня (три раза в неделю) РД 8,6 мг; канамицин – РД 45 мг; циклосерин – РД 45 мг; протионамид – РД 45 мг.
 - ▶ Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программного обеспечения Statistica 10.0. Статистическую значимость различий (p) определяли с помощью критерия Вилкоксона и статистически значимыми считали различия на уровне $p < 0,05$.
-

Результаты и обсуждение.

- ▶ В норме содержание креатинина в плазме крови крыс колеблется от 60 до 90 мкмоль/л. Применение противотуберкулезных препаратов привело к увеличению концентрации креатинина в крови крыс на разных этапах эксперимента в разных опытных группах .
- ▶ Достоверно значимое повышение уровня креатинина зарегистрировано после 2-х месячной терапии комбинации препаратами I и II рядов.



Показатель креатинина на фоне приема противотуберкулезных препаратов (ПТП), (мкмоль/л)

| ПТП | До приема ПТП | 1 срок 30 дней | 2 срок 60 дней | 3 срок 90 дней | 4 срок 120 дней |
|--------|---------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| I ряд | 57,4200 | 75,12 | 76,13* | 103,00*#& | 132,41*#&^ |
| II ряд | 57,4200 | 98,33* | 108,03*# | 161,20*#& | 172,91*#&^ |

Примечание:

* - достоверная разница между нулевым сроком и 1, 2, 3, 4 сроками наблюдения

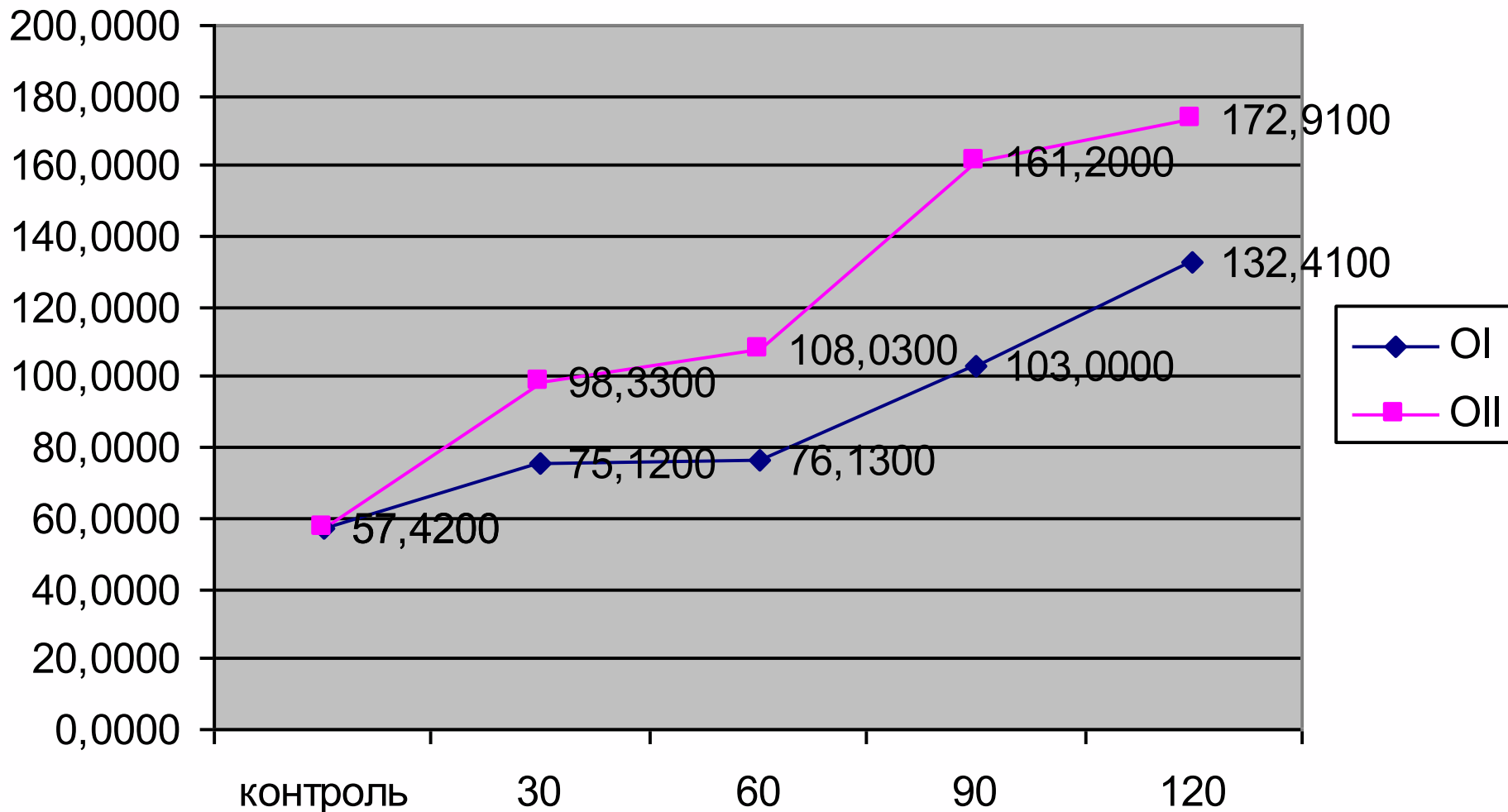
- достоверная разница между 1 сроком и 2, 3, 4 сроками наблюдения

& - достоверная разница между 2 сроком и 3, 4 сроками наблюдения

^ - достоверная разница между 3 сроком и 4 сроком наблюдения




Показатель креатинина на фоне приема противотуберкулезных препаратов (ПТП), (мкмоль/л)

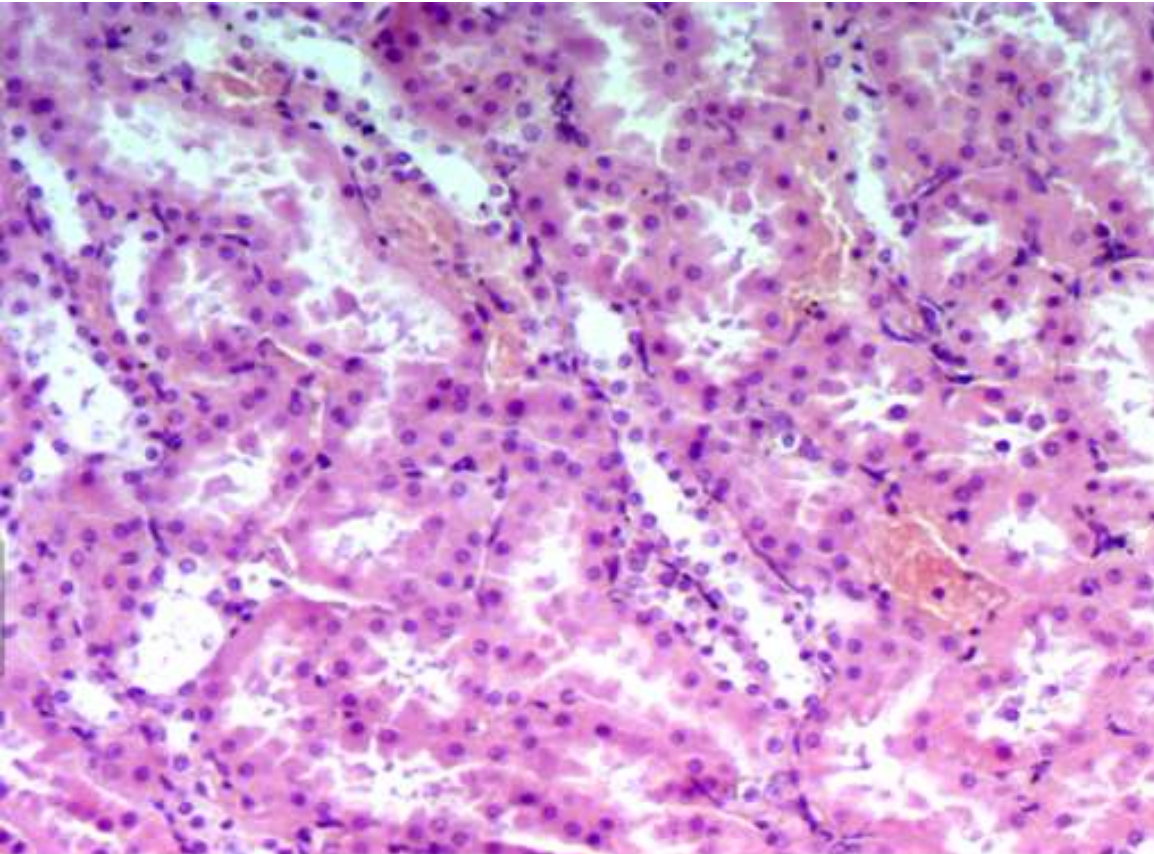


-
- ▶ Полученные результаты демонстрируют увеличение показателя креатинина у крыс, получавших I ряд ПТП к 3 –ему месяцу эксперимента и возросшему в 1,9 раза через 120 дней, что указывает на кумулятивный эффект применяемой терапии, при достоверно значимой разнице в сравнении с показателями каждого последующего этапа.
 - ▶ При получении препаратов II ряда статистически достоверный рост показателя креатинина был зарегистрирован уже через месяц приема, причем этот рост продолжался на каждом этапе исследования и был зафиксирован его максимальный уровень через 4 месяца приема (в 2,5 раза по сравнению с уровнем изучаемого показателя контрольной группы)
-



-
- ▶ *Применение противотуберкулезных препаратов имеет токсическое действие на почки, с выраженным кумулятивным эффектом, что требует изучения не только на биохимическом, но и на гистологическом уровне повреждающего действия препаратов на паренхиму почек.*
-
- 

Патоморфологические изменения почек в эксперименте на 60 день приема ПТП



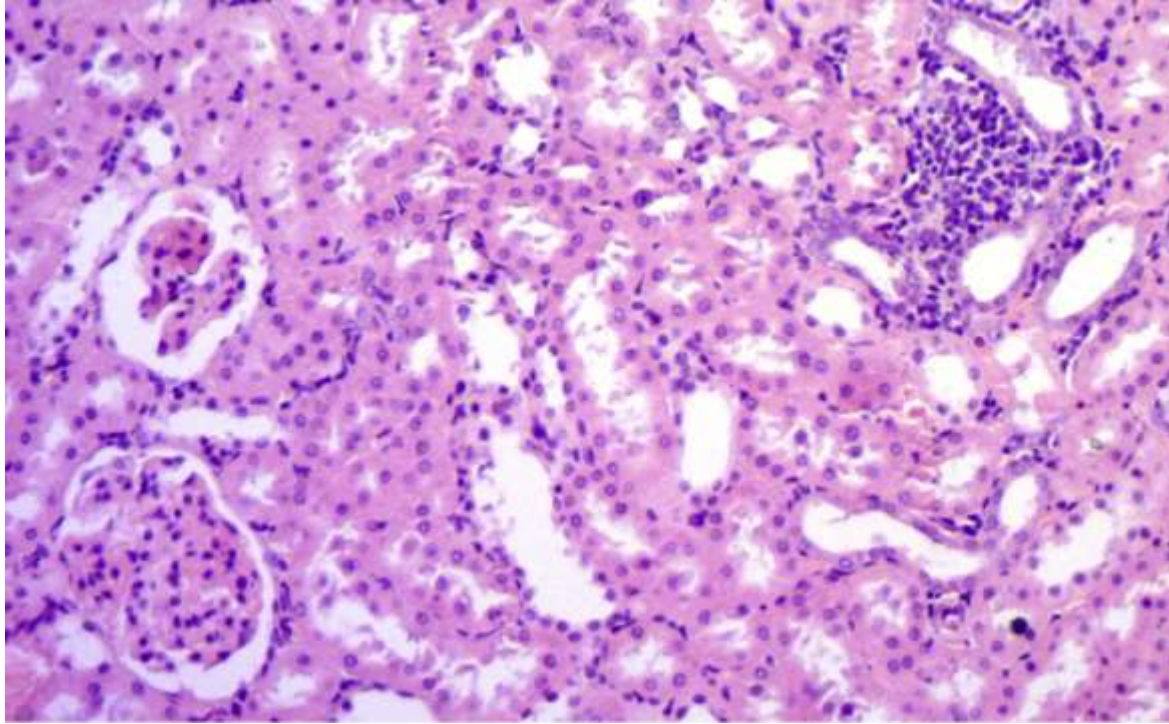
Почка крыс,
получающих
противотуберкуле
зные препараты I
ряда

Гиперемия и стаз перитубулярных капилляров, мелкие фокусы кровоизлияний В эпителиальных клетках комковатая цитоплазма, разрушенные апикальные края с потерей цитоплазмы. Просветы канальцев расширены, в просветах эозинофильные глыбчатые массы.

Патоморфологические изменения почек в эксперименте на 60 день приема ПТП I ряда

- ▶ Патологические изменения фиксировались в зоне проксимальных извитых канальцев, где отмечались признаки нарушения строения канальцев и повреждения эпителия. Эпителиоциты этого отдела нефрона теряли щеточную каемку, их цитоплазма содержала эозинофильные мелко- и крупнокапельные внутриклеточные включения, вакуоли. Апикальный край эпителиальных клеток выглядел разрушенным местами разорванным. Фрагментация и разрушение апикальных частей эпителиоцитов приводили к потере цитоплазмы и уменьшению удельного объема эпителия проксимальных извитых канальцев. Этот показатель составил 60,17% против 64,96% в группе контроля. В результате уменьшения объема эпителия просветы проксимальных извитых канальцев были расширены, многие содержали эозинофильные комковатые глыбчатые белковые массы, клеточный детрит. Удельный вес просветов проксимальных извитых канальцев составил 14,53% в группе крыс, получавших препараты первого ряда против 12,39% в группе контроля. Повреждения эпителия сочетались с выраженными расстройствами кровообращения в перитубулярных капиллярах и венах. Сосуды были расширены, полнокровны с явлениями стаза и мелкими периваскулярными кровоизлияниями.

Патоморфологические изменения почек в эксперименте на 60 день приема ПТП II ряда



Почка крыс,
получающих
противотуберкуле
зные препараты II
ряда

Гиперемия перитубулярных капилляров, капилляров клубочка. Очаговый воспалительный инфильтрат. В клубочках расширение пространства капсулы клубочка и спавшиеся капиллярные петли. В эпителии канальцев разрушение апикальной цитоплазмы. Фокусы полного разрушения клетки с потерей границ и "оголение ядер", расположенных у базальной мембраны.



Патоморфологические изменения почек в эксперименте на 60 день приема ПТП II ряда

- ▶ Во второй группе исследования (Животные, получавшие противотуберкулезные препараты второго ряда) в сроке 60 суток расстройства кровообращения затрагивали не только сосуды интерстиция, но и капилляры клубочков. В последних также наблюдались полнокровие, стаз. В части гломерул отмечалось расширение пространства ее капсулы, частично - за счет коллапса капиллярных петель. Расстройства кровообращения в почках грызунов этой группы сочетались с очаговой воспалительной инфильтрацией. Воспалительные инфильтраты, состоящие из лимфоидных клеток располагались в виде спорадических фокусов в зоне проксимальных извитых канальцев, преимущественно перитубулярно; удельный вес их составил 2,91% при отсутствии воспалительных изменений в ткани почек интактных крыс. В группе крыс получавших противотуберкулезные препараты второго ряда дистрофические изменения эпителия нарастали - наблюдалась деструкция не только апикальных частей клеток, но полное разрушение цитоплазмы с потерей границ клеток и наличием мелких фокусов некроза с явлениями кариозиса и разрушения базальной мембраны. При этом, ядра эпителиоцитов, расположенные у базальной мембраны выглядели "оголенными", выбухающими в просветы расширенных канальцев. Морфометрическое исследование установило, что удельный вес эпителия составил 62,82% против 71, 15% в группе контроля, соответственно просветы канальцев 9,62% против 6,20% в группе контроля.

Заключение.

- ▶ Таким образом, результаты исследования позволили выявить патоморфологические маркеры повреждения нефрона почки при воздействии противотуберкулезных препаратов I, и II рядов.
- ▶ Биохимические изменения на фоне приема I ряда значительно повышаются после двух месячной терапии
- ▶ Патоморфологическое исследование выявило более выраженное нефротоксическое влияние противотуберкулезных препаратов второго ряда.



Благодарим за внимание!

