

Экспериментальные модели острого почечного повреждения

К.С. Комиссаров¹, В.С. Пилотович¹, М.Ю. Юркевич¹,
М.В. Дмитриева², М.М. Зафранская¹

¹ ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»,
220013 Минск, ул. П. Бровки, д. 3, Минск, Беларусь

² УЗ «Минское городское патологоанатомическое бюро»,
220116 Минск, ул. Семашко, д. 8/8, Минск, Беларусь

Experimental models of acute renal injury

K.S. Komissarov¹, V.S. Pilotovich¹, M.Yu. Yurkevich¹, M.V. Dmitrieva², M.M. Zafranskaya¹

¹ SEE "Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education",
3 P.Brovki Str. 220013, Minsk, Belarus

² EH "Minsk City Pathology Bureau", 8/8 Semashko Str. 220116, Minsk, Belarus

Ключевые слова: острое почечное повреждение, лабораторные животные, эксперимент, глицерин, гентамицин, цисплатин, диклофенак, сепсис, уран, ишемически-реперфузионное повреждение

Резюме

Для изучения патогенетических механизмов острого почечного повреждения (ОПП) различной этиологии и оценки эффективности нефропротективных мероприятий было разработано значительное количество экспериментальных работ на животных, которые воссоздают клиническое течение различных форм почечной недостаточности. Детальное описание имеющихся моделей ОПП у животных позволит понять специфику проведения конкретного эксперимента и правильно интерпретировать полученные результаты. Введение глицерина индуцирует повреждение почек, которое возникает при рабдомиолизе. Использование в эксперименте лекарственных средств таких, как гентамицин, цисплатин, ифосфамид, диклофенак, стимулирует развитие ОПП, которое наблюдается при назначении соответствующего препарата в медицинской практике. Модель контраст-индуцированной ОПП имитирует у животных почечную недостаточность, возникающую во время ангиографических исследований с использованием радиоcontrastных веществ. Для создания модели ОПП, связанной с действием вредных факторов, распространенных в окружающей среде, используют соли урана, хрома. Почечные дисфункции, возникающие при воздействии загрязненной воды, симулируются введением нитрилтриацетата и 1,2-дихлорвинил-L-цистеина. Нарушение функции почек при генерализованной инфекции изучается на модели сепсис-индуцированной ОПП. Различные экспериментальные модели ишемически-реперфузионного (И/Р) ОПП симулируют гемодинамические нарушения, происходящие при снижении почечного кровотока. В данной работе представлен детальный протокол экспериментальной модели И/Р ОПП у крыс вследствие билатерального клипирования почечных ножек с описанием технических вопросов, возможных вариантов модели, их особенностей а также решение сложностей, которые могут встретиться во время проведения эксперимента.

Abstract

A variety of experimental animal models which mimic renal failure of different origin have been used to study the pathogenic mechanisms of acute kidney injury (AKI) and to test nephroprotective strategies. Detailed description of existing animal models of AKI helps to understand the specific methodology of each experiment and to interpret the obtained results correctly. Glycerol-induced kidney injury in animals closely mimics the rhabdomyolysis. Use of such drugs as gentamicin, cisplatin, ifosfamide, diclofenac stimulates AKI and mimics renal failure due to clinical administration of respective drugs. Animal model of radiocontrast-induced AKI mimics renal failure caused by radiocontrast media during angiography. Experimental model of uranium, potassium dichromate-induced AKI simulates the occupational hazard. Using of S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine, ferric nitriloacetate-induced AKI imitates contaminated

Адрес для переписки: Комиссаров Кирилл Сергеевич
Тел.: 8 (375) 680-70-97 E-mail: kirill_ka@tut.by

water-induced renal dysfunction. Animal model of sepsis-induced AKI mimics the infection-induced renal failure. A variety of experimental models ischemia-reperfusion (I/R)-induced AKI simulate the hemodynamic changes specific to decreasing renal blood flow. A detailed model of I/R AKI by bilateral clamping of renal pedicles in rats with specification of technical issues, different variants of experiment, their peculiarities and difficulties is also described.

Key words: acute kidney injury, laboratory animals, experiment, glycerol, gentamicin, cisplatin, diclofenac, sepsis, uranium, ischemia-reperfusion injury

Введение

В настоящее время, несмотря на все успехи фармакологической промышленности и совершенствование методов почечно-заместительной терапии (ПЗТ), смертность от острого почечного повреждения (ОПП) остается высокой и колеблется от 25 до 70%, что позволяет считать его одним из важных жизнеугрожающих осложнений, наблюдаемых в реанимационных отделениях, у пациентов с травмой, сепсисом и после крупных хирургических вмешательств [12, 35]. Лекарственные препараты из группы антибиотиков – гентамицин, амфотерицин В, противоопухолевых препаратов – цисплатин и ифосфамид, многие радиоcontrastные вещества, нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), фолиевая кислота являются причинами развития почечной недостаточности в повседневной медицинской практике [36]. В настоящее время выделен ряд предрасполагающих факторов ОПП, к ним могут быть отнесены: гемодинамическая нестабильность, операции на крупных сосудах, гиповолемия, атеросклероз, использование диуретиков, застойная сердечная недостаточность, перитонит, кишечная непроходимость, операция на желчевыводящих путях, сахарный диабет, гипоксия, ишемическое повреждение с последующей реперфузией органа (И/Р), преэклампсия, сепсис, тяжелой степени отеки и панкреатит [32].

С целью понимания патофизиологии начала развития ОПП, его течения в различных клинических ситуациях и оценки эффективности фармакологических средств, направленных на восстановление почечной функции, были разработаны различные животные модели острой почечной недостаточности. В статье будет представлено детальное описание имеющихся экспериментальных работ, имитирующих часто встречающиеся в практике формы ОПП (см. таблицу 1).

При массивном разрушении поперечнополосатой мускулатуры развивается рабдомиолиз, который у 10 – 40% пациентов ведет к ОПП, на долю которого приходится от 2 до 15% всех случаев начала острого диализа [36]. Большое количество патологических состояний, с которыми имеет дело медицина катастроф, такие как, синдром длительного сдавления, политравма, чрезмерная физическая нагрузка, метаболические нарушения, гипоксия, токсины, ожоговая болезнь и инфекционные агенты, а также прием некоторых лекарственных средств – ведут к развитию

рабдомиолиза [59]. Основным патофизиологическим механизмом этого синдрома является массивное разрушение поперечнополосатой мускулатуры с высвобождением в межклеточное пространство и кровотоки миоглобина, который, фильтруясь через гломерулярную базальную мембрану, оказывается в почечных канальцах, что ведет к формированию обтурирующих цилиндров и развитию ренальной почечной недостаточности [36]. Животной моделью этого вида почечного повреждения служит внутримышечное (в/м) однократное введение крысам 50% раствора глицерина в дозе 8-10 мл/кг, что сопровождается многократной гематурией, вазоконстрикцией в корковом веществе почечной ткани, увеличением концентрации перекиси водорода и развитием тубулярного некроза (см. таблицу 1) [56].

Клиническое использование гентамицина для лечения тяжелых грамотрицательных инфекций показало, что высокие дозы (2,5 мг/кг 2 раза в день в/м в течение 7 дней) обладают потенциальной токсичностью к почечной ткани [46]. Гентамициновая нефротоксичность является одной из самых частых форм лекарственной токсичности, на ее долю приходится около 30% всех случаев лекарственно индуцированной ОПП [41]. Особенно высокий риск поражения при использовании гентамицина имеют пожилые люди, у которых превышение концентрации этого антибиотика в крови выше 2,5 мкг/мл вызывает развитие канальцевого некроза [52]. Основным механизмом поражения почек при использовании гентамицина является избирательное взаимодействие препарата с клетками проксимальных извитых канальцев, внутриклеточное его накопление и связывание с полианионными мембранами органелл, что ведет к нарушению синтеза белка, снижает фосфолипазную активность и продукцию фосфолипидных продуктов, блокирует митохондриальное дыхание и заканчивается гибелью клетки [30]. Существует много протоколов воссоздания аминогликозидной нефротоксичности у лабораторных животных, но наиболее частой и точно имитирующей гистологические изменения является методика внутриперитонеального (в/п) назначения гентамицина сульфата в дозе 100 мг/кг в сутки в течение 5-8 дней (см. таблицу 1) [19].

Цисплатин является противоопухолевым препаратом, который используется для лечения рака яичников, мочевого пузыря, опухолей головы и шеи. Нефротоксичность цисплатина является

Таблица 1 | Table 1

Варианты экспериментальных моделей острого почечного повреждения различного генеза
A variety of experimental models of acute kidney injury with different pathogenic mechanisms

№	Модель ОПП	Наиболее часто, используемая методика проведения модели	Источник
1	Рабдомиолиз	Глицерин однократно в/м в дозе 8 мг/кг	56
2	Гентамициновая	Гентамицин в течение 5 дней в/п в дозе 100 мг/кг	19
3	Цисплатиновая	Цисплатина однократно в/п в дозе 100 мг/кг	44
4	Контраст-индуцированная	Натрия диатризоат однократно в/в в дозе 7-10 мл/кг	64
		Йогексол однократно в/п в дозе 1,5-3 г	37
5	НПВС-индуцированная	Ацетаминофен однократно внутрь в дозе 750 мг/кг или однократно в/п в дозе 600 мг/кг	42
		Диклофенак натрия в течение 3 дней в/п в дозе 15 мг/кг	15
6	Осмотический нефроз	Раствор 4 – 27% сахараза однократно в/п	25
7	Ифосфамидная	Ифосфамид однократно в/п в дозе 550 мг/кг	66
8	Фолат-индуцированная	Фолиевая кислота однократно в/в в дозе 250 мг/кг	60
9	Урановая	Нитрат уранила однократно в/в в дозе 15 мг/кг	17
10	Ртутная	Хлорид ртути однократно в/п в дозе 6 мг/кг или п/к в дозе 10 мг/кг	20
11	Соли хрома	Дихромат калия однократно п/к в дозе 15 мг/кг	34
12	Соли нитрилтриацетата	Нитрилтриацетат железа однократно внутрь в дозе 12 мг/кг или в/п в дозе 15 мг/кг	24, 58
13	1,2-дихлорвинил-L- цистеин	1,2-дихлорвинил-L-цистеин однократно в/п в дозе 25 мг/кг	14
14	Гербициды	Паракват дибромид однократно внутрь в дозе 108-680 мг/кг или ликват дибромид однократно внутрь в дозе 7,5-680 мкмоль/кг	39
15	Сепсис-индуцированная	Лигирование и пункция слепой кишки	63
		Бактериальные липополисахариды однократно в/п в дозе 15 мг/кг	33
16	И/Р повреждение	45-минутная ишемия почечной ткани с последующей 24-часовой реперфузией	27

основным лимитирующим фактором его широкого использования в онкологии; так, клинические наблюдения показали что, назначение в течение 5 дней этого алкилирующего препарата в дозе 20 мг/м² в сутки ведет к повышению уровня сывороточного креатинина и снижению СКФ, а также к увеличению в 2,4 раза концентрации в моче фермента N-ацетил-β-D-глюкозамидазы, одного из индикаторов поражения почечных канальцев [62]. Тубулярную токсичность цисплатина объясняют апоптозом и некрозом вследствие увеличения концентрации свободных радикалов кислорода, перегрузкой внутриклеточным кальцием, активацией фосфолипаз, снижением уровня восстановленного глутатиона, блокированием ферментов клеточного дыхания [2]. Для воспроизведения экспериментальной модели ОПП, которое наступает в первые 72 часа от момента введения препарата, наиболее часто используется однократное в/п введение цисплатина в дозе 30 мг/кг [44].

В последние годы, особенно в кардиологии и хирургии, радиоcontrastные вещества становятся одной из главных причин ОПП, частота которого может достигать 30-50% случаев у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), сахарным диабетом (СД) и с предрасполагающей хронической болезнью почек (ХБП) [3]. Патогенез контраст-индуцированного ОПП мультифакторный и объясняется избыточным образованием свободных радикалов,

накоплением медиаторов воспаления, изменением системы антиоксидантной защиты и развитием ускоренного апоптоза клеток почечных канальцев [64]. Для воспроизведения у животных ОПП, которое потенциально может возникнуть у пациентов при селективной коронароангиографии, наиболее часто использовался натрия диатризоат – это водорастворимый йодсодержащий, органический контрастный препарат, с высокой осмолярностью – в дозе 7 мл/кг, который вводился в/в однократно в течение 5 минут [64]. Следующим широко используемым веществом был йогексол – неионный препарат, который вводился мышам в/п в дозе эквивалентной 1,5-3 г свободного йода на кг массы животного [37].

В медицинской практике одним из наиболее широко используемым нестероидным противовоспалительным средством (НПВС) является диклофенак, но, к сожалению, одним из его побочных эффектов является нефротоксичность [31]. В клиническом наблюдении было показано, что ежедневный в течение 6 месяцев прием 75 мг диклофенака ведет к тяжелой почечной недостаточности [31]. Основное повреждающее действие НПВС заключается в блокировании синтеза простагландинов, что нарушает почечную гемодинамику, ведет к ишемии ткани и заканчивается острым интерстициальным нефритом, что было показано в эксперименте, при в/п введении диклофенака в дозе 15 мг/кг в течение 3 дней [18].

Другим широко используемым анальгетиком и жа-ропонижающим лекарственным средством является ацетаминофен; так, в клинической практике и экс-перименте было показано, что превышение макси-мальной дозы может вызвать печеночный некроз и развитие ОПП [26]. Передозировка ацетаминофе-на ведет к развитию оксидативного стресса, который ведет к увеличенному образованию свободных кис-лородных радикалов, перекисному окислению липи-дов и развитию тубулярного некроза [26, 48]. Для мо-делирования ацетаминофеновой ОПП у крыс, при котором гистологические изменения полностью со-ответствовали патологической картине отравления парацетамолом у людей, использовалось однократ-ное назначение внутрь 750 мг/кг препарата [48].

С целью снижения повышенного внутричерепно-го давления в отделениях реанимации и интенсивной терапии нередко используются осмотически актив-ные препараты, такие как гипертонический раствор сахарозы, гидроксипропилкрахмал, декстраны и кон-трастные агенты. В некоторых случаях при проведе-нии осмотического диуреза развивается осмотиче-ский нефроз, который гистологически проявляется вакуолизацией и набуханием эпителия проксималь-ных канальцев, с последующим развитием ОПП [40]. Для симуляции у животных этого вида почечного повреждения кроликам в/п вводили 20% раствор сахарозы, что в течение часа приводило к развитию ОПП [25].

Ифосфамид является синтетическим аналогом циклофосфамида, который широко используется в онкологии для лечения различных типов сарком и рака яичек [11]. В проспективном исследовании у пациентов с остеосаркомой было показано, что кумулятивная доза этого антиметаболита, превы-шающая 73,5 г/м², ведет к развитию почечной не-достаточности [21]. Механизм нефротоксичности ифосфамида связан с разрушением поперечных связей дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), что, в конечном итоге, ведет к ускоренному клеточ-ному апоптозу и некрозу клеток почечных канальцев [66]. Для воспроизведения животной модели исполь-зовалась в/п введение крысам ифосфамида в дозе 550 мг/кг [66].

Фолиевая кислота – водорастворимый витамин, несмотря на свои свойства влиять на рост и развитие кровеносной и иммунной системы, получил широ-кое применение в экспериментальной медицине для воспроизведения у животных ОПП. Механизм токси-ческого действия фолатов до конца непонятен, пред-полагается, что кристаллы солей фолиевой кислоты обтурируют просвет почечных канальцев с развитием обширного некроза и последующим образованием очагов кортикального склероза [45]. Молекулярны-ми механизмами почечного повреждения могут быть снижение концентрации антиапоптотического белка, синтезируемого В-лимфоцитами, а также повыше-ние концентрации в крови фактора некроза опухолей

альфа (ФНО α) [60]. Животной моделью этого типа почечной недостаточности может служить однократ-ное в/в введение мышам раствора фолиевой кислоты в дозе 250 мг/кг с развитием ярких клинических про-явлений через 48 часов [60].

По некоторым данным, в мире более 10 миллио-нов человек имеют постоянный контакт с вещества-ми, обладающими выраженной нефротоксичностью, при этом следует отметить, что патология почек возникает вследствие хронического воздействия экопolutантов, производственных вредностей (тя-желых металлов, органических растворителей и др.) значительно чаще, чем принято считать [1].

Одним из нефротоксичных металлов является уран, его токсическое действие на организм челове-ка было изучено на шахтерах, добывающих урано-вую руду. Во многих работах была показана высокая тропность этого металла к проксимальным каналь-цам, поэтому в настоящее время уран-индуцирован-ная модель ОПП воспроизводится исключительно для получения этого типа ренального повреждения, которое характеризуется нарушением реабсорбции аминокислот (АК), низкомолекулярных белков, сни-жением концентрационной функции почек и закан-чивается тубулярным некрозом [8, 9]. Для воспро-изведения урановой нефротоксичности чаще всего использовался уранил нитрат и уранила ацетат, при этом азотнокислый уранил вводится в/в однократно в дозе 15-25 мг/кг, тогда как уксуснокислый уранил подкожно (п/к) в дозе 5 мг/кг [17].

Хорошо известны токсические свойства ртути на организм человека, однократное введение двуххло-ристой ртути ведет к раннему наступлению некроза тубулярного эпителия. Гистологическая картина при световой микроскопии представлена фрагментами клеточных мембран на протяжении всего почечного канальца, а при электронной микроскопии отмеча-ется набухание митохондрий с повреждением клеточных ядер и цитоплазматических органелл, что свидетель-ствует о развитии усиленного оксидативного стресса при этом виде интоксикации [57]. Однократное в/п введение двуххлористой ртути мышам воссоздает ти-пичную клинико-гистологическую картину почеч-ного повреждения при отравлении солями этого ме-талла [20].

Следующим широко распространенным в при-роде нефротоксичным элементом является хром, к основным источникам которого относят вулкани-ческие породы грунта, сельскохозяйственные культу-ры растений, выращенные на загрязненных почвах, домашний скот, проживающий на загрязненных территориях. Соли хрома также широко исполь-зуется в кожевенной и деревоперерабатывающей промышленности, в типографиях, в краске для во-лос. Этот металл потенциально токсичен не толь-ко для почечной ткани, но также имеет высокую тропность к легким, печени, селезенке и сердцу [4]. Для имитации ОПП вследствие отравления хромом

используется однократное п/к введение дихромата калия в дозе 15 мг/кг [34].

Нитрилотриуксусная кислота или нитрилотриацетат имеет многочисленные коммерческие приложения в качестве хелатора металлических ионов, в частности при очистке воды, в текстильной промышленности, в производстве бумаги, в электрохимической промышленности, в кожевенном производстве, косметике. Таким образом, основным источником загрязнения окружающей среды с возможным попаданием солей в питьевую воду будут являться сточные воды крупных промышленных предприятий или непосредственный контакт с веществом. Наиболее выраженной нефротоксичностью из солей нитрилотриуксусной кислоты обладает нитрилотриацетат железа, которая индуцирует образования свободных радикалов, включающих супероксид анион и гидроксил-радикалы, определяющих нефротоксичность вещества [24]. Часто используемой экспериментальной моделью данного вида почечного повреждения является назначение крысам однократно внутрь нитрилотриацетат железа в дозе 12 мг/кг или в/п введение в дозе 15 мг/кг [24, 58].

Агентство Соединенных Штатов по регистрации токсических веществ и заболеваний определило 1,2-дихлорвинил-L-цистеин к наиболее опасным химическим веществам с потенциальной нефротоксичностью по отношению к проксимальным канальцам [16]. Эксперимент по воспроизведению данного вида ОПП предполагает однократное в/п назначение 1,2-дихлорвинил-L-цистеин мышам в дозе 25 мг/кг [14].

Использование гербицидов сегодня стало неотъемлемой частью технологии производства сельскохозяйственных культур, однако в состав широко распространенных в мире гербицидов входят дибромиды параквата и диквата, обладающие при непосредственном контакте с клеткой мощными окислительными свойствами, что и объясняет их нефротоксичность. В работе E. Lock и J. Ishmael было показано, что однократное введение параквата дибромиды внутрь крысам в дозе 680 мг/кг ведет к канальцевой дисфункции уже через 6 часов от момента введения, в свою очередь, однократное использование внутрь диквата дибромиды в дозе 680 мкмоль/кг привело к развитию через 6 часов протеинурии и глюкозурии [39].

В последние годы частота возникновения сепсиса увеличилась, что оказывает существенное влияние на характер течения основного заболевания. Доказанным фактором риска развития ОПП является сепсис, тяжелое течение которого наблюдается у 11-27% пациентов, находящихся в отделениях интенсивной терапии и реанимации [28]. Почти в половине случаев у пациентов с септическим шоком отмечается снижение почечной функции, смертность при этом составляет примерно 18-55% [5]. Существует 3 варианта создания животной модели повреждения почек при сепсисе.

Хирургическая модель включает в себя лигирование слепой кишки дистальнее илеоцекального угла с последующим выполнением трех перфораций этого участка кишечника иглой диаметром в 16 G и дренированием этих отверстий латексными дренажами шириной 3 мм (2 отверстия) и 5 мм (1 отверстие). После хирургического этапа проводится инфузионная терапия изотоническим раствором натрия хлорида в дозе 40 мл/кг и уже через 24 часа от момента эксперимента у грызунов проявляется клиническая картина полимикробного сепсиса (диарея, заторможенность, тахипное, сокращение мышц, поднимающих шерсть) и повышается уровень креатинина крови, свидетельствующий о развитии ОПП [63]. Второй моделью можно считать введение в левую феморальную вену крысы в течение 30 минут микробного липополисахарида в дозе 10 мг/кг [51]. Наиболее часто используемой методикой воссоздания ОПП при сепсисе является в/п введение липополисахарида, полученного из *Escherichia coli* (штамм 055:B5), в дозе 15 мг/кг [33]. Возможной альтернативой предыдущей методике может быть комбинирование перевязки почечной артерии с п/к введением 4-недельным крысам взвеси *Escherichia coli* [47].

При анализе различных экспериментальных исследований, имитирующих ишемически-реперфузионное (И/Р) повреждение почек у лабораторных животных, можно выделить 2 основных подхода:

- 1) двухсторонняя почечная И/Р модель и
- 2) односторонняя И/Р модель [54]. В свою очередь односторонняя модель эксперимента подразделяется на 2 подтипа: с удалением и без удаления контралатеральной почки. Изначально такие эксперименты проводились на животных относительно крупных размеров, таких как собаки и кролики, затем наиболее популярным стало использование крыс и мышей. С 1960 года опубликовано около 1300 научных публикаций, посвященных И/Р повреждению почек, при этом в половине случаев крысы использовались как объект наблюдения [61].

Степень поражения почечной ткани при И/Р модели ОПП зависит от времени ишемии, обусловленной обструкцией почечной артерии, при этом имеется определенная зависимость – чем дольше время ишемии, тем больше площадь поражения с вовлечением большего числа нефронов и значительным снижением выживаемости животных [53]. Существуют различные варианты модели ОПП в зависимости от длительности периода ишемии и реперфузии почек с последующим выведением животных из эксперимента (таблица 2).

Как видно из представленных источников, наиболее часто используемой и удобно воспроизводимой моделью, напоминающей гемодинамические нарушения у человека, является двухстороннее пережатие почечных сосудистых ножек. При этом в исследованиях время ишемии колебалось от 20 минут до 75 минут, а более короткий период ишемии

Варианты животных моделей И/Р повреждения почек
A variety of experimental models of ischaemia-reperfusion (I/R)-induced kidney injury

Вариант модели	источник
Пережатие обеих почечных артерий на 60 мин (И) и 24 часовой период реперфузии (Р)	7
Пережатие левой почечной артерии на 45 мин (И) и 24 часа (Р)	15
Пережатие правой почечной артерии и вены на 60 мин (И) и 60 мин (Р)	22
Пережатие левой почечной артерии и вены на 45 минут (И) и 2 недели (Р)	38
Пережатие аорты ниже отхождения почечных артерий на 150 мин (И) и 180 мин (Р)	6
Пережатие левой почечной ножки на 40 мин (И) и 24 часа (Р)	42

Примечание: (И) – продолжительность ишемии и (Р) – продолжительность реперфузии

характеризовался незначительной степенью повреждения почечной ткани и его протяженностью [50].

Под влиянием ишемии и параллельно увеличивающейся концентрации нефротоксинов возникает острый тубулярный некроз (ОТН), который характеризуется сглаживанием эпителия канальцев, тубулярной дилатацией и образованием цилиндров. Необходимо учитывать, что в таких условиях помимо повреждения канальцев может происходить изменение гломерулярной гемодинамики, что в свою очередь усугубляет процессы репарации в мозговом слое почек. Несмотря на то, что в настоящее время до конца не изучены клеточные и молекулярные механизмы повреждения и последующей репарации канальцевого эпителия, имеющиеся данные позволяют предположить, что основной причиной развития ОПП при И/Р повреждения является некроз и апоптоз эпителия канальцев, причем основной локализацией патологического процесса является участок почечной ткани на границе между корой и мозговым веществом [13, 27].

Необходимо подчеркнуть важность подбора животных для эксперимента. Так было показано, что более зрелые крысы (возраст 60–65 недель) более чувствительны к ишемическому повреждению, чем молодые (возраст 6–7 недель) [35]. Обращается внимание и на пол подопытных животных, поскольку у грызунов особи женского пола более резистентны к ишемии, тогда как мужской пол отличается большей чувствительностью к дефициту кислорода, что объясняется влиянием тестостерона, в связи с этим рекомендуется в исследования включать особей мужского пола [49].

Для создания И/Р модели используются два способа хирургического доступа к почкам (через брюшную полость и через боковые разрезы со стороны спины) с последующим пережатием сосудистой ножки мягкими сосудистыми зажимами. Отработанная хирургическая техника и рассчитанные временные интервалы этапов операции позволяют минимизировать различия между продолжительностью и техническими особенностями последовательных экспериментов. По литературным данным, различий между этими двумя хирургическими протоколами доступа

к почечным ножкам в степени тяжести гистологических проявления ОПП, выраженности и продолжительности периода олигоанурии, а также смертности, получено не было [27, 54].

Контроль эффективности наступления ишемии в проводимом эксперименте оценивается на трех уровнях. Первый – субъективный, сразу после наложения сосудистых клипс в случае достаточного пережатия почечного кровотока происходит изменение цвета почки с красного на темно-пурпурный, затем после снятия клипс – цвет почки полностью меняется обратно к красному, что свидетельствует о достаточной (полноценной) реперфузии. При этом нет никакой необходимости использовать антикоагулянты с целью профилактики тромбоза. Вторым этапом контроля степени развития ишемии и ОПП является определение уровня снижения почечной функции, которое проявляется повышением концентрации сывороточного креатинина и мочевины. На заключительном этапе проводится гистологическая оценка почечной ткани. Для характеристики ишемических изменений в почечной ткани используются следующие параметры изменений тубулярного эпителия: разрушение щеточной каймы, набухание эпителия, конденсация ядер и кариорексис [43].

Важным этапом является послеоперационный период, требующий профессиональной работы персонала вивария по уходу за прооперированными животными для обеспечения им свободного и легкого доступа к пище и воде. Поддержание нормальной и стабильной температуры воздуха является необходимым фактором успешно проведенного эксперимента, что потенциально может определять степень тяжести ОПП. Так, было показано, что понижение температуры ведет к уменьшению степени почечного повреждения, а повышение, соответственно, к его увеличению [65].

В заключение необходимо отметить, что в настоящее время терапевтические подходы к восстановлению функции почек при ОПП, в большинстве случаев, малоэффективны и, более того, опасны дополнительным токсическим повреждением почечной ткани [55]. В последние годы большой интерес стали получать клеточные технологии, которые открыли

принципиально новые подходы в лечении почечной патологии, в том числе и ОПП. Результаты последних экспериментальных исследований продемонстрировали успешное восстановление функции почек при проведении трансплантации различных типов стволовых клеток [10, 29]. В связи с этим, понимание методологии и правильный выбор той или иной экспериментальной модели позволит получить объективные данные о безопасности и эффективности использования клеточной терапии на животных прежде, чем она будет применена у пациентов с острым почечным повреждением.

Никто из авторов не имеет конфликтов интересов

Authors declare no conflicts of interests

Литература

1. Куценко С.А. Основы токсикологии: Учебное пособие. СПб(б): Фоллиант, 2004. 720 с.
Kucenko S.A. Osnovy toksikologii: Uchebnoe posobie. SP(b): Foliyant, 2004. 720 s.
2. Arany I., Safirstein R.L. Cisplatin nephrotoxicity. *Semin Nephrol.* 2003. 23(5): 460-464.
3. Asif A., Garces G., Preston R.A., et al. Current trials of interventions to prevent radiocontrast-induced nephropathy. *Am J Ther.* 2005. 12(2): 127-132.
4. Augusti P.R., Conterato G.M., Somacal S., et al. Effect of astaxanthin on kidney function impairment and oxidative stress induced by mercuric chloride in rats. *Food Chem Toxicol.* 2008. 46(1): 212-219.
5. Bagshaw SM. Acute kidney injury care bundles. *Nephron.* 2015. 13 (4): 247-251.
6. Baker RC, Armstrong MA, Young B. et al. Methylprednisolone increases urinary nitrate concentrations and reduces subclinical renal injury during infrarenal aortic ischemia reperfusion. *Ann Surg.* 2006. 244(5): 821-826.
7. Bhalodia Y, Kanzarriya N, Patel R. et al. Renoprotective activity of benin case cerifera fruit extract on ischemia/reperfusion-induced renal damage in rat. *Iran J Kidney Dis.* 2009. 3(2): 80-85.
8. Blantz R.C. The mechanism of acute renal failure after uranyl nitrate. *J Clin Invest.* 1975. 55(3): 621-635.
9. Bulger R.E. Renal damage caused by heavy metals. *Toxicol Pathol.* 1986. 14(1): 58-65.
10. Chen N., Aleksa K., Woodland C., et al. N-Acetylcysteine prevents ifosfamide induced nephrotoxicity in rats. *Br J Pharmacol.* 2008. 153(7): 1364-1372.
11. Chen Y., Sun C., Lin Y., et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells protects kidneys against ischemia-reperfusion injury through suppressing oxidative stress and inflammatory reaction. *J Transplant Med.* 2011. 5(9): 51-70.
12. Chertow G.M, Levy E.M, Hammermeister K.E, et al. Independent association between acute renal failure and mortality following cardiac surgery. *Am J Med.* 1998. 104(5): 343-348.
13. Dai R, Dheen S.T, Tay S.S. Induction of cytokine expression in rat post-ischemic sinoatrial node (SAN). *Cell Tissue Res.* 2002. 310(1): 59-66.
14. Darnerud P.O., Brandt I., Feil V.J., et al. S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine (DCVC) in the mouse kidney: correlation between tissue-binding and toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1988. 95(3): 423-434.
15. Damianovich M, Ziv I, Heyman S.N. ApoSense: a novel technology for functional molecular imaging of cell death in models of acute renal tubular necrosis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2006. 33(3): 281-291.
16. De-Rosa C.T., Johnson B.L., Fay M., et al. Public health implications hazardous waste sites: findings, assessment and research. *Food Chem Toxicol.* 1996. 34(11): 1131-1138.
17. Domingo J.L. Chemical toxicity of uranium. *Toxic Ecolotoxic News.* 1995. 2(1): 74-78.
18. Efrati S., Berman S., Siman-Tov Y., et al. N-acetylcysteine attenuates NSAID induced rat renal failure by restoring intrarenal prostaglandin synthesis. *Nephrol Dial Transplant.* 2007. 22(7): 1873-1881.
19. Erdem A., Gundogan N.U., Usubutun A., et al. The protective effect of taurine against gentamicin-induced acute tubular necrosis in rats. *Nephrol Dial Transplant.* 2000. 15(8): 1175-1182.
20. Ewald K.A., Calabrese E.J. Lead reduces the nephrotoxicity of mercuric chloride. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2001. 48(2): 215-218.
21. Ferrari S., Pieretti F., Verri E., et al. Prospective evaluation of renal function in pediatric and adult patients treated with high-dose ifosfamide, cisplatin and high-dose methotrexate. *Anticancer Drugs.* 2005. 16(7): 733-738.
22. Foglieni C, Fulgenzi A, Ticozzi P. et al. Protective effect of EDTA preadministration on renal ischemia. *BMC Nephrol.* 2006. 15(7):5-16.
23. Ghosh J., Das J., Manna P., et al. Acetaminophen induced renal injury via oxidative stress and TNF- α production: therapeutic potential of arjunolic acid. *Toxicology.* 2010. 268(1): 8-18.
24. Hamazaki S., Okada S., Ebina Y., et al. Acute renal failure and glucosuria induced by ferric nitrilotriacetate in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1985. 77(2): 267-274.
25. Helmholtz H.F. Renal changes in the rabbit resulting from intravenous injection of hypertonic solution of sucrose. *J Pediat.* 1933. 3(1): 144-157.
26. Hengy B., Hayi-Slayman D., Page M., et al. Acute renal failure after acetaminophen poisoning: report of three cases. *Can J Anaesth.* 2009. 56(10): 770-774.
27. Heyman S.N., Lieberthal W., Rogiers P., et al. Animal models of acute tubular necrosis. *Curr Opin Crit Care.* 2002. 8(6): 526-534.
28. Honore PM, Jacobs R, Hendricks I, et al. Prevention and treatment of sepsis-induced acute kidney injury: an update. *Ann Intensive Care.* 2015 Dec. 5(1): 51-61.
29. Hu J., Zhang L., Wang N., et al. Mesenchymal stem cells attenuate ischemic acute kidney injury by inducing regulatory T cells through splenocyte interactions. *Kidney Int.* 2013. 84 (3): 521-531.
30. Humes H.D., Sastrasinh M., Weinberg J.M. Calcium is a competitive inhibitor of gentamicin-renal membrane binding interactions and dietary calcium supplementation protects against gentamicin nephrotoxicity. *J Clin Invest.* 1984. 73(1): 134-147.
31. Inoue M., Akimoto T., Saito O., et al. Successful relatively

- low-dose corticosteroid therapy for diclofenac induced acute interstitial nephritis with severe renal failure. *Clin Exp Nephrol*. 2008. 12(4): 296-299.
32. *Jacob R*. Acute renal failure. *Indian J Anaesth*. 2003. 47(5): 367-372.
33. *Jesmin S., Gando S., Zaedi S., et al*. Protease-activated receptor 2 blocking peptide counteracts endotoxin-induced inflammation and coagulation and ameliorates renal fibrin deposition in a rat model of acute renal failure. *Shock*. 2009. 32(6): 626-632.
34. *Khan M.R., Siddiqui S., Parveen K., et al*. Nephroprotective action of tocotrienol-rich fraction (TRF) from palm oil against potassium dichromate (K₂Cr₂O₇)-induced acute renal injury in rats. *Chem Biol Interact*. 2010. 186(2): 228-238.
35. *Kusaka J., Koga H., Hagimura S. et al*. Age-dependent responses to renal ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res*. 2012. 172 (1): 153-158.
36. *Lameire N., Van Biesen W., Vanholder R*. The changing epidemiology of acute renal failure. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2006. 2(8): 64-377.
37. *Lee H.T., Jan M., Bae S.C., et al*. A1 adenosine receptor knockout mice are protected against acute radiocontrast nephropathy in vivo. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006. 290 (6): 1367-1375.
38. *Lieberthal W., Levine J.S*. Mechanisms of apoptosis and its potential role in renal tubular epithelial cell injury. *Am J Physiol*. 1996. 271(3): 477-488.
39. *Lock E.A., Ishmael J*. The acute toxic effects of paraquat and diquat on the rat kidney. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1979. 50(1): 67-76.
40. *Massermann J.H*. Effects of the intravenous administration of hypertonic solution of sucrose with special reference to cerebrospinal fluid pressure. *Bull Johns Hopkins Hosp*. 1935. 57(20): 12-17.
41. *Mathew T.H*. Drug-induced renal disease. *Med J Aust*. 1992. 156(10): 724-728.
42. *Matthijsen R.A., Huigen D, Hoebers NT. et al*. Myeloperoxidase is critically involved in the induction of organ damage after renal ischemia reperfusion. *Am J Pathol*. 2007. 171(6): 1743-1752.
43. *McWhinnie D.L*. Morphometric analysis of cellular infiltration assessed by monoclonal antibody labeling in sequential human renal allograft biopsies. *Transplantation*. 1986. 42 (4): 352-358.
44. *Mitazaki S, Kato N, Suto M, et al*. Interleukin-6 deficiency accelerates cisplatin-induced acute renal failure but not systemic injury. *Toxicology*. 2009. 265(3): 115-121.
45. *Mullin E.M., Bonar R.A., Paulson D.F*. Acute tubular necrosis. An experimental model detailing the biochemical events accompanying renal injury and recovery. *Invest Urol*. 1976. 13(4): 289-294.
46. *Mwenge W., Butler T., Mgema S., et al*. Treatment of plague with gentamicin or doxycycline in a randomized clinical trial in Tanzania. *Clin Infect Dis*. 2006. 42(5): 614-621.
47. *Nakamura A., Niimi R., Yanagawa Y*. Protection from sepsis-induced acute renal failure by adenoviral-mediated gene transfer of β 2-adrenoreceptor. *Nephrol Dial Transplant*. 2010. 25(3): 730-737.
48. *Palani S., Kumar R.P., Kumar B.S*. Effect of the ethanolic extract of *Indigofera barberi* (L.) in acute acetaminophen induced nephrotoxic rats. *New Biotechnol*. 2009. 25(Suppl. 2): 14-24.
49. *Park K.M., Kim J.I., Ahn Y., et al*. Testosterone is responsible for enhanced susceptibility of males to ischemic renal injury. *J Biol Chem*. 2004. 279(50): 52282-52292.
50. *Rosen S., Neyman S.N*. Difficulties in understanding human "acute tubular necrosis": limited data and flawed animal models. *Kidney Int*. 2001. 60(4): 1220-1224.
51. *Ruetten H., Thiernemann C., Vane J.R*. Effects of the endothelin receptor antagonist, SB 209670, on circulatory failure and organ injury in endotoxic shock in the anaesthetized rat. *Br J Pharmacol*. 1996. 118(1): 198-204.
52. *Selby N.M., Shaw S., Woodier N., et al*. Gentamicin-associated acute kidney injury. *Q J Med*. 2009. 102(12): 873-880.
53. *Shanley P.F., Rosen M.D., Brezis M. et al*. Topography of focal proximal tubular necrosis after ischemia with reflow in the rat kidney. *Am J Pathol*. 1986. 122(3): 462-468.
54. *Singh A.P., Mutburaman A., Jaggi A.S., et al*. Animal model of acute renal failure. *Pharmacological Reports*. 2012. 64 (21): 31-44.
55. *Stevens P.E., Tamimi W.A., Al - Hosani M.K., et al*. Non - special management of acute renal failure. *QJM*. 2011. 94(10): 533-540.
56. *Thiel G., Wilson D.R., Arce M.L., et al*. Glycerol induced hemoglobinuric acute renal failure in the rat. *Nephron*. 1967. 4(5): 276-297.
57. *Troyer D.A., Kreisberg J.I., Venkatachalam M.A*. Lipid alterations in LLC-PK1 cells exposed to mercuric chloride. *Kidney Int*. 1986. 29(2): 530-538.
58. *Umamura T., Hasegawa R., Sai-Kato K., et al*. Prevention by 2-mercaptoethane sulfonate and N-acetylcysteine of renal oxidative damage in rats treated with ferric nitrilotriacetate. *Jpn J Cancer Res*. 1996. 8(9): 882-886.
59. *Vanholder R., Sever M.S., Ereke E., et al*. Rhabdomyolysis. *J Am Soc Nephrol*. 2000. 11(8): 1553-1561.
60. *Wan B., Hao L., Qiu Y., et al*. Blocking tumor necrosis factor- α inhibits folic acid-induced acute renal failure. *Exp Mol Pathol*. 2006. 81(3): 211-216.
61. *Wei Q., Dong Z*. Mouse model of ischemic acute kidney injury: technical notes and tricks. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2012. 303(11): 487-494.
62. *Wilcox J.C., McAllister E.J., Sangster G., et al*. Effects of magnesium supplementation in testicular cancer patients receiving cisplatin: a randomised trial. *Br J Cancer*. 1986. 54(1): 19-23.
63. *Yang Q., Liu D., Long Y., et al*. Acute renal failure during sepsis: Potential role of cell cycle regulation. *J Infect*. 2009. 58(6): 459-464.
64. *Yesilyurt A., Aydyn Erden I., Bilgic I., et al*. The protective effect of erdosteine on radiocontrast induced nephrotoxicity in rats. *Environ Toxicol*. 2011. 26(4): 395-402.
65. *Zager R.A., Altschuld R*. Body temperature: An important determinant of severity of ischemic renal injury. *Am J Physiol*. 1986. 251(1): 87-93.
66. *Zhang J., Lu H*. Ifosfamide induces acute renal failure via inhibition of the thioredoxin reductase activity. *Free Radic Biol Med*. 2007. 43(12): 1574-1583.

Дата получения статьи: 25.01.2016

Дата принятия к печати: 17.01.2017

submitted 25.01.2016

accepted 17.01.2017