

© Коллектив авторов, 2018
УДК 616.61-018:616.379-008.64:599.323.4

*И. Г. Данилова^{1,3}, В. А. Черешнев⁴, Н. Б. Блинкова³, С. Ю. Медведева^{1,3},
И. Ф. Гетте^{2,3}, А. В. Белоусова^{2,3}, М. Т. Абидов¹*

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ПЕРЕСТРОЙКА ПОЧКИ У КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ ПРИ СТИМУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МАКРОФАГОВ

¹ Кафедра медицинской биохимии и биофизики (зав. — д-р биол. наук И. Г. Данилова), ² кафедра иммунохимии (зав. — академик РАН проф. В. А. Черешнев), Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина; ³ лаборатория морфологии и биохимии (зав. — д-р биол. наук И. Г. Данилова), ⁴ лаборатория иммунофизиологии и иммунофармакологии (зав. — чл.-кор. РАН проф. Б. Г. Юшков), Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург

Цель — дать характеристику регенераторных процессов в почках у крыс с аллоксановым сахарным диабетом при стимуляции функциональной активности макрофагов.

Материал и методы. На 42 половозрелых крысах-самцах линии Вистар со средней массой 210 г с сахарным диабетом, вызванным введением аллоксана в дозе 300 мг/кг, модулировали активность макрофагов введением аминофталгидразида из расчета 2 мг/кг. На гистологических срезах изучали морфометрические показатели нефронов, экспрессию Ki-67+клеток и CD68+макрофагов. В крови определяли содержание глюкозы, гликированного гемоглобина, инсулина, мочевины и креатинина.

Результаты. Модуляция активности макрофагов у крыс с диабетической нефропатией способствует повышению пролиферативной активности клеток клубочка и тубулярного эпителия и снижению доли поврежденных клубочков.

Вывод. Модуляция функциональной активности макрофагов позволяет снизить уровень структурных нарушений в почках, вызванных сахарным диабетом у крыс.

Ключевые слова: почка, макрофаги, аллоксановый диабет, диабетическая нефропатия

Одним из хронических осложнений сахарного диабета (СД) является диабетическая нефропатия (ДН), основу формирования которой составляет микроангиопатия сосудов почек [4]. В сосудистом клубочке происходят структурные изменения в виде очагового утолщения базальных мембран капилляров, что приводит к нарушению проницаемости сосудистой стенки и развитию стромального отека, расширению мочевого пространства. [4, 11]. Развивающаяся тканевая гипоксия является причиной деструкции мезангиальных клеток и развития гломерулосклероза.

По современным представлениям, макрофаги интерстициальной почечной ткани являются клетками, с одной стороны, влияющими на развитие воспаления при повреждении почечной ткани, а с другой стороны, определяют интенсивность восстановительных процессов

при травме и заболеваниях почек. Поражение почек и их репарация представляют собой хрупкий баланс между гибелью клеток, их пролиферацией и макрофаг-зависимым образованием экстрацеллюлярного матрикса [5, 12].

Цель настоящего исследования — оценить изменения структурной организации почки у крыс с аллоксановым СД при модуляции функциональной активности макрофагов.

Материал и методы. Эксперимент выполнен на 42 крысах-самцах линии Вистар массой 210,0±5,6 г. Содержание животных и все манипуляции соответствовали Директиве Совета ЕС 2010/63/EU. Получено заключение этического комитета Института иммунологии и физиологии УрО РАН (протокол № 3 от 01.09.2016 г.; протокол № 5 от 14.08.2017 г.). В работе применялась разработанная нами ранее модификация экспериментальной модели СД 1-го типа с внутрибрюшинным введением раствора аллоксана в 0,85 % растворе хлорида натрия из расчета 300 мг/кг [7, 8].

Сведения об авторах:

Данилова Ирина Георгиевна (e-mail: ig-danilova@yandex.ru), Медведева Светлана Юрьевна (e-mail: medvedeva-ran@yandex.ru), Абидов Муса Тажудинович (e-mail: alina44@mail.ru), кафедра медицинской биохимии и биофизики, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира 19; лаборатория морфологии и биохимии, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, 620049, г. Екатеринбург ул. Первомайская, д.106

Блинкова Наталья Борисовна (e-mail: n.b.krohina@mail.ru), лаборатория морфологии и биохимии, Черешнев Валерий Александрович (e-mail: secretar@iip.uran.ru), лаборатория иммунофизиологии и иммунофармакологии, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, д. 106

Гетте Ирина Федоровна (e-mail: i.goette@yandex.ru), Белоусова Анна Викторовна (e-mail: a1b2v3@mail.ru), кафедра иммунохимии, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19; лаборатория морфологии и биохимии, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, д. 106

Стимуляцию активности макрофагов осуществляли после 30 сут развития СД посредством внутримышечных инъекций 3-аминофталгидразида (АФГ) в дистиллированной воде из расчета 2 мг/кг массы по схеме. В качестве стимулятора активности макрофагов был использован аминофталгидразид (АФГ) — вещество, способное ингибировать продукцию макрофагами провоспалительных цитокинов и активных форм кислорода и увеличивать выработку комплекса факторов роста [9, 10]. Были сформированы 6 групп животных по 7 крыс в каждой: 1-я — интактные крысы; 2-я — СД 30 сут; 3-я — СД 60 сут; 4-я — СД+АФГ; 5-я — здоровые животные, получавшие внутривентриально 0,85 % раствор хлорида натрия в объеме, равном объему аллоксана; 6-я — крысы с аллоксановым диабетом, получавшие внутримышечные инъекции дистиллированной воды соответственно объему и числу инъекций раствора АФГ. 5-я группа служила контролем для 2-й и 3-й групп, для 4-й группы контролем была 6-я группа. 5-я и 6-я группы были исследованы для выявления влияния внутривентриальных инъекций на здоровых крыс и внутримышечных инъекций на диабетических крыс. Животных выводили из эксперимента через 30 и 60 сут передозировкой диэтилового эфира.

В плазме крови у крыс при помощи глюкозооксидазной методики определяли уровень глюкозы, а также выявляли содержание мочевины, креатинина при помощи стандартных наборов реактивов фирмы «Витал Диагностика» (Санкт-Петербург). Уровень инсулина в плазме крови определяли иммуноферментным методом стандартным набором ELISA Rat assay (Insulin ELISA, Mercodia AB, Switzerland) на автоматическом анализаторе «Lazurite automated Elisa system». В цельной крови изучали содержание гликированного гемоглобина с применением аффинной гель-хроматографии и набора реактивов «Диабет-тест» фирмы ФОСФОСОРБ (Москва); использовали спектрофотометр DU 800 (Beckman Coulter Int. S. A., Switzerland).

Почки у экспериментальных животных фиксировали в 10 % нейтральном формалине 24 ч при комнатной температуре. Подготовку образцов для гистологического исследования осуществляли с использованием автоматического процессора Leica EG 1160 с последующей заливкой в парафин. Первый срез из серии толщиной 3–4 мкм окрашивали гематоксилином — эозином и проводили морфологическое и морфометрическое исследование. Также осуществляли окраску трихромным методом по Массону с анилиновым синим, проводили ШИК-реакцию для оценки состояния базальных мембран сосудистого клубочка и эпителия канальцев. Микроскопическое исследование производили на микроскопе Leica DM 2500, анализ изображений выполняли в программе ВидеоТест «Морфология» 5.0. Оценивали относительное

количество (%) поврежденных клубочков, среднюю площадь (мкм²) сосудистого клубочка и мочевого пространства клубочка (мкм²). Проводили подсчет мезангиальных клеток, локализованных в пространстве между капиллярными петлями сосудистого клубочка в расчете на единицу площади (кл/мм²). Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) маркера клеточной пролиферации Ki-67 (clone MM1, Leica, Англия) и маркера макрофагов CD68 (clone ED1, Millipore, США) в почках у животных проводили по стандартному протоколу с использованием Autostainer DAKO на срезах толщиной 3–4 мкм. Фиксация образцов для ИГХ проводилась с использованием 10 % нейтрального формалина (Ki-67) и фиксатора Буэна (CD68) [13]. Для реакции с CD68 проводили демаскировку антигенов трипсином, для реакции с Ki-67 — высокотемпературную обработку срезов в цитратном буфере, pH 6,0. Для устранения неспецифического связывания антител использовали блокирующий раствор BlockAid (Thermo Fisher, США). Первичные mouse-anti-rat антитела и вторичные поликлональные антитела biotin-goat-anti-mouse (BD, США) использовали в разведении 1:50. Визуализацию проводили с помощью непрямого иммунопероксидазной методики, использовали позитивный и негативный контроль антигенов для исключения неспецифического окрашивания. Определяли количество клеток, экспрессирующих CD68 и Ki-67 в клубочках и канальцах на единицу площади среза почки при увеличении 400 в 20 полях зрения каждого образца с последующим пересчетом на 1 мм². Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA). Оценку статистической значимости различий полученных данных в сравниваемых выборках осуществляли с использованием непараметрического критерия (U) Манна—Уитни. При проверке статистических гипотез учитывали уровень значимости 5 % (p<0,05). Данные представлены в виде среднего значения и его стандартной ошибки.

Результаты исследования. Между показателями крови у животных 1-й контрольной и интактной группы (глюкоза, HbA1c, инсулин, мочевина, креатинин) не было обнаружено значимых различий (таблица).

Во 2-й группе крыс (СД 30 сут) содержание глюкозы, гликированного гемоглобина, мочевины и креатинина возрастало, а содержание инсулина достоверно снижалось по сравнению с показателями 1-й интактной группы (см. таблицу). У животных 3-й группы (СД 60 сут), не получавших лечение, и 6-й группы эти пока-

Показатели крови у животных контрольных и подопытных групп

Группа	Глюкоза, ммоль/л	HbA1c, %	Инсулин, мкг/л	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л
1-я (интактная)	6,0±0,2	5,1±0,2	1,28±0,2	5,1±0,3	64,1±2,5
2-я	27,8±2,6*	9,6±0,3*	0,49±0,1*	9,6±1,2*	100,2±3,6*
3-я	30,2±2,5*	10,3±1,4*	0,55±0,1*	11,6±0,8*	114,7±2,4*, ²
4-я	15,8±3,0*, ^{2,3}	4,1±0,9 ^{2,3}	2,53±0,6 ^{2,3}	5,6±0,8 ^{2,3}	58,6±0,8 ^{2,3}
1-я контрольная (для 2-й и 3-й групп)	5,9±0,3	4,8±0,2	1,33±0,2	4,9±0,2	62,3±3,0
2-я контрольная (для 4-й группы)	28,2±2,3*, ⁴	9,7±0,7*, ⁴	0,53±0,2*, ⁴	10,8±1,0*, ⁴	105,8±3,9*, ⁴

* Различия с 1-й группой значимы при p<0,05; ^{2,3,4} различия со 2–4-й группами значимы при p<0,05.

затели оставались на уровне значений у крыс 2-й группы (см. таблицу). У крыс 4-й группы (СД+АФГ) значительно снизилось содержание глюкозы, нормализовались уровни гликированного гемоглобина, мочевины и креатинина по сравнению с соответствующими показателями 2-, 3-й и 6-й групп. Содержание инсулина в плазме крови у крыс 4-й группы превысило значение этого показателя у интактных крыс, но различие не было достоверным.

Гистологическое исследование почек у интактных животных и почек у животных 5-й группы показало отсутствие структурных изменений в органе. При морфологическом исследовании почек у крыс 2-й группы на 30-е сутки СД определялись полнокровные капилляры сосудистого клубочка и очаговое утолщение базальных мембран эндотелия (рис. 1, в). Это приводило к возникновению межпетлевых спаек и формированию поврежденных клубочков (см. рис. 1, б). Клубочки отличались по размерам, некоторые из них были увеличены за счет отека стромы клубочка, другие уменьшены за счет деструкции эндотелия (см. рис. 1, а).

На 60-е сутки развития диабета (3-я группа) структурные изменения в паренхиме органа были более выраженными по сравнению с изменениями у диабетических крыс на 30-е сутки (рис. 2, а). Обнаруживались дистрофические изменения эпителия извитых канальцев, гиалиноз артериол, очаговый склероз интерстиция почки и гломерулосклероз (см. рис. 2, б). В участках расширения мезангиума клубочков определялись ШИК-позитивные массы, мочевое пространство капсулы клубочка увеличивалось (см. рис. 2, в). При введении дистиллированной воды экспериментальным животным с СД 30 сут (6-я группа) структурные изменения в органе соответствовали изменениям в группе СД 60 сут (рис. 3).

При морфологическом исследовании почек крыс 4-й группы (СД и введение АФГ) определялись мономорфные клубочки, в которых капиллярные петли были с равномерным кровенаполнением (рис. 4, а). Склеротических изменений интерстиция почки не обнаруживалось (см. рис. 4, б). Базальные мембраны капилляров не изменялись, а дистрофические изменения эпителия канальцев были минимальные (см. рис. 4, в).

При морфометрическом исследовании на 30-е сутки СД у крыс 2-й группы отмечали уменьшение площади сосудистых клубочков, что приводило к увеличению мочевого пространства в капсуле Шумлянско-Боумана (рис. 5, а, б).

Также во 2-й группе установлено существенное снижение пролиферативной активности мезангиальных клеток и клеток нефроэпителия по анализу экспрессии позитивных по Ki-67 клеток (см. рис. 2 в, г). На 60-е сутки СД у крыс 3-й группы морфометрические показатели в целом соответствовали показателям у крыс с длительностью СД 30 сут. Исключение составляло уменьшение количества позитивных по Ki-67 клеток, что свидетельствовало о снижении пролиферативной активности (рис. 6, б).

Введение АФГ крысам 4-й группы (СД+АФГ) существенно повышало пролиферативную активность мезангиальных клеток сосудистого клубочка и эпителия канальцев (рис. 5, г). Иммуногистохимический анализ CD68-позитивных клеток показал их снижение в клубочках и перитубулярном интерстиции диабетических крыс на 30-е и 60-е сутки эксперимента (2-я и 3-я группы) и отсутствие нормализации этих показателей после введения АФГ в 4-й группе (см. рис. 5, д, е; рис. 7).

Обсуждение полученных данных. Диабетическая ангиопатия является распространенным осложнением сахарного диабета, поэтому в почках наиболее уязвим сосудистый клубочек [4, 11]. В результате проведенного исследования установлено, что на 30-е сутки СД у крыс нарушается структура клубочков, канальцев и интерстиция почки. Наряду с гломерулярным повреждением, нами обнаружены структурные нарушения канальцевого эпителия и формирование интерстициального фиброза. К 60-м суткам СД показано существенное снижение экспрессии позитивных по Ki-67 клеток, что указывает на прогрессирование диабетической нефропатии. Данный факт подтверждается также увеличением содержания мочевины и креатинина в крови в динамике развития сахарного диабета.

В настоящее время установлено, что макрофаги могут влиять на интенсивность регенераторных процессов почки при ее повреждении, вырабатывая факторы, оказывающие влияние на пролиферацию канальцевых эпителиоцитов [5, 12].

Так, удаление макрофагов в эксперименте усиливает воспаление и замедляет течение регенераторных процессов [12]. Нарушение регуляторной функции макрофагов усугубляется при СД 1-го типа вследствие окислительного стресса и обменных нарушений [6, 14], поэтому изменение активности макрофагов может быть многообещающей новой терапией для ингибирования прогрессирования диабетической нефропатии. В нашем исследовании в качестве вещества, влияющего на функциональную активность макрофа-

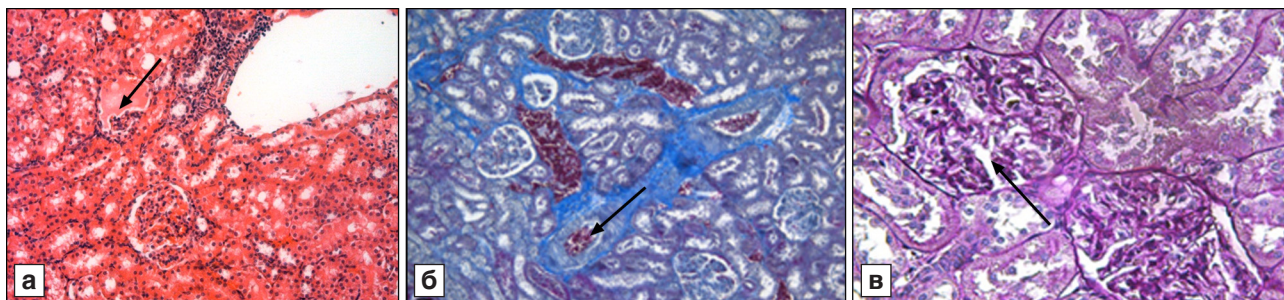


Рис. 1. Почки крыс при сахарном диабете (СД) с СД 30 сут.

Стрелками обозначены: а — сосудистый клубочек с уменьшенным диаметром; б — формирование поврежденных «лапчатых» клубочков, гиалиноз артериол; в — неравномерное утолщение базальных мембран капиллярных петель. Ув.: а, б — 200, в — 400.

Здесь и на рис. 2–4: окраска: а — гематоксилином—эозином; б — по Массону; в — ШИК-реакция.

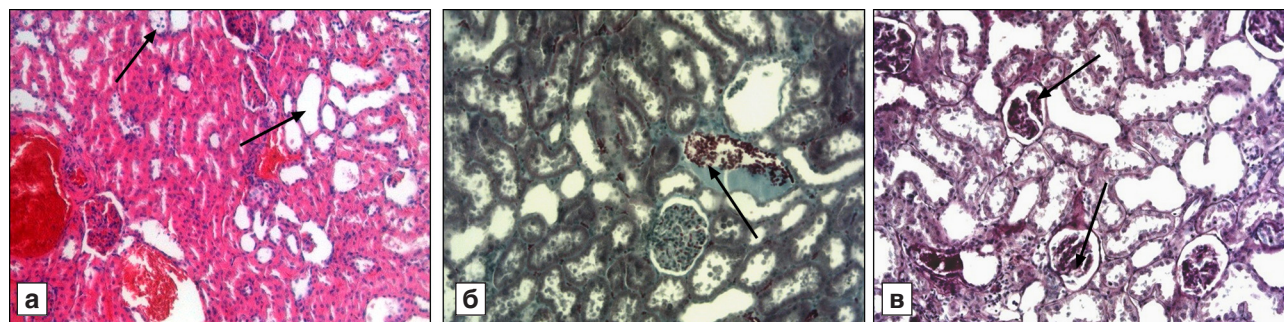


Рис. 2. Почки крыс с СД 60 сут.

Стрелками обозначено: а — уплощение эпителия извитых канальцев и расширение их просвета; б — гиалиноз артериол; в — увеличение мочевого пространства капсулы. Ув. 200

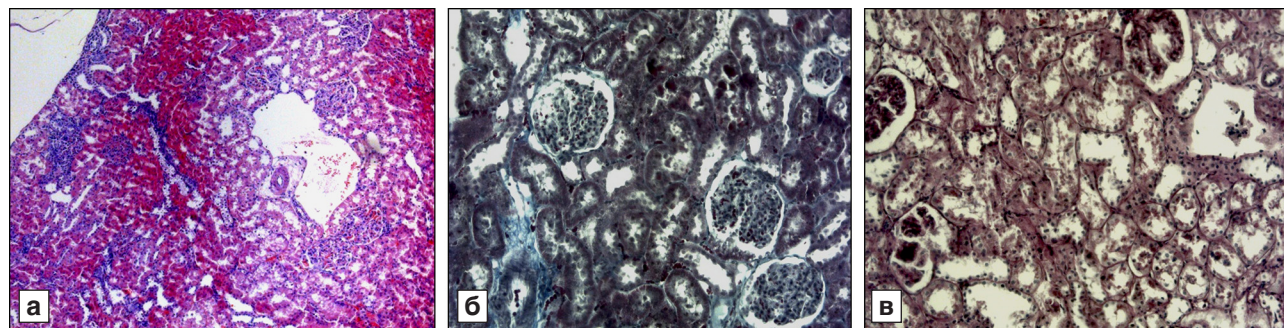


Рис. 3. Почки в контрольной группе крыс с СД 30 сут и введением дистиллированной воды.

Ув. 200

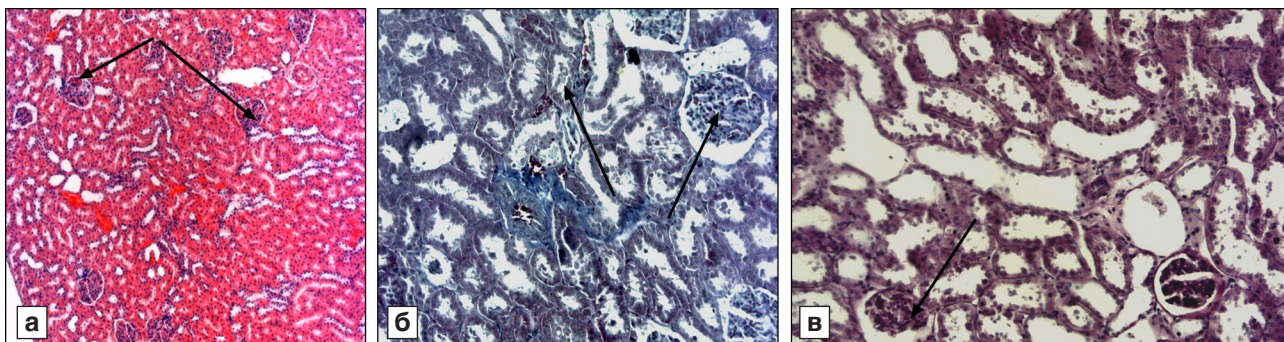


Рис. 4. Почки у крыс с СД и введением 3-аминофталгидразиды (АФГ).

Стрелками обозначено: а — мономорфные клубочки коркового слоя почки; б — минимальные склеротические изменения в интерстиции почки; в — очаговые повреждения базальных мембран нефроэпителия и эндотелия клубочков. Ув.: а — 100, б, в — 200

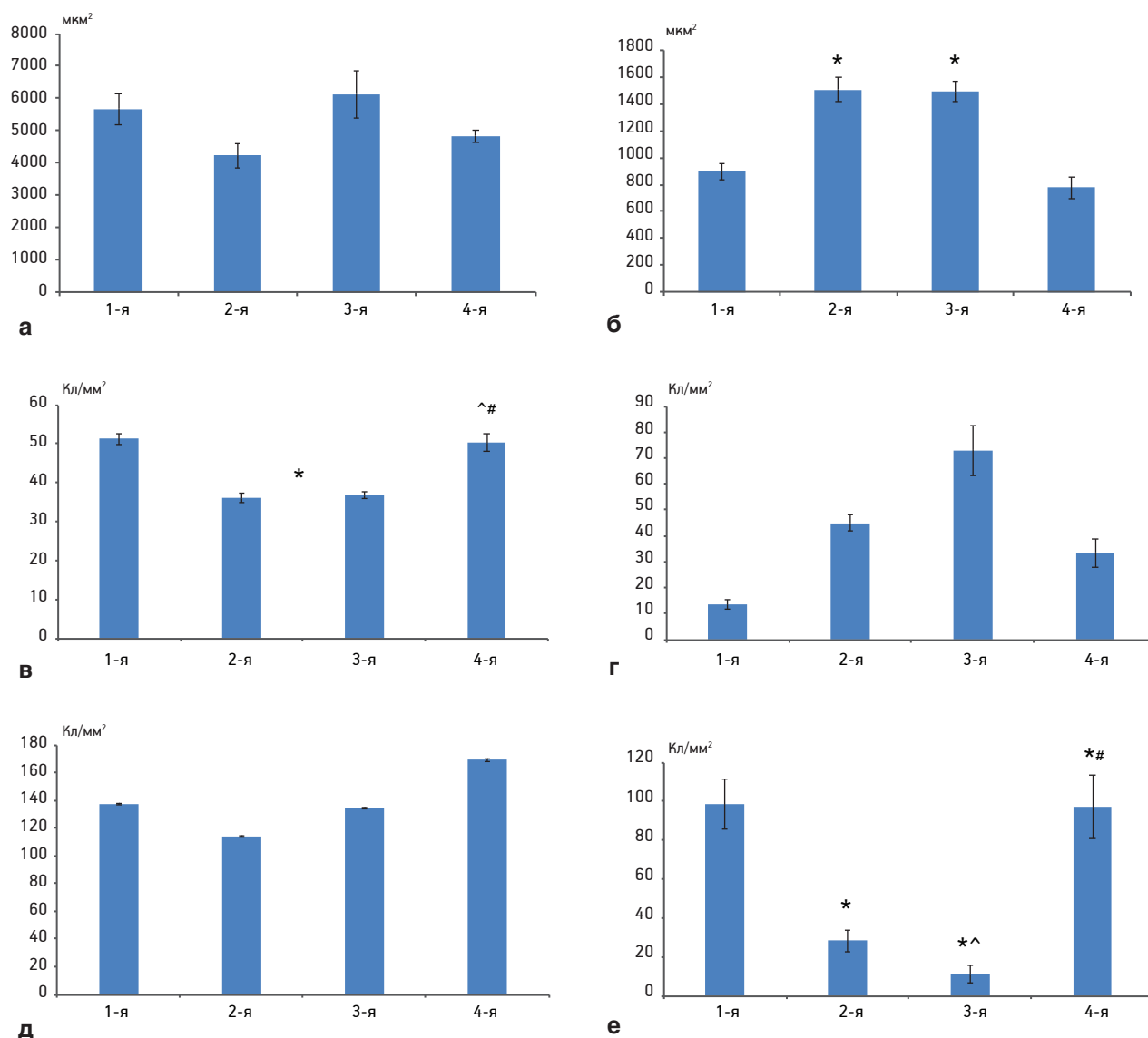


Рис. 5. Показатели морфометрии в почках крыс четырех групп: 1-я — интактная, 2-я — СД 30 сут, 3-я — СД 60 сут, 4-я — СД+АФГ.

а — площадь сосудистого клубочка; б — площадь мочевого пространства; в — количество мезангиальных клеток на ед. площади; г — количество позитивных по Ki-67 клеток в сосудистом клубочке и эпителии канальца; д — количество макрофагов в клубочках; е — количество макрофагов в перитубулярном интерстиции. Вертикальные отрезки — стандартная ошибка среднего; * различия с контрольной группой, [^] со 2-й группой и # с 3-й группой значимы при $p < 0,05$

гов, использован АФГ. АФГ ингибирует продукцию макрофагами провоспалительных цитокинов, таких как $IFN-\alpha$, $TNF-\alpha$, $IL-1$, $IL-6$, нитросоединений, и способствует увеличению выработки комплекса факторов роста, снижает окислительный стресс в мононуклеарных фагоцитах, стимулированных LPS in vitro [9, 10]. В ранее проведенных исследованиях была показана эффективность стимуляции регенераторных процессов в поджелудочной железе и миокарде при стимуляции активности макрофагов АФГ [7, 8].

В нашем эксперименте введение крысам АФГ, начиная с 30 сут СД, способствовало значительному снижению доли поврежденных клубоч-

ков — объективного прогностического критерия диабетической нефропатии [4, 11]. Структурный анализ почек у животных этой группы показал частичное восстановление базальных мембран капилляров, уменьшение площади мочевого пространства капсулы клубочка за счет увеличения числа мезангиальных клеток. ИГХ-анализ экспрессии Ki-67 выявил повышение пролиферативной активности мезангиальных клеток в сосудистых клубочках и клеток канальцевого эпителия. Мы полагаем, что установленное нами частичное восстановление структур сосудистого клубочка и эпителия канальцев связано с активацией функциональной активности макрофагов

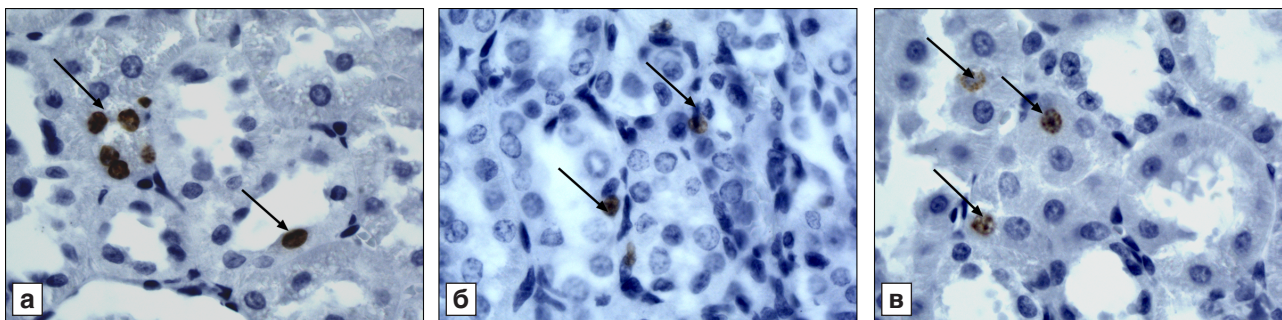


Рис. 6. Стрелками обозначены Ki-67+-клетки в эпителии канальцев, окрашивание на антитела к Ki-67.

а — интактная группа; б — СД 60 сут; в — СД+АФГ. Ув. 1000

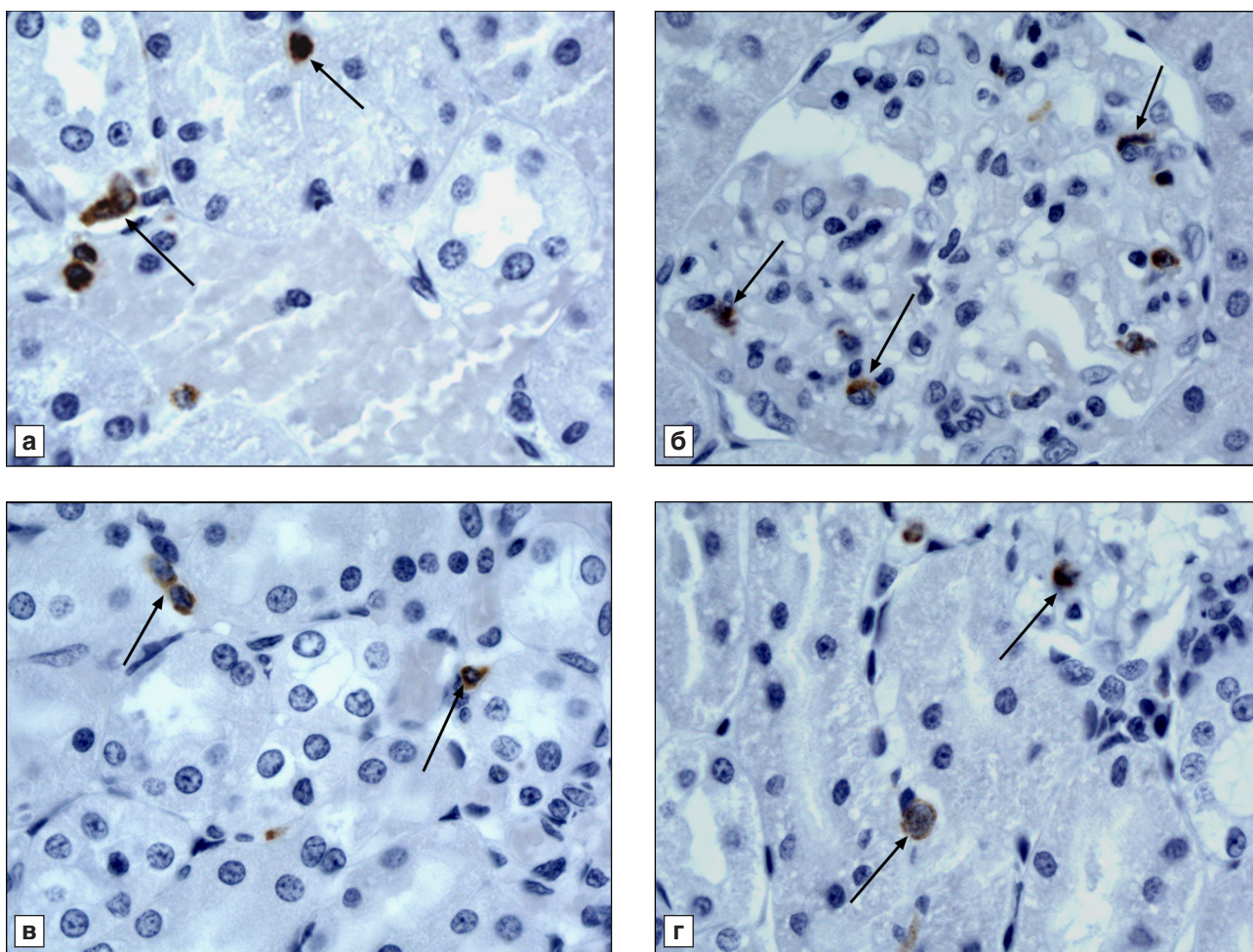


Рис. 7. Стрелками обозначены CD68+-клетки, локализованные в клубочке и паратубулярном интерстиции в интактной группе крыс и в паратубулярном интерстиции у экспериментальных групп крыс, окрашивание на антитела к CD68.

а, б — интактные; в — СД 60 сут; г — СД+АФГ. Ув. 1000

АФГ. Известно, что экспрессия CD68+ характерна для всех типов макрофагов независимо от их дифференцировки на функциональные фенотипы [2]. Нами выявлено снижение количества CD68+-клеток в почках у диабетических крыс. Стимуляция активности макрофагов без увеличения их количества приводила к повышению исследуемых морфометрических показателей процессов регенерации.

Таким образом, у крыс с аллоксан-индуцированным СД введение стимулятора функциональной активности макрофагов АФГ способствовало активации регенераторных процессов гломерулярного и канальцевого аппарата почки и снижало выраженность морфологических диабетических изменений.

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

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования: И. Г. Д., М. Т. А.

Сбор и обработка материала: И. Ф. Г., Н. Б. Б., С. Ю. М.

Статистическая обработка данных: Н. Б. Б.

Анализ и интерпретация данных: В. А. Ч.

Написание и редактирование текста: И. Г. Д., И. Ф. Г.,

А. В. Б., С. Ю. М., Н. Б. Б.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Бондарь И. А., Климонтов В. В. Иммуновоспалительные механизмы в формировании диабетической нефропатии // Проблемы эндокринологии. 2007. Т. 53. № 2. С. 34–40 [Bondar' I. A., Klimontov V. V. Immunoinflammatory mechanisms in the formation of diabetic nephropathy // Problemy jendokrinologii. 2007. Vol. 53. № 2. P. 34–40. In Russ.].
- Ковальчук Л. В. Антигенные маркеры клеток иммунной системы человека. CD (Cluster Differentiation) система. М.: РГМУ МЗ и СР РФ, 2005. 82 с. [Koval'chuk L. V. Antigenic markers of human immune system cells. CD (Cluster Differentiation) system. M.: RGMU MZ and SR RF, 2005. 82 p. In Russ.].
- Коржевский Д. Э., Гиляров А. В. Основы гистологической техники. СПб.: СпецЛит., 2010. 95 с. [Korjevskij D. E., Giljarov A. V. Fundamentals of histological technique. SPb.: SpecLit, 2010. 95 p. In Russ.].
- Шестакова М. В., Дедов И. И. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек. М.: Медицинское информационное агентство, 2009. 482 с. [Shestakova M. V., Dedov I. I. Diabetes mellitus and chronic kidney disease. M.: Medicinskoe informacionnoe agentstvo, 2009. 482 p. In Russ.].
- Cao Q., Harris D. C., Wang Y. Macrophages in kidney injury, inflammation and fibrosis // Physiology. 2015. Vol. 30. № 3. P. 94–183. Doi: 10.1152/physiol.00046.2014.
- 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. Vol. 19. № 12. P. 2987–2996. doi: 10.1093/ndt/gfh441.
- Danilova I. G., Bulavintseva T. S., Gette I. F., Medvedeva S. Y., Emelyanov V. V., Abidov M. T. Partial recovery from alloxan-induced diabetes by sodium phthalhydrazide in rats // Biomed. Pharmacother. 2017. № 95. P. 103–110. Doi: 10.1016/j.biopha.
- Danilova I. G., Sarapultsev P. A., Medvedeva S. U., Gette I. F., Bulavintseva T. S., Sarapultsev A. P. Morphological restructuring of myocardium during the early phase of experimental diabetes mellitus // Anat. Rec. (Hoboken). 2015. Vol. 258. № 2. P. 396–407. doi: 10.1002/ar.23052.
- Jukić T., Abidov M., Ihan A. A. Tetrahydrophthalazine derivative sodium nucleinate exerts a potent suppressive effect upon LPS-stimulated mononuclear cells in vitro and in vivo // Collegium antropologicum. 2011. V. 35. № 4. P. 1219–1223.
- Jukic T., Ihan A., Jukic D. Tetrahydrophthalazine derivative sodium nucleinate exerts its anti-inflammatory effects through inhibition of oxidative burst in human monocytes // Coll. Antropol. 2012. № 36. P. 409–412.
- Kanwar Y. S., Sun L., Xie P., Liu F. Y., Chen S. A glimpse of various pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy // Annu. Rev. Pathol. 2011. № 6. P. 395–423. Doi: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092150.
- Lee S., Huen S., Nishio H., Nishio S., Lee H. K., Choi B. S., Ruhrberg C., Cantley L. G. Distinct macrophage phenotypes contribute to kidney injury and repair // J. Am. Soc. Nephrol. 2011. Vol. 22. № 2. P. 317–326. Doi: 10.1681/ASN.2009060615.
- Muskhelishvili L., Latendresse J. R., Kodell R. L., Henderson E. B. Evaluation of cell proliferation in rat tissues with BrdU, PCNA, Ki-67(MIB-5) immunohistochemistry and in situ hybridization for histone mRNA // J. Histochem. Cytochem. 2003. Vol. 51. № 2. P. 1681–1688. doi: 10.1177/002215540305101212.
- Tesch G. H. Macrophages and diabetic nephropathy // Semin. Nephrol. 2010. Vol. 30. № 3. P. 290–301. doi: 10.1016/j.semnephrol.2010.03.007.

Поступила в редакцию 09.06.2017

Получена после доработки 12.03.2018

MORPHOLOGICAL RESTRUCTURING OF KIDNEYS IN RATS WITH ALLOXAN DIABETES SUBJECTED TO STIMULATION OF MACROPHAGE FUNCTIONAL ACTIVITY

I. G. Danilova^{1,3}, V. A. Chereshnev⁴, N. B. Blinkova³, S. Yu. Medvedeva^{1,3}, I. F. Gette^{2,3}, A. V. Belousova^{2,3}, M. T. Abidov¹

Objective. To assess the structure of the kidney in rats with alloxan diabetes mellitus (DM) following modulation of the macrophage functional activity.

Material and methods. In 42 Wistar rats with alloxan DM (a dose of alloxan 300 mg/kg) with average weight 210 g, macrophage activity was modulated by administration of aminophthalhydrazide (2 mg/kg). In histological sections, the morphometric parameters of nephrons were studied, and the expression of Ki-67 in cells and of CD68 in macrophages was examined with immunohistochemical staining. The blood levels of glucose, glycated hemoglobin, insulin, urea, and creatinine were determined.

Results. Modulation of macrophage activity in rats with diabetic nephropathy promoted an increase in the proliferative activity of the glomerular cell and tubular epithelial cells, a decrease in the percentage of damaged glomeruli.

Conclusions. Modulation of the functional activity of macrophages can reduce the level of structural damage in the kidneys caused by diabetes in rats.

Key words: kidney, macrophages, alloxan diabetes, diabetic nephropathy

¹ Department of Medical Biochemistry and Biophysics,

² Department of Immunochemistry, First President of Russia B. N. Yeltsin Ural Federal University, 19 Mira Str., Yekaterinburg 620002; ³ Laboratory of Morphology and Biochemistry,

⁴ Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology, RAS Ural Branch, Institute of Immunology and Physiology, 106 Pervomaiskaya Str., Yekaterinburg 620049