

УДК: 616.62-003.7: 577.175.62:616-092.9

РОЛЬ АНДРОГЕННОГО ДЕФИЦИТА В РАЗВИТИИ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ НА ЭТИЛЕНГЛИКОЛЕВОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КРЫСИНОЙ МОДЕЛИ

© Н.С. Тагиров¹, А.П. Трашков², Л.Д. Балашов², Н.А. Балашов²¹Санкт-Петербургская городская больница Святой преподобномученицы Елизаветы;²ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

Резюме. Несмотря на широкую распространенность мочекаменной болезни, до сих пор нет цельной концепции, учитывающей все причинные факторы и условия возникновения этого заболевания и механизмы его развития. Базируясь на клинических наблюдениях, можно предполагать, что андрогеновый дефицит может ускорять развитие камнеобразования в почках, однако убедительных доказательств роли андрогенового дефицита в патогенезе мочекаменной болезни нет. Доказать роль андрогенового дефицита в камнеобразовании в почках можно при помощи простой экспериментальной модели. В настоящем исследовании с использованием «этilenгликолевой» модели мочекаменной болезни на 60 крысах-самцах оценивали роль андрогенового дефицита в развитии уролитиаза. Моделирование мочекаменной болезни производили путем добавления в питьевую воду на протяжении всего эксперимента 1%-го раствора этиленгликоля. Андрогеновый дефицит воспроизводили кастрацией животных. Использование этиленгликолевой модели приводило через 3–4 недели к развитию значительных нарушений со стороны органов мочевыделительной системы, в том числе образованию микроконкрементов в почках. Оказалось, что выраженность развившихся под влиянием этиленгликоля изменений органов мочевыделения и метаболических сдвигов была максимальной на фоне андрогенового дефицита. Несмотря на схожесть морфологических признаков мочекаменной болезни в обеих экспериментальных группах, было показано, что в целом андрогеновый дефицит ускорял и утяжелял развитие заболевания. В частности, микроконкременты у сосочка почки кастрированных крыс образовывались немного раньше и были многочисленнее и крупнее, чем у животных, находившихся на этиленгликолевом вспаивании, но без кастрации.

Ключевые слова: мочекаменная болезнь; тестостерон; экспериментальная модель уролитиаза; андрогеновый дефицит; крысы.

THE ROLE OF ANDROGENOUS DEFICIENCY IN THE DEVELOPMENT OF UROLITIASIS IN EXPERIMENTAL ETHYLENGLYCOL RAT MODEL

© N.S. Tagirov¹, A.P. Trashkov², L.D. Balashov², N.A. Balashov²¹Saint Petersburg City Hospital of St. Elisabeth, Russia;²Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Russia

Abstract. In spite of high incidence of urolithiasis there is still no integral concept explaining all its causing factors and conditions as well as mechanisms of its development. Judging by the clinical observations one may suppose the androgenous deficiency might boost the formation of stones in the kidneys however there are no decisive proofs of androgenous deficiency role in concrement formation in kidney. These proofs may be yielded by means of a crude experimental model. 60 albino male rats were studied in "ethyleneglycol" rat model reproducing urolithiasis for the assessment of androgenous deficiency effect on the development of this disease. "Ethyleneglycol" model of urolithiasis consisted of adding 1% ethylene glycol solution to drinking water for 4 weeks. Androgenous deficiency was reproduced by castration. The experimental model has successfully produced urolithiasis with considerable disturbances in the structure and function of kidneys including microconcrement formation. Androgenous deficiency (castration) was shown to considerably boost the development of urolithiasis caused by ethylene glycol. In spite of similar morphological signs of urolithiasis in both experimental groups the androgenous deficiency caused by castration has been demonstrated to speed up and worsen the development of the disease. The microconcrements by the papilla of kidney in castrated rats with androgenous deficiency formed earlier and were multitudinous and larger in size than in experimental animals receiving 1% ethylene glycol solution to drinking water for 4 weeks but without castration.

Key words: urolithiasis; testosterone; rat urolithiasis experimental model; androgenous deficiency.

Исследования, посвященные детальному выяснению этиологии и патогенеза мочекаменной болезни, чрезвычайно актуальны в связи с неуклонным ростом частоты этого заболевания, составляющей еже-

годно 0,5–5,3% [5, 6]. У 72% больных эта патология развивается в возрасте 30–60 лет, преимущественно у мужчин [1]. До сих пор нет цельной концепции, учитывающей все причинные факторы и условия

возникновения уролитиаза и механизмы его развития. Высок в настоящее время интерес к исследованию возможных эндогенных причин уролитиаза, в частности метаболического синдрома. Рядом отечественных и зарубежных ученых предложено отнести метаболический синдром не только к факторам риска мочекислой формы заболевания, но даже считать мочекаменную болезнь новым его компонентом [5]. Имеется также много данных о роли стероидных гормонов в патогенезе мочекаменной болезни. Есть основания предполагать, что андрогенный дефицит может ускорять ее развитие [3]. Тем не менее убедительных доказательств роли андрогенного дефицита в патогенезе мочекаменной болезни в настоящее время нет. Данные ряда клинических исследований позволяют предполагать, что на фоне дефицита мужских половых гормонов уролитиаз прогрессирует гораздо быстрей и активней, однако гораздо более убедительные доказательства можно получить, используя экспериментальную модель мочекаменной болезни.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние андрогенного дефицита (кастриции) на течение мочекаменной болезни у крыс на экспериментальной модели мочекаменной болезни.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 60 самцов белых крыс Wistar, массой тела на момент включения в эксперимент 220–240 г. Животные получены из ФГУП ПЛЖ «Рапполово» РАМН (Ленинградская область). Подопытные крысы после поступления из питомника проходили 14-дневный период карантина в карантинном блоке вивария с целью исключения из эксперимента животных с соматической и/или инфекционной патологией. Исследование выполнено в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708 н), ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Приказ Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 2 декабря 2009 г. № 544-ст) и локальными актами СПбГПМУ, регламентирующими проведение научно-исследовательских работ с использованием лабораторных животных. Этические принципы обращения с животными соблюдались в соответствии с «European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS No. 123».

В исследовании использовали наиболее широкоупотребимую этиленгликоловую модель мочекаменной болезни (добавление в питьевую воду на протя-

жении 37 суток 1%-го раствора этиленгликоля [2]), индуцирующего развитие экспериментального оксалатного нефролитиаза. Этиленгликоль в организме медленно окисляется с образованием щавелевой кислоты, которая затем выводится почками. Данная модель является общепринятой и наиболее адекватно воспроизводит нефролитиаз человека. Андрогенный дефицит воспроизводили удалением половых желез (кастриацией) в условиях общего обезболивания (инъекционный золетиловый наркоз) за 5 суток перед включением животных в исследование и началом вспаивания этиленгликолем.

Рандомизацию животных осуществляли методом случайных чисел. Было сформировано 3 экспериментальные группы:

1. «Контроль» (n=12) — здоровые интактные крысы, у которых производили оценку изучаемых показателей для расчета фоновых референсных значений («нормальные показатели»).
2. «Этиленгликоловый нефролитиаз» (n=24) — крысы, у которых моделировали развитие мочекаменной болезни путем отравления этиленгликолем.
3. «Этиленгликоловый нефролитиаз + андрогенный дефицит» (n=24) — кастрированные крысы, у которых моделировали развитие мочекаменной болезни путем отравления этиленгликолем.

Оценку тяжести патологического процесса производили на 28-е и 37-е сутки эксперимента. Перед выведением из эксперимента всех животных взвешивали, в указанных контрольных точках помещали в метаболические клетки, осуществляли сбор мочи за 12 часов, после чего производили взятие крови и тканей почек. Взятие крови производили путем транскутанной пункции сердца крысы в вакуумные системы Monovette (Германия) в объеме 6 мл. После процедуры взятия крови животные подвергались эвтаназии и аутопсии. Все манипуляции с животными производили в условиях общего обезболивания.

Обработку крови осуществляли сразу после ее взятия [4]. Для получения обогащенной тромбоцитами плазмы производили центрифугирование крови с ускорением 240 g в течение 7 минут и последующим перенесением плазмы в другую пластиковую пробирку. Обедненную тромбоцитами плазму получали из обогащенной путем центрифугирования с ускорением 1200 g в течение 15 минут и последующим перенесением плазмы в другую пластиковую пробирку.

Исследование мочи и крови осуществляли *ext tempore*. Оценивали суточный диурез, относительную плотность мочи, эритроциты в моче, концентрацию белка, глюкозы в крови и моче, содержание креатинина в крови.

Таблица 1

Влияние андрогенного дефицита (кастрации) на динамику биохимических показателей крови, характеризующих функциональное состояние почек крыс-самцов с мочекаменной болезнью (этиленгликоловая модель)

Исследуемые параметры	Сутки	n	Обследуемые группы		
			Контроль	Этилен-гликоловый нефролитиаз	Этиленгликоловый нефролитиаз+андрогенный дефицит
Общий белок, г/л, кровь	28	12	65,9±2,15	37,1±3,85 ¹	40,0±2,86 ¹
	37	12		42,8±2,24 ¹	39,5±3,03 ¹
Общий белок, г/л, моча	28	12	1,9±0,11	16,9±2,38 ¹	17,5±4,10 ¹
	37	12		17,0±4,15 ¹	18,0±4,07 ¹
Глюкоза, ммоль/л, кровь	28	12	6,8±0,33	11,5±1,10 ¹	16,9±2,03 ^{1,2}
	37	12		17,0±2,14 ¹	22,4±1,80 ^{1,2}
Глюкоза, ммоль/л, моча	28	12	1,2±0,07	6,0±0,18 ¹	7,9±1,10 ^{1,2}
	37	12		7,3±1,01 ¹	7,8±1,31 ¹
Креатинин, мкмоль/л, кровь	28	12	64,0±5,10	104,6±21,34 ¹	131,0±16,02 ¹
	37	12		140,2±15,80 ¹	166,1±16,20 ¹
Мочевина, ммоль/л, кровь	28	12	6,2±0,95	9,3±1,07 ¹	12,0±2,30 ¹
	37	12		11,1±1,24 ¹	15,2±103 ^{1,2}
Диурез, мл/100 г	28	12	2,9±0,4	2,0±0,2 ¹	2,2±0,3
	37	12		1,5±0,2 ¹	1,9±0,4 ¹
Плотность мочи, ед	28	12	1,027±0,010	0,933±0,082	0,944±0,090
	37	12		0,997±0,030	0,989±0,060
Эритроциты в моче, ед/н. з.	28	12	0–1	4–9 ¹	5–7 ¹
	37	12		11–19 ¹	13–17 ¹

п — объем выборки, ¹ — отличия от контрольных значений достоверны ($p<0,05$), ² — отличия от значений группы «этангенгликоловый нефролитиаз» достоверны ($p<0,05$)

Фиксацию фрагментов почек крыс и их гистологическую обработку производили общепринятыми методами после взятия материала на 37-е сутки исследования. Окраску обзорных препаратов производили гематоксилином и эозином. Морфологическое исследование производили светооптическим методом. Выявление кальциево-оксалатных микроконкрементов осуществляли методом Косса.

Статистическая обработка производилась при помощи пакета программ SPSSforWindows. Данные приведены в виде $M\pm SE$ (средняя арифметическая \pm ошибка средней арифметической). Проверка характера распределения данных производилась путем расчета критерия Колмогорова-Смирнова. Сравнение средних данных независимых выборок осуществляли при помощи t-критерия Стьюдента (при нормальном характере распределения вариант в выборочной совокупности) и U-критерия Манна-Уитни (при распределении варианта в выборочной совокупности, отличном от нормального). Сравнение средних данных зависимых выборок осуществляли при помощи критерия Вилкоксона. Достоверным уровнем отличий принимали вероятность не менее 95% ($p<0,05$), что является стандартом в медико-биологических исследованиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Моделирование мочекаменной болезни путем добавления этиленгликоля в питьевую воду приводило к развитию значительных нарушений со стороны органов мочевыделительной системы (табл. 1).

Поражение почек у крыс, усиленное андрогенным дефицитом, сопровождалось существенными изменениями массы тела животных. В группе крыс с этиленгликоловой нефропатией средняя масса тела на 28-е сутки исследования существенно снизилась до $189,5\pm12,5$ г, что было статистически значимо на 49 г ниже, чем в контрольной группе ($238,5\pm9,5$ г, $p<0,001$). К 37-м суткам эксперимента уменьшение массы тела подопытных животных было менее выраженным и составило в среднем 4,5 г ($185,0\pm9,5$ г). Андрогенный дефицит не оказал значительного влияния на динамику массы тела подопытных животных. Во всех контрольных точках исследования масса животных обследуемой группы статистически значимо не отличалась от аналогичного показателя у некастрированных крыс ($p>0,05$).

Снижение общей массы тела подопытных крыс при интоксикации этиленгликолем сопровождалось незначительным увеличением относительной массы почек, которая составляла $9,8\pm1,9$ мг/100 г массы тела (28-е сутки) и $9,9\pm2,3$ мг/100 г массы тела (37-е сутки), что превышало аналогичный показа-

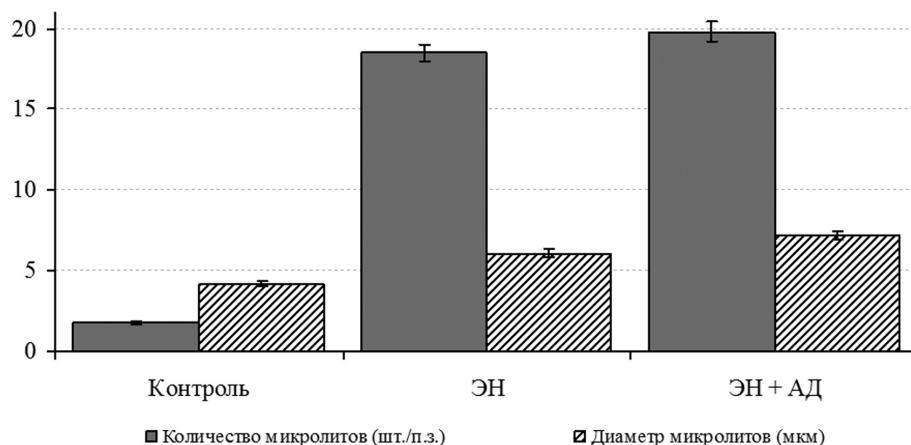


Рис. 1. Влияние андрогенного дефицита (АД) на количество и средний размер почечных микроконкрементов у крыс с мочекаменной болезнью (ЭН – этиленгликолевый нефролитиаз)

тель в контрольной группе ($8,2 \pm 1,1$ мг/100 г массы тела животного). Значительной динамики исследуемого показателя на фоне андрогенного дефицита не установлено.

Обоснованность выбора моделей мочекаменной болезни наиболее ярко подтверждается при анализе основных биохимических параметров крови и мочи подопытных животных. Результаты представлены в таблице 1. Интоксикация этиленгликолем приводила к прогрессирующему уменьшению суточного объема мочи, достоверно отличающемуся от нормальных показателей на всем протяжении эксперимента, значительной гематурии, протеинурии и глюкозурии. На фоне недостатка половых гормонов наблюдали более тяжелое течение мочекаменной болезни, что выражалось в развитии гипергликемического и глюкозурического синдромов, нарушении азотистого обмена достоверно более высоких степеней тяжести, чем у некастрированных крыс.

Развитие мочекаменной болезни приводило к характерным для нефролитиаза морфологическим изменениям почек подопытных животных. При макроскопическом исследовании существенных различий в строении органов между кастрированными крысами и крысами с нормальным уровнем половых гормонов не установлено. Почки у животных обеих экспериментальных групп увеличены в размерах. Ткани почек отечны, мозговое вещество гиперемировано, в корковом слое отмечалось чередование участков гиперемии и ишемии. Гистологический анализ показал наличие нарушений микроциркуляции, выражающихся в гиперемии мозгового и прилегающих областей коркового слоя. Вены и венулы увеличены в размерах, количество капилляров увеличено. Периваскулярная область умеренно инфильтрирована лейкоцитами. Канальцевый аппарат нефронов существенно не изменен, просвет каналь-

цев местами расширен. Гистохимически в мозговом веществе почек выявляются многочисленные кальциевые микроконкременты (рис. 1).

Несмотря на схожесть морфологических признаков мочекаменной болезни в обеих экспериментальных группах, было показано, что в целом андрогенный дефицит ускорял и утяжелял развитие заболевания. В частности, микроконкременты у сочка почки кастрированных крыс образовывались немного раньше и были многочисленнее и крупнее, чем у животных, находившихся на этиленгликолевом вспаивании, но без кастрации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Воспроизведена модель мочекаменной болезни у лабораторных крыс: поражение почек достигнуто путем добавления в питьевую воду этиленгликоля (1%-й раствор). Модель характеризовалась развитием олигоурии, нарушениями азотистого и углеводного обменов, изменениями гистоархитектоники почек и отложением в паренхиме органа кальциевых микроконкрементов. Моделирование мочекаменной болезни на фоне андрогенного дефицита приводило к усугублению тяжести течения и ускорению развития патологического процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев А.Г., Комяков Б.К., Тагиров Н.С., Мусаев С.А. Чрескожная нефролитотрипсия в лечении коралловидного нефролитиаза. Профилактическая и клиническая медицина. 2009; 4: 183–186.
2. Жариков А.Ю., Зверев Я.Ф., Брюханов В.М. и др. Механизм формирования кристаллов при оксалатном нефролитиазе. Нефрология. 2009; 13 (4): 37–50.
3. Тагиров Н.С., Назаров Т.Х., Васильев А.Г., Лихтшангоф А.З., Лазаренко И.Б., Маджидов С.А., Ахмедов М.А.

- Опыт применения чрескожной нефролитотрипсии и контактной уретеролитотрипсии в комплексном лечении мочекаменной болезни. Профилактическая и клиническая медицина. 2012; 4: 30–33.
4. Трашков А.П., Васильев А.Г., Дементьева Е.А. и др. Сравнительная характеристика нарушений работы плазменного компонента системы гемостаза крыс при развитии экспериментальных опухолей различного гистологического типа. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2011; 1: 148–153.
 5. Indridason O.S., Birgisson S., Edvardsson V.O. et al., Scand.J. Urol. Nephrol. 2009; 40 (3), 215–220.
 6. Romero V., Akpinar H., Assimos D.G., Rev. Urol. 2010; 12 (2–3), 86–96.
- REFERENCES**
1. Vasil'ev A.G., Komyakov B.K., Tagirov N.S., Musaev S.A. Chreskohnaya nefrolitotripsiya v lechenii korallovidnogo nefrolitiaz [Transcutaneous nephrolitotripsy in treatment of corral-like nephrolithiasis]. Profilakticheskaya i klinicheskaya meditsina. 2009; 4: 183–6. (in Russian).
 2. Zharikov A.Yu., Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M. i dr. Mekhanizm formirovaniya kristallov pri oksalatnom nefrolitiaz [Crystal-forming mechanism in case of oxalate nephrolithiasis]. Nefrologiya. 2009; 13 (4): 37–50. (in Russian).
 3. Tagirov N.S., Nazarov T.Kh., Vasil'ev A.G., Likhtshangof A.Z., Lazarenko I.B., Madzhidov S.A., Akhmedov M.A. Opyt primeneniya chreskohnoy nefrolitotripsy i kontaktnoy ureterolitotripsy v kompleksnom lechenii mochekamennoy bolezni [Using transcutaneous nephrolitotripsy and contact ureterolitotripsy in complex treatment of nephrolithiasis]. Profilakticheskaya i klinicheskaya meditsina. 2012; 4: 30–3. (in Russian).
 4. Trashkov A.P., Vasil'ev A.G., Dement'eva E.A. i dr. Sravnitel'naya kharakteristika narusheniy raboty plazmennogo komponenta sistemy gemostaza krys pri razvitiy eksperimental'nykh opukholey razlichnogo histologicheskogo tipa [Comparative description of hemostasis plasma component in rats developing various histologic type experimental tumors]. Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii. 2011; 1: 148–153. (in Russian).
 5. Indridason O.S., Birgisson S., Edvardsson V.O. et al., Scand.J. Urol. Nephrol. 2009; 40 (3): 215–220.
 6. Romero V., Akpinar H., Assimos D.G., Rev. Urol. 2010; 12 (2–3): 86–96.

◆ Информация об авторах

Тагиров Наир Сабирович – канд. мед. наук, врач, урологическое отделение. Санкт-Петербургская городская больница Святой преподобномученицы Елизаветы. 195257, Санкт-Петербург, ул. Вавиловых, д. 14. E-mail: ruslana73nair@mail.ru.

Трашков Александр Петрович – канд. мед. наук, доцент, кафедра патофизиологии с курсом иммунопатологии. ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2. E-mail: alexandr.trashkov@gmail.com.

Балашов Лев Дмитриевич – канд. мед. наук, доцент, кафедра патофизиологии с курсом иммунопатологии. ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2. E-mail: levbalashov@mail.ru.

Балашов Никита Алексеевич – студент 6 курса, кафедра патофизиологии с курсом иммунопатологии. ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2. E-mail: levbalashov@mail.ru.

Tagirov Nair Sabirovich – MD, PhD, doctor. Urologic Department. St. Petersburg City Hospital of St. Elisabeth. 14, Vavilovih St., St. Petersburg, 195257, Russia. E-mail: ruslana73nair@mail.ru.

Trashkov Alexander Petrovich – MD, PhD, Associate Professor. Department of Pathophysiology and Immunopathology. St. Petersburg State Pediatric Medical University. 2, Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia. E-mail: alexandr.trashkov@gmail.com.

Balashov Lev Dmitrievich – MD, PhD, Associate Professor. Department of Pathophysiology and Immunopathology. St. Petersburg State Pediatric Medical University. 2, Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia. E-mail: levbalashov@mail.ru.

Balashov Nikita Alexeevich – six year student. Department of Pathophysiology and Immunopathology. St. Petersburg State Pediatric Medical University. 2, Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia. E-mail: levbalashov@mail.ru.