

УДК 616.61-002.2-092.9:616-091.8]615.065

DOI: 10.36604/1998-5029-2026-100-66-76

## ДИНАМИКА ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ФИБРОГЕНЕЗА И ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧЕК ПРИ ЛЕКАРСТВЕННО- ИНДУЦИРОВАННОЙ НЕФРОПАТИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Д.С.Вайленко, В.В.Баранова, Т.П.Тананакина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 291045, ЛНР, г. Луганск, кв-л 50-летия обороны Луганска, 1г

**РЕЗЮМЕ. Цель.** Выявить закономерности формирования лекарственно-индуцированной нефропатии при длительном применении комбинации антибактериальных препаратов (АБП) и определить роль иммунноклеточной инфильтрации и эпителиально-мезенхимальной трансформации в ее прогрессировании. **Материалы и методы.** Исследование выполнено на 50 самцах белых беспородных крыс, разделенных на группы: контрольную и опытную. Животные опытных групп ежедневно получали комбинацию АБП (канамицин, бедаквилин, линезолид, циклосерин, левофлоксацин, парааминосалициловая кислота (ПАСК), протионамид), применяемую для лечения химиорезистентного туберкулеза. Эвтаназию проводили на 60-е и 120-е сутки. Оценивали биохимические показатели крови (креатинин, мочевины, расчетная скорость клубочковой фильтрации (СКФ)). Для оценки характера клеточной инфильтрации и процессов фиброза проводилось иммуногистохимическое исследование экспрессии CD3, CD20 и виментина в ткани почек. **Результаты.** К 60-м суткам у опытных животных отмечалось статистически значимое повышение креатинина (108,03 мкмоль/л против 57,0 мкмоль/л в контроле,  $p < 0,01$ ) и мочевины (8,88 ммоль/л против 5,31 ммоль/л,  $p < 0,01$ ) на фоне снижения СКФ (1,22 мл/мин/100 г против 1,49 мл/мин/100 г,  $p < 0,01$ ). К 120-м суткам показатели ухудшились: креатинин вырос до 172,91 мкмоль/л, мочевины – до 11,08 ммоль/л, а СКФ снизилась до 1,11 мл/мин/100 г (в контроле: 56,48; 5,43 и 1,49 соответственно). Нарастала инфильтрация интерстиция CD3<sup>+</sup> и CD20<sup>+</sup> клетками: к 60-м суткам – до 26,5 и 31,6, к 120-м – до 29,6 и 36,5 кл/пз ( $p < 0,05$ ) при контроле 3,1 и 2,4 соответственно. Доля виментин-позитивных канальцев увеличилась с 38,6% на 60-е сутки до 65,7% на 120-е сутки ( $p < 0,01$ ), что свидетельствовало об активации эпителиально-мезенхимального перехода. **Заключение.** Длительное введение АБП вызывает хроническое повреждение почек с азотемией и снижением СКФ. В основе патогенеза лежат иммунное воспаление (инфильтрация CD3<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>) и эпителиально-мезенхимальный переход (экспрессия виментина). Результаты обосновывают поиск нефропротекторов, подавляющих данные механизмы.

**Ключевые слова:** антибактериальные препараты, химиорезистентный туберкулез, нефротоксичность, хроническая болезнь почек, тубулоинтерстициальное повреждение, иммуногистохимия, CD3, CD20, виментин, эпителиально-мезенхимальный переход, экспериментальная модель, крысы, креатинин, мочевины, скорость клубочковой фильтрации.

## DYNAMICS OF IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS OF FIBROGENESIS AND KIDNEY FUNCTIONAL STATUS IN EXPERIMENTAL DRUG-INDUCED NEPHROPATHY

D.S.Vailenko, V.V.Baranova, T.P.Tananakina

### Контактная информация

Виктория Вячеславовна Баранова, канд. мед. наук, доцент кафедры фтизиатрии, клинической иммунологии и медицинской генетики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 291045, Россия, ЛНР, г. Луганск, кв-л 50-летия обороны Луганска, 1г. E-mail: vbaranova2021@mail.ru

### Correspondence should be addressed to

Viktoriya V. Baranova, MD, PhD (Med.), Associate Professor of the Department of Phthysiology, Clinical Immunology and Medical Genetics, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Saint Luka Lugansk State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 1G 50 let oborony Luganska Quarter, Lugansk, LPR, 291045, Russian Federation. E-mail: vbaranova2021@mail.ru

### Для цитирования:

Вайленко Д.С., Баранова В.В., Тананакина Т.П. Динамика иммуногистохимических маркеров фиброгенеза и функционального состояния почек при лекарственно-индуцированной нефропатии в эксперименте // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2026. Вып.100. С.66–76. DOI: 10.36604/1998-5029-2026-100-66-76

### For citation:

Vailenko D.S., Baranova V.V., Tananakina T.P. Dynamics of immunohistochemical markers of fibrogenesis and kidney functional status in experimental drug-induced nephropathy. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2026; (100):66–76 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2026-100-66-76

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Saint Luka Lugansk State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 1G 50 let oborony Luganska Quarter, Lugansk, LPR, 291045, Russian Federation

**SUMMARY. Aim.** To identify the patterns of drug-induced nephropathy development during prolonged administration of a combination of antibacterial drugs (ABDs) and to determine the role of immune cell infiltration and epithelial-mesenchymal transition (EMT) in its progression. **Materials and methods.** The study was performed on 50 male white outbred rats divided into control and experimental groups. Animals in the experimental groups received daily a combination of ABDs used for the treatment of drug-resistant tuberculosis: kanamycin, bedaquiline, linezolid, cycloserine, levofloxacin, para-aminosalicylic acid (PAS), and prothionamide. Euthanasia was performed on days 60 and 120. Blood biochemical parameters – creatinine, urea, and estimated glomerular filtration rate (GFR) – were assessed. Immunohistochemical analysis of CD3, CD20, and vimentin expression in kidney tissue was conducted to evaluate cellular infiltration and fibrotic processes. **Results.** By day 60, experimental animals showed statistically significant increases in creatinine (108.03  $\mu\text{mol/L}$  vs. 57.0  $\mu\text{mol/L}$  in controls,  $p < 0.01$ ) and urea (8.88 mmol/L vs. 5.31 mmol/L,  $p < 0.01$ ), along with reduced GFR (1.22 mL/min/100 g vs. 1.49 mL/min/100 g,  $p < 0.01$ ). By day 120, renal function further deteriorated: creatinine rose to 172.91  $\mu\text{mol/L}$ , urea to 11.08 mmol/L, and GFR declined to 1.11 mL/min/100 g (vs. control values of 56.48, 5.43, and 1.49, respectively). Interstitial infiltration by CD3<sup>+</sup> and CD20<sup>+</sup> cells progressively increased: by day 60–to 26.5 and 31.6 cells/HPF, and by day 120–to 29.6 and 36.5 cells/HPF ( $p < 0.05$ ), compared to control values of 3.1 and 2.4, respectively. The proportion of vimentin-positive tubules rose from 38.6% on day 60 to 65.7% on day 120 ( $p < 0.01$ ), indicating active EMT. **Conclusion.** Prolonged ABD administration induces chronic kidney injury characterized by azotemia and reduced GFR. The pathogenesis involves immune-mediated inflammation (CD3<sup>+</sup> and CD20<sup>+</sup> infiltration) and epithelial–mesenchymal transition (vimentin expression). These findings support the need for nephroprotective agents targeting these specific mechanisms.

*Key words:* antibacterial drugs, drug-resistant tuberculosis, nephrotoxicity, chronic kidney disease, tubulointerstitial injury, immunohistochemistry, CD3, CD20, vimentin, epithelial-mesenchymal transition, animal model, rats, creatinine, urea, glomerular filtration rate.

Современные подходы к диагностике и прогнозированию лекарственно-индуцированных нефропатий базируются на использовании чувствительных биомаркеров, позволяющих выявлять повреждение на доклинической стадии [1, 2]. Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование с применением маркеров CD3 (зрелые Т-лимфоциты), CD20 (В-лимфоциты) и виментина (клетки мезенхимального происхождения) даёт возможность оценить вклад иммунных реакций и процессов эпителиально-мезенхимальной трансформации в развитие хронического повреждения почек [3, 4].

Экспериментальные модели остаются незаменимым инструментом для изучения патогенеза нефротоксичности и поиска потенциальных нефропротективных стратегий [5]. Предшествующие работы авторов продемонстрировали развитие выраженных патоморфологических изменений в почках крыс при длительном введении антибактериальных препаратов (АБП) [6, 7], однако детальный анализ ИГХ маркеров воспаления и фиброгенеза в динамике не выполнялся.

Лекарственно-индуцированные поражения почек занимают важное место в структуре нефропатий, что связано с широким применением фармакотерапии, особенно длительной и комбинированной [8, 9]. Нефротоксичность может реализовываться через различные механизмы: прямое повреждение канальцевого эпителия, нарушение внутрпочечной гемодинамики, иммунновоспалительные реакции, активацию фиброгенеза [8–10]. Особую актуальность проблема нефротоксич-

ности приобретает при необходимости проведения длительной антибиотикотерапии, например, лечение химиорезистентных форм туберкулеза, требующих использования многокомпонентных схем, включающих препараты с доказанным нефротоксическим потенциалом (аминогликозиды, полипептиды, фторхинолоны) [11–14]. В современной литературе представлены данные преимущественно об острых повреждениях почек, вызванных отдельными лекарственными средствами, тогда как хроническое тубулоинтерстициальное повреждение, индуцированное длительным приёмом комбинаций АБП, изучено недостаточно [9, 11]. Механизмы прогрессирования нефропатии в условиях хронической токсической нагрузки, роль иммунного воспаления и эпителиально-мезенхимального перехода остаются предметом активных исследований [3, 15]. Установлено, что в патогенезе тубулоинтерстициального фиброза важную роль играют как клеточные (Т-лимфоциты, макрофаги), так и гуморальные факторы иммунитета (включая В-лимфоциты), а также фенотипическая трансформация эпителиальных клеток, сопровождающаяся экспрессией мезенхимальных маркеров, в частности виментина [3, 4, 16].

Таким образом, необходимость комплексного исследования морфофункциональных изменений почек, оценки иммунновоспалительных реакций и процессов эпителиально-мезенхимального перехода при длительном применении комбинаций АБП, используемых в терапии химиорезистентного туберкулеза, в сопоставлении с функциональными показателями (ско-

рость клубочковой фильтрации, уровень креатинина сыворотки крови и мочевины) определяет актуальность настоящей работы. Полученные результаты позволят расширить представления о патогенезе лекарственно-индуцированной нефропатии, выявить биохимические маркеры соответствующих ИГХ и патоморфологических изменений почек на различных этапах хронического воздействия лекарственных средств и обосновать потенциальные мишени для нефропротективной коррекции.

Цель исследования: выявить закономерности формирования лекарственно-индуцированной нефропатии при длительном применении комбинации антибактериальных препаратов и определить роль иммуноклеточной инфильтрации и эпителиально-мезенхимальной трансформации в ее прогрессировании.

### Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на 50 половозрелых самцах белых беспородных крыс возрастом 3,5–4 месяца с исходной массой тела 250–260 г. Содержание животных осуществлялось в стандартных условиях вивария при температуре  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  и световом цикле 12/12 ч., при свободном доступе к воде и корму, с соблюдением принципов лабораторной практики. Условия содержания животных соответствовали требованиям межгосударственных стандартов ГОСТ 33215-2014 и ГОСТ 33216-2014. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для эксперимента» (Страсбург, 1986). Выбор беспородных животных обусловлен их высокой генетической гетерогенностью, что позволяет максимально приблизить экспериментальную модель к естественной вариативности биологических реакций, характерной для гетерогенных популяций, и повысить внешнюю валидность полученных результатов.

Для моделирования длительного медикаментозного воздействия были сформированы опытные и интактные (контрольные) группы.

Введение АБП осуществляли перорально с помощью желудочного зонда на протяжении 120 суток, канамицин вводился внутримышечно в виде водного раствора (использовалась вода для инъекций). Дозы рассчитывали индивидуально для каждого животного, исходя из массы тела, с использованием коэффициента межвидового пересчета доз по площади поверхности тела [5]. За основу были взяты разовые дозировки АБП, применяемые в схемах лечения химиорезистентного туберкулеза у взрослого человека массой 70 кг, с последующим пересчетом на крысу массой 250 г.

$$РД_{\text{крысы}} = РД_{50 \text{ человека}} * \frac{\text{КОЭФФИЦИЕНТ ПЕРЕСЧЕТА ЧЕЛОВЕКА}}{\text{КОЭФФИЦИЕНТ ПЕРЕСЧЕТА КРЫСЫ}},$$

где РД – разовая доза, а РД<sub>50</sub> – половина разовой дозы.

Выведение животных из эксперимента проводилось поэтапно на 60-е и 120-е сутки, что позволило сформировать следующие подгруппы, каждая из которых состояла из 10 особей. Контрольная группа включала животных исходного контроля (КГ0), выведенных в начале эксперимента для определения базовых показателей, а также двух подгрупп динамического контроля (КГ1 и КГ2), которые находились в тех же условиях содержания 60 и 120 дней соответственно, без введения препаратов. Опытная группа (ОГ) подразделялась на подгруппы ОГ1 (эвтаназия на 60 день) и ОГ2 (эвтаназия на 120 день). Крысы опытных групп ежедневно получали комбинацию АБП, соответствующую клиническим рекомендациям для терапии химиорезистентного туберкулеза [12]. Режим дозирования включал: канамицин (42 мг/кг/сутки), бедаквилин (16 мг/кг/сутки в первые 14 дней, далее по 8 мг/кг каждые 72 часа), линезолид (24 мг/кг/сутки), циклосерин (42 мг/кг/сутки), левофлоксацин (42 мг/кг/сутки), парааминосалициловая кислота (ПАСК) (420 мг/кг/сутки) и протионамид (42 мг/кг/сутки).

Эвтаназию всех животных проводили методом декапитации под эфирным наркозом, предварительно выполнив забор крови из бедренной вены. Все процедуры соответствовали биоэтическим нормам, принципам Базельской декларации, рекомендациям Директивы 2010/63/EU, а также требованиям ГОСТ 33215-2014 и ГОСТ 33216-2014. Протокол исследования №3 от 21.11.2023 был утверждён Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЛГМУ им. Свт. Луки Минздрава России.

Биохимический анализ сыворотки крови выполняли с использованием коммерческих наборов «Cormay Liquick Cor-UREA» (2-310) (Польша) для определения мочевины и «Cormay Liquick Cor-CREA ENZYMATIC» (2-287) (Польша) для определения креатинина. Учет результатов и контроль качества осуществляли на анализаторе «ACCENT 300» (PZ CORMAY) (Польша), соблюдая инструкции фирмы производителя. Скорость клубочковой фильтрации определяли расчетным методом [17].

Образцы тканей фиксировали в 10% нейтральном формалине, обезжизивали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. С парафиновых блоков готовили срезы толщиной 4–5 мкм, которые монтировали на адгезивные стекла. ИГХ исследование проводили с использованием следующих маркеров: CD3 (Т-лимфоциты), CD20 (В-лимфоциты) и виментин (клетки мезенхимального происхождения).

После депарафинизации и регидратации для демаскировки антигенов срезы подвергали тепловой обработке на водяной бане (30 минут) в 0,01M цитратном буфере (рН 6,0). Эндогенную пероксидазу блокировали 3% раствором H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10–15 минут). Для предотвращения неспецифического связывания применяли 0,01M

TBS-буфер (рН 7,6). Инкубацию с первичными антителами проводили в течение 30 минут при комнатной температуре, согласно инструкции производителя:

- CD3 (поликлональные, кролик, Diagnostic BioSystems, США, 1:50) – оценка мембранного и цитоплазматического окрашивания;

- CD20 (моноклональные, мыши, клон L26, Diagnostic BioSystems, США, 1:100) – оценка мембранного окрашивания;

- Vimentin (моноклональные, мыши, клон V9, Diagnostic BioSystems, США, 1:100) – оценка цитоплазматического окрашивания.

Визуализацию проводили с помощью двухстадийной системы детекции PrimeVision (HRP/DAB, «ПраймБиомед», Россия), где роль хромогена выполнял диаминобензидин. Срезы докрашивали 1%-м водным раствором гематоксилина Майера (Диахим-Цитостейн-ГМ, Россия) [18] и заключали под покрывное стекло.

Учет результатов ИГХ реакции проводили на микроскопе Carl ZEISS Primo Star (Германия, увеличение ×400). Микрофото съемку осуществляли камерой Canon EOS 800D (Япония), анализ изображений проводили в программном обеспечении ImageJ (NIH, США). В каждом препарате два исследователя анали-

зировали не менее 10 полей зрения, выбранных случайным образом. Экспрессию CD3 и CD20 оценивали количественно, подсчитывая среднее число позитивных клеток на поле зрения. Для виментина определяли долю виментин-положительных канальцев (в процентах), как отношение количества канальцев с окрашенным эпителием к их общему числу [19].

Статистическая обработка данных выполнена с использованием пакетов Statistica 10.0 и MS Excel. Проверку нормальности распределения проводили по критерию Шапиро-Уилка. Распределение отличалось от нормального, поэтому для межгрупповых сравнений применяли непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [Q25; Q75]). Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

#### Результаты исследования и их обсуждение

Для оценки функционального состояния почек были проведены биохимические исследования уровней сывороточного креатинина и мочевины в сыворотке крови и оценка расчётного показателя функции почек – скорости клубочковой фильтрации (СКФ). Эти параметры не изменялись на протяжении опыта у животных контрольных групп (табл. 1).

Таблица 1

#### Биохимические показатели крови и функции почек контрольных (КГ) и опытных (ОГ) групп в разные сроки эксперимента, Me [25%;75%]

Группа	Креатинин, мкмоль/л	Мочевина, ммоль/л	СКФ, мл/мин/100 г
КГ0 (0 день) (n = 10)	56,48 [53,84; 59,52]	5,43 [4,88; 5,66]	1,49 [1,46; 1,52]
КГ1 (60 день) (n = 10)	57,0 [55,24; 57,68]	5,31 [5,16; 6,12]	1,49 [1,44; 1,50]
КГ2 (120 день) (n = 10)	56,0 [55,20; 57,85]	5,45 [5,24; 5,58]	1,48 [1,47; 1,52]
ОГ1 (60 день) (n = 10)	108,03 [102,17; 116,10]*	8,88 [7,97; 9,47]*	1,22 [1,19; 1,24]*
ОГ2 (120 день) (n = 10)	172,91 [165,51; 182,02]* Δ	11,08 [10,44; 11,83]* Δ	1,11 [1,10; 1,11]* Δ

Примечание: \* – статистически значимое ( $p < 0,05$ ) отличие показателей в группе крыс ОГ1 по сравнению с исходными значениями (КГ0); Δ – статистически значимое ( $p < 0,05$ ) отличие показателей в группе крыс ОГ2 по сравнению с показателями в группе ОГ1.

У животных ОГ1 на 60-е сутки эксперимента было отмечено повышение концентрации креатинина в 1,89 раза относительно контроля. В подгруппе ОГ2 к 120-му дню тенденция к росту данного показателя сохранилась: его уровень статистически значимо превысил значения контрольной группы уже в 3,06 раза ( $p < 0,01$ ). Выявленные изменения могли свидетельствовать о нарушении фильтрационной способности вследствие лекарственно индуцированной воспалительной реакции или некроза клеток почечной паренхимы на фоне приёма комбинации АБП. На фоне снижения показателя

СКФ в 1,22 раза у крыс ОГ1 и в 1,34 раза у подопытных из ОГ2 было зарегистрировано статистически значимое повышение уровня мочевины крови в 1,63 раза у животных ОГ1 и в 2,04 раза в подгруппе ОГ2 ( $p < 0,01$ ), что указывало на истинное ренальное поражение обусловленное проводимой терапией. Таким образом, изменения СКФ имели обратную тенденцию по отношению к динамике изменений биохимических показателей креатинина и мочевины.

Патоморфологический анализ почек крыс на фоне приёма комбинаций АБП показал, что в подгруппе ОГ1

на 60 день эксперимента, как и в подгруппе ОГ2 на 120 день, регистрировались изменения клубочков, очаговые расстройства кровообращения. В динамике сосудистые петли большинства клубочков выглядели спавшимися, малокровными, пространство капсулы Шумлянско-Боумена было расширено, нарастала воспалительная инфильтрация. В проксимальных извитых канальцах преобладали признаки повреждения, при этом доминировали процессы деструкции клеток с потерей не только щеточной каемки, но и значительной части апикальной цитоплазмы, что приводило к расширению просветов канальцев. Эти данные были ранее нами опубликованы [6, 7]. Результаты микроскопического исследования могли свидетельствовать о хроническом воспалении почечной паренхимы и развитии лекарственно-индуцированного тубулоинтерстициального повреждения.

Для выявления патогенетических звеньев клеточно-опосредованного воспаления, выявленного при проведении морфологического анализа почек, нами были проведены ИГХ исследования. В группах контроля на всех сроках эксперимента (КГ0, КГ1 и КГ2) статистически значимых различий при оценке показателей экспрессии CD3, CD20 и виментина выявлено не было (табл. 2, рис. 1а, 2а, 3а). Для выявления активного иммунного ответа оценивали число CD3-положительных клеток – как маркера зрелых Т-лимфоцитов в экспериментальных подгруппах. На 60 сутки у животных ОГ1 наблюдались скопления и рассеянные CD3-положительные клетки как диффузно в интерстиции, так и периваскулярно (рис. 1б). Число этих клеток составило 26,5 [23,25; 27,75] в поле зрения, что было статистически значимо больше ( $p < 0,01$ ), чем в КГ1 (табл. 2).

Таблица 2

Показатели иммуногистохимического исследования контрольных (КГ) и опытных (ОГ) групп в разные сроки эксперимента, Ме [25%;75%]

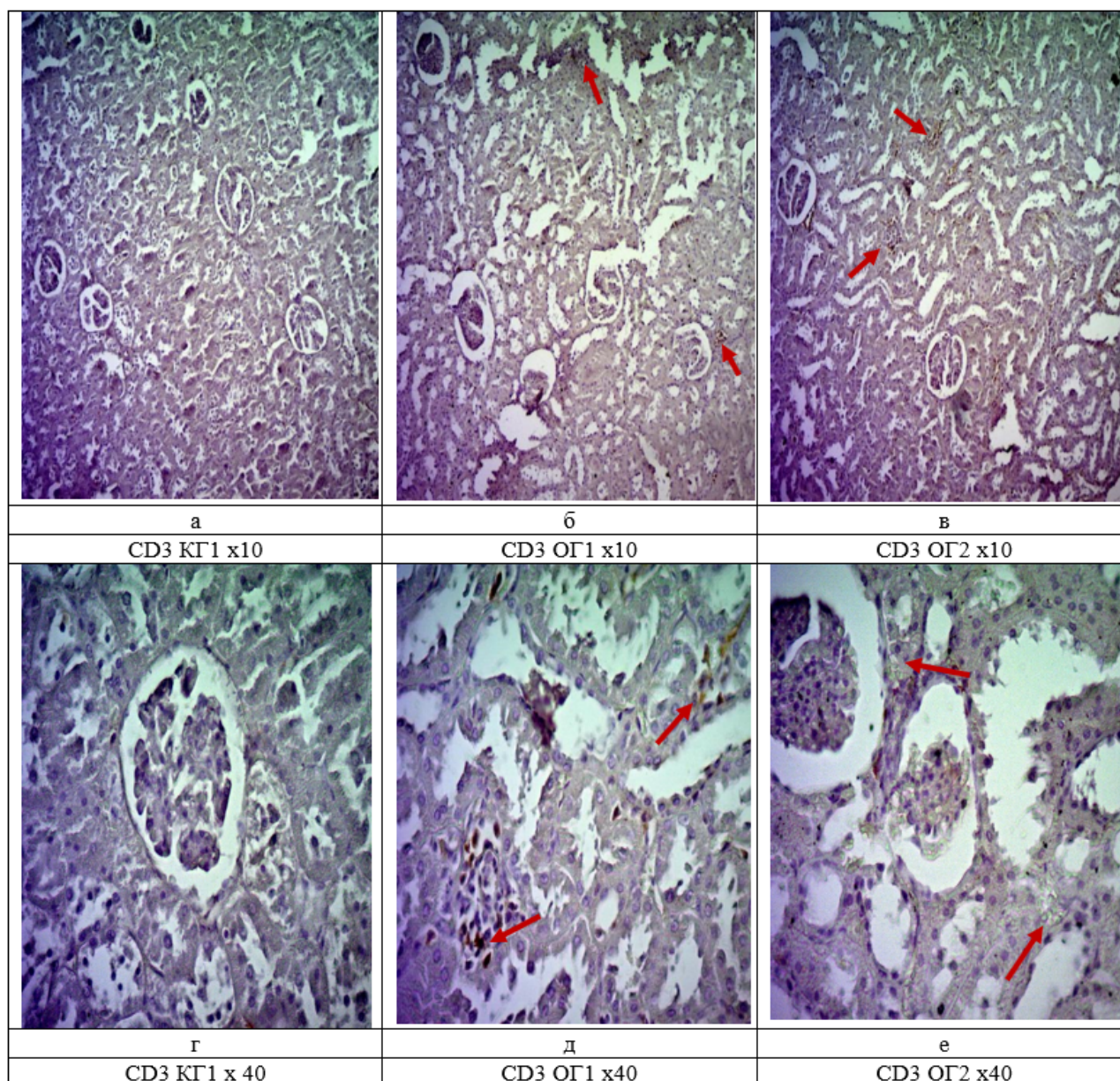
Группа	Количество CD3-положительных клеток в поле зрения	Количество CD20-положительных клеток в поле зрения	Доля виментин-положительных канальцев, %
КГ0 (0 день) (n = 10)	3,1 [2,75; 3,4]	2,4 [2,1; 2,7]	3,9 [3,7; 4,15]
КГ1 (60 день) (n = 10)	3,20 [2,85; 3,7]	2,3 [2,15; 2,95]	3,9 [3,6; 4,4]
КГ2 (120 день) (n = 10)	2,9 [2,45; 3,3]	2,4 [1,8; 2,65]	4,2 [4,0; 4,55]
ОГ1 (60 день) (n = 10)	26,5 [23,25; 27,75]*	31,6 [29,6; 34,0]*	38,6 [36,55; 40,65]*
ОГ2 (120 день) (n = 10)	29,6 [28,45; 31,1]* <sup>Δ</sup>	36,5 [33,25; 38,65]* <sup>Δ</sup>	65,7 [62,6; 68,05]* <sup>Δ</sup>

Примечание: \* – статистически значимое ( $p \leq 0,05$ ) отличие показателей в подгруппе крыс ОГ1 по сравнению с исходными значениями (КГ0); <sup>Δ</sup> – ОГ2 по сравнению с показателями в подгруппе ОГ1.

На 120 день введения комбинации АБП у животных из подгруппы ОГ2 инфильтрация паренхимы почек CD3-положительными лимфоцитами была уже более выраженная (множественные очаги), что было статистически значимо больше ( $p < 0,05$ ) по сравнению с крысами, чей эксперимент был закончен на 60-е сутки (рис. 1 в, табл. 2). Полученные результаты могли указывать на то, что длительное применение препаратов вызывает токсическое поражение почек, при котором развивается активный иммунный ответ, характеризующий хроническую воспалительную реакцию [20], усиливающийся к 120 дню эксперимента.

Анализ CD20-позитивной инфильтрации выявил статистически значимое нарастание плотности лимфоцитов в интерстиции. Данная динамика свидетельствует о прогрессировании активного хронического воспаления почечной паренхимы. Так на поздней стадии (120 дней) выявлялись дискретные узелковые скопления (рис. 2в, г) – 36,5 [33,25;38,65], число CD20-положительных лимфоцитов в поле зрения было статистически значимо больше ( $p < 0,05$ ), чем в ОГ1 на ранней стадии (60 дней) – 38,6 [36,55;40,65] (рис. 2б,

д, табл. 2). При этом в контрольной группе наблюдались единичные клетки. По нашему мнению, выявленная на 60 день В-клеточная инфильтрация интерстиция почек крыс, усиливающаяся на 120 день эксперимента, могла свидетельствовать о переходе процесса воспаления в хроническую стадию, что может привести к формированию в почке эктопической лимфоидной ткани. Формирование крупных CD20-позитивных инфильтратов в интерстиции выступает лекарственно-индуцированным предиктором утраты почечной функции, что подтверждалось сопутствующими изменениями биохимических показателей крови. Повышение в 1,89 раза уровня сывороточного креатинина через 60 дней приема комбинации АБП, применяемых при лечении химиорезистентного туберкулеза, сопровождалась появлением В-клеточной инфильтрации почечной паренхимы. Данные изменения приводят к хронической воспалительной реакции в интерстиции почек, что, в свою очередь, было подтверждено нами при патогистологическом исследовании. В проксимальных извитых канальцах преобладали признаки повреждения, при этом доминировали процессы деструкции клеток [7].



*Рис. 1.* Микрофотографии ткани почек с экспрессией CD3-положительных лимфоцитов. Оптическая микроскопия. Ув. x 100 (а–в), ув. x 400 (г–е): а, г – группа исходного контроля; б, д – опытная группа на сроке 60 суток – ОГ1; в, е – опытная группа на сроке 120 суток – ОГ2. Окраска диаминобензидином и гематоксилином Майера. Стрелками указаны экспрессия CD3-положительных лимфоцитов в интерстиции коркового слоя почки. Инфильтрат носит очаговый характер, локализуется преимущественно перитубулярно с более выраженной экспрессии к 120 дню (ОГ2) – множественными очагами накопления CD3<sup>+</sup>.

Для выявления возможных признаков мезенхимальной активации использовали оценку экспрессии виментина (Vim) в эпителии канальцев. В группах контроля не было выявлено изменения количества Vim-положительных канальцев (табл. 2, рис. 3а, г). На ранних сроках эксперимента (60 день) в подгруппе ОГ1 их доля составляла 38,6 [36,55;40,65]% (рис. 3б, д), к 120 дню (ОГ2) она стала более явной и Vim-позитивная реакция была выявлена в 65,7 [62,6;68,05]% клеток, что было статистически значимо выше ( $p < 0,01$ ), чем в ОГ1 (рис. 3в, е, табл. 2). Это могло свиде-

тельствовать об активном процессе возможного эпителиально-мезенхимального перехода у крыс опытной группы, при котором поврежденные эпителиальные клетки-канальцы теряют свой «почечный» фенотип и приобретают свойства фибробластов, что и приводит к aberrantной экспрессии – нарушениям, которые являются предикторами развития интерстициального фиброза. Для подтверждения этого вывода нами планируется дополнительное ИГХ исследование с использованием более специфичных маркеров фиброза.

Таким образом, проведенное ИГХ исследование, по

нашему мнению, указывает на развитие прогрессирующего тубулоинтерстициального повреждения почек при длительном комплексном применении АБП, цент-

ральным патогенетическим звеном которого может являться активация мезенхимального фенотипа.

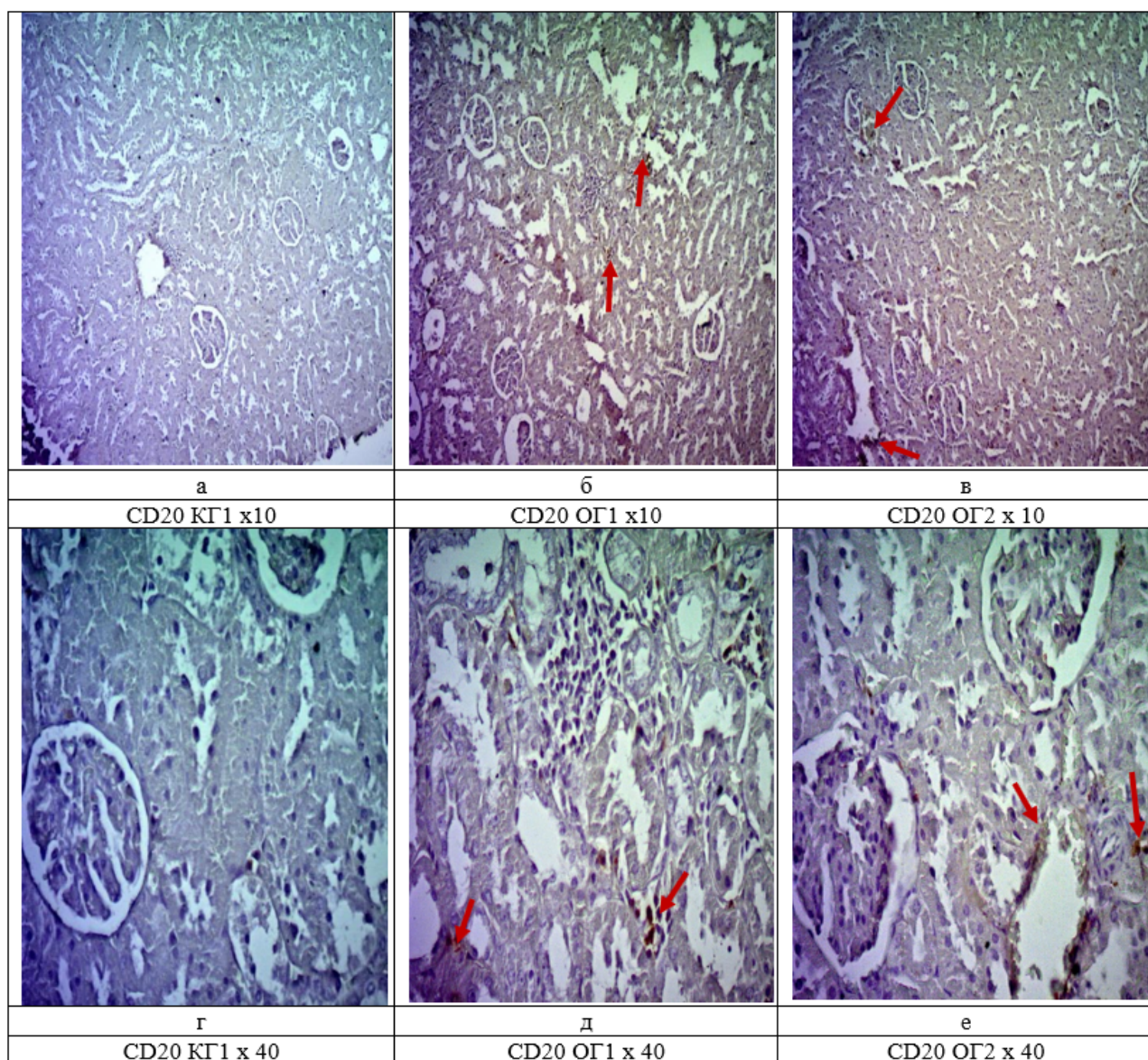


Рис. 2. Микрофотографии ткани почек с экспрессией CD20-положительных лимфоцитов. Оптическая микроскопия. Ув. x100 (а-в), ув. x400 (г-е): а, г – группа исходного контроля; б, д – опытная группа на сроке 60 суток – ОГ1; в, е – опытная группа на сроке 120 суток – ОГ2. Окрашивание диаминобензидином и гематоксилином Майера. Интерстициальная инфильтрация коркового слоя почки CD20<sup>+</sup> лимфоцитами (указаны стрелками). Отмечается преимущественно перитубулярная локализация и формирование выраженных фолликулоподобных скоплений к 120 дню эксперимента (ОГ2).

Полученные данные указывают на то, что выявленные изменения ткани почек в результате длительного приёма комбинации АБП при химиотерапии лекарственно-устойчивого туберкулеза могут приводить к воспалительному поражению почечных клубочков уже через 2 месяца эксперимента. Следствием данных изменений является патогенетически сниженная фильтрационная функция почек, приводящая к повышению уровня креатинина в крови. Это подтверждает тот факт, что продолжительное применение антибактериальных

препаратов приводит к значительным морфологическим нарушениям паренхимы почек, развитию воспалительного процесса, переходящего в фиброз, и снижению выделительной функции органа. Для детализации определения характера и сроков патогистологических и функциональных изменений почек нами планируется проведение дополнительных исследований с использованием более специфичных маркеров фиброза, а также корреляционный анализ данных ИГХ с функциональными тестами.

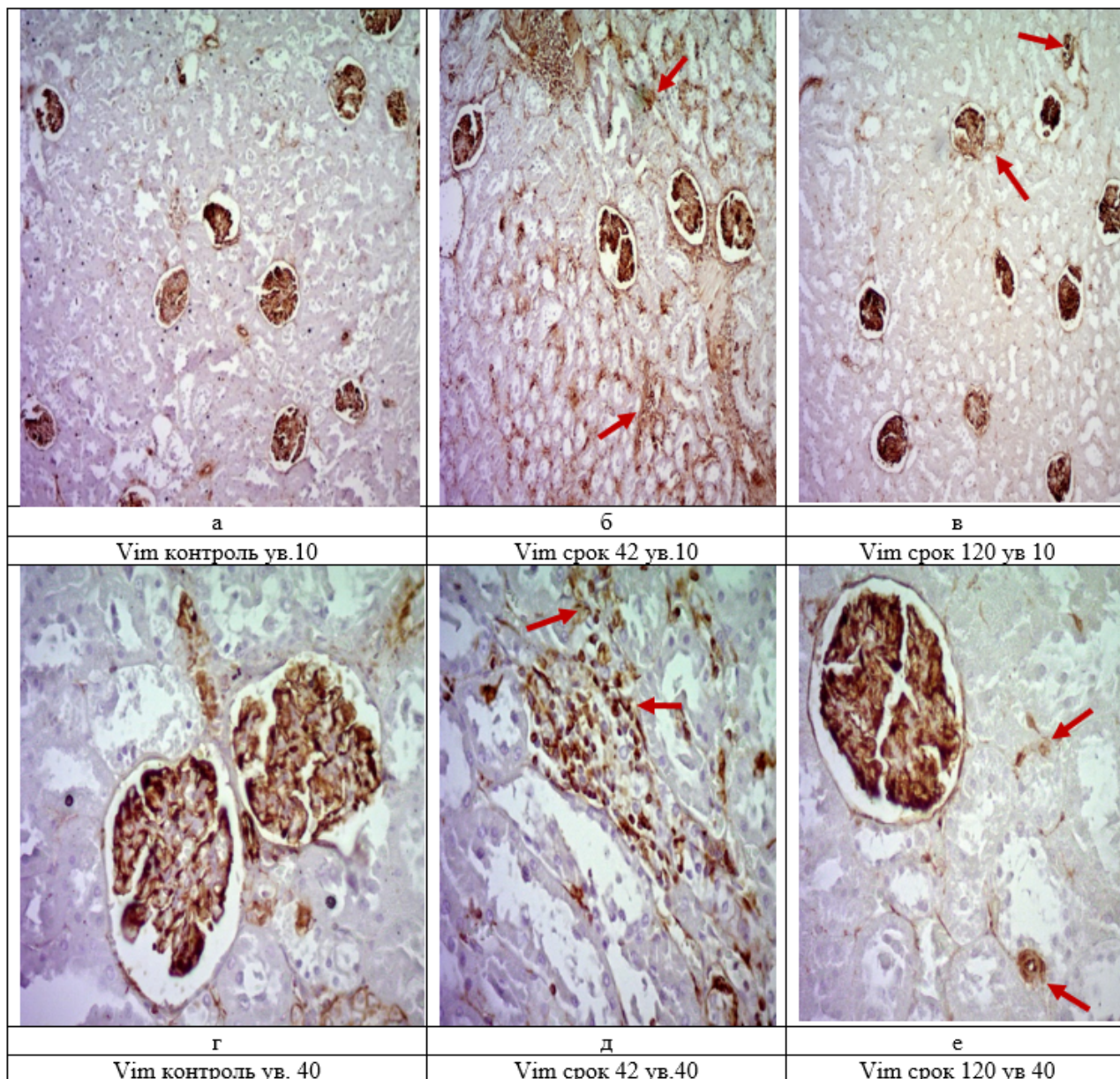


Рис. 3. Микрофотографии ткани почек с экспрессией виментина (Vim). Оптическая микроскопия. Ув. x100 (а-в), ув. x400 (г-е): а, г – группа исходного контроля; б, д – опытная группа на сроке 60 суток – ОГ1; в, е – опытная группа на сроке 120 суток – ОГ2. Окрашивание диаминобензидином и гематоксилином Майера. Стрелками указаны экспрессия Vim в эпителии канальцев, протоков и интерстиции коркового слоя почки. Инфильтрация локализуется в эпителии тубулярного аппарата. Отмечается усиление экспрессии к 120-м суткам (ОГ2), свидетельствующее о признаках эпителиально-мезенхимальной трансформации.

### Заключение

В результате проведённого экспериментального исследования установлено, что введение комбинации антибиотиков, используемой для лечения химиорезистентных форм туберкулеза, на протяжении 60–120 дней вызывает развитие прогрессирующего хронического повреждения почек у крыс.

Функциональные нарушения почек проявляются статистически значимым повышением уровня сывороточного креатинина (в 3,1 раза) и мочевины (в 2,04

раза), а также прогрессирующим снижением скорости клубочковой фильтрации, свидетельствующим о развитии хронической почечной дисфункции. Выявленные изменения могут служить биохимическим маркерами повреждения и вариантом экстраполяции на патоморфологические тканевые процессы в почках у пациентов.

Иммуногистохимическое исследование выявило, что в патогенез лекарственно-индуцированной нефропатии последовательно вовлекаются как клеточное, так и гуморальное звенья иммунитета. Это подтвержда-

ется статистически значимым увеличением числа CD3-положительных Т-лимфоцитов и CD20-положительных В-лимфоцитов в интерстиции почек, причём степень инфильтрации нарастает от 60-х к 120-м суткам, что также указывает на хроническое воспаление и высокий риск формирования хронической почечной недостаточности.

Возможным механизмом прогрессирования повреждения и развития фиброза является активация эпителиально-мезенхимального перехода, о чем говорит прогрессивное увеличение доли виментин-позитивных канальцев. Появление экспрессии виментина в тубулярном эпителии позволяет предположить фенотипическую трансформацию клеток и запуск процессов интерстициального фиброобразования.

Выявленные морфологические и иммуногистохимические изменения коррелируют с ухудшением функционального состояния почек, что может свидетельствовать о патогенетической значимости иммунного воспаления и эпителиально-мезенхимального перехода в развитии хронической лекарственно-инду-

цированной нефропатии. Полученные данные раскрывают комплексный механизм нефротоксичности при длительной антибиотикотерапии и обосновывают целесообразность поиска нефропротективных средств, направленных на подавление иммунного воспаления и предотвращение эпителиально-мезенхимальной трансформации. Перспективным направлением дальнейших исследований является изучение более специфичных маркеров фиброза (например,  $\alpha$ -SMA) и проведение корреляционного анализа между иммуногистохимическими и функциональными показателями.

#### **Конфликт интересов**

*Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи*

#### **Conflict of interest**

*The authors declare no conflict of interest*

#### **Источники финансирования**

*Исследование проводилось без участия спонсоров*

#### **Funding Sources**

*This study was not sponsored*

### ЛИТЕРАТУРА

1. Kantauskaite M., Hucke A., Snieder B., Ciarimboli G. Exacerbation of cisplatin cellular toxicity by regulation of the human organic cation transporter 2 through angiotensin II // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol.23, №24. Article number:15866. <https://doi.org/10.3390/ijms232415866>
2. Colović M.B., Krstić D.Z., Lazarević-Pašti T.D., Bondžić A.M., Vasić V.M. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology // *Curr. Neuropharmacol.* 2013. Vol.11, №3. P.315–335. <https://doi.org/10.2174/1570159X11311030006>
3. Батюшин М.М., Пасечник Д.Г., Бобылев Д.С., Уруджев А.У. Эпителиально-мезенхимальная трансформация как один из аспектов репарации почек в рамках хронической нефропатии // *Нефрология.* 2015. Т.19, №5. С.77–80. EDN: UMTAVH.
4. Mezni I., Galichon P., Mongi Bacha M., Xu-Dubois Y.C., Sfar I., Buob D., Benbouzid S., Goucha R., Gorgi Y., Abderrahim E., Ounissi M. Dahan K., Ouali N., Hertig A., Brocheriou I., Raies A., Ben Abdallah T., Rondeau É. Urinary mRNA analysis of biomarkers to epithelial mesenchymal transition of renal allograft // *Nephrol. Ther.* 2018. Vol.14, №3. P.153–161. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2017.09.002>
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Изд-во Медицина, Изд-во Шико, 2005. 826 с. ISBN: 5-225-04219-8.
6. Вайленко Д.С., Баранова В.В., Пустовой Ю.Г., Тананакина Т.П., Телешова О.В., Бургело Е.В. Патоморфологические изменения почек крыс на фоне приема различных комбинаций противотуберкулезных препаратов // *Современные аспекты морфологии, патоморфологии и онкопатологии организма человека: сборник научных статей по материалам международной научной и методической конференции.* Курск: Курский государственный медицинский университет, 2023. С.136–151. EDN: FCEFRQ.
7. Вайленко Д.С., Баранова В.В. Патоморфологические изменения почек лабораторных крыс на фоне длительного приема антибактериальных препаратов, активных в отношении микобактерии туберкулеза (препараты первого ряда) // *Актуальные проблемы биомедицины – 2023: материалы XXIX Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием.* СПб.: Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, 2023. С.45–47. EDN: SKCDTK.
8. Dobrek L.A. Synopsis of current theories on drug-induced nephrotoxicity // *Life (Basel).* 2023. Vol.13, №2. Article number:325. <https://doi.org/10.3390/life13020325>
9. Sharma V., Singh T.G. Drug induced nephrotoxicity – a mechanistic approach // *Mol. Biol. Rep.* 2023. Vol.50, №8. P.6975–6986. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08573-4>
10. Garnier A.S., Laubacher H., Briet M. Drug-induced glomerular diseases // *Therapie.* 2024. Vol.79, №2. P.271–281. <https://doi.org/10.1016/j.therap.2023.10.010>
11. Abdullah Behera M.R., Kaul A., Agarwal V., Prasad P., Prasad N., Bhadauria D.S., Patel M.R., Sharma H. The un-



10.1016/j.therap.2023.10.010

11. Abdullah Behera M.R., Kaul A., Agarwal V., Prasad P., Prasad N., Bhadauria D.S., Patel M.R., Sharma H. The unusual adverse effects of antituberculosis therapy in kidney patients. *Int. J. Mycobacteriol.* 2024; 13(2):183–190. [https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy\\_33\\_24](https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy_33_24)

12. [Tuberculosis in adults. Clinical guidelines of the Russian Federation]. 2024 (in Russian). Available at: <https://clck.ru/3MUfcb>

13. Li M.J., Liu H.Y., Zhang Y.Q., Li S.R., Zhang J.H., Li R. Global burden of chronic kidney disease and its attributable risk factors (1990–2021): an analysis based on the global burden of disease study. *Front Endocrinol. (Lausanne)* 2025; 16:1563246. <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1563246>

14. Francis A., Harhay M.N., Ong A.C.M., Tummalapalli S.L., Ortiz A., Fogo A.B., Fliser D., Roy-Chaudhury P., Fontana M., Nangaku M., Wanner C., Malik C., Hradsky A., Adu D., Bavanandan S., Cusumano A., Sola L., Ulasi I., Jha V. Chronic kidney disease and the global public health agenda: an international consensus. *Nat. Rev. Nephrol.* 2024; 20(7):473–485. <https://doi.org/10.1038/s41581-024-00820-6>

15. Galichon P., Hertig A., Trofimenko I.I. [Epithelial to mesenchymal transition as a biomarker in renal fibrosis: are we ready for the bedside?]. *Nefrologiya = Nephrology (Saint-Petersburg)* 2013; 17(4):9–16 (in Russian).

16. Jung Y.R., Yim J.H., Lee Y.J., Lee S.B., Heo S.Y., Bae S.G., Kim K.T., Kwon Y.S., Park S.J., Park J.K., Kim T.H. Decreased SMP30 expression is related with EMT in the kidneys of two Siberian tigers with CKD. *In Vivo* 2024; 38(1):226–234. <https://doi.org/10.21873/invivo.13429>

17. Miroshnikov M.V., Kovaleva M.A., Sultanova K.T. [Review of methods for determining the glomerular filtration rate in preclinical studies]. *Laboratornyye zhivotnyye dlya nauchnykh issledovaniy = Laboratory Animals for Science* 2024; 3:66–77 (in Russian). <https://doi.org/10.57034/2618723X-2024-03-06>

18. Bogdanov L.A., Shishkova D.K., Kutikhin A.G. [Different progressive hematoxylin stains for histological examination of myocardium, blood vessels, liver and spleen]. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskly zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal* 2019; 6:46–54 (in Russian). <https://doi.org/10.15372/SSMJ20190606>

19. Ramos-Vara J.A. Technical aspects of immunohistochemistry. *Vet. Pathol.* 2005; 42(4):405–426. <https://doi.org/10.1354/vp.42-4-405>

20. Dobrek L.A. Synopsis of current theories on drug-induced nephrotoxicity. *Life (Basel)* 2023; 13(2):325. <https://doi.org/10.3390/life13020325>

---

**Информация об авторах:**

**Дарья Сергеевна Вайленко**, ассистент кафедры патофизиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Луганский государственный медицинский университет имени Святого Луки» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: [daryavailencko@mail.ru](mailto:daryavailencko@mail.ru)

**Виктория Вячеславовна Баранова**, канд. мед. наук, доцент кафедры фтизиатрии, клинической иммунологии и медицинской генетики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Луганский государственный медицинский университет имени Святого Луки» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: [vbaranova2021@mail.ru](mailto:vbaranova2021@mail.ru)

**Татьяна Павловна Тананакина**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Луганский государственный медицинский университет имени Святого Луки» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: [tanaislg@mail.ru](mailto:tanaislg@mail.ru)

---

**Author information:**

**Daria S. Vailenko**, MD, Assistant of the Department of Pathophysiology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Saint Luka Lugansk State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation; [daryavailencko@mail.ru](mailto:daryavailencko@mail.ru)

**Viktoriya V. Baranova**, MD, PhD (Med.), Associate Professor of the Department of Phthisiology, Clinical Immunology and Medical Genetics, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Saint Luka Lugansk State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: [vbaranova2021@mail.ru](mailto:vbaranova2021@mail.ru)

**Tatyana P. Tananakina**, MD, PhD (Med.), DSc (Med.), Professor, Head of the Department of Physiology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Saint Luka Lugansk State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: [tanaislg@mail.ru](mailto:tanaislg@mail.ru)

---

Поступила 08.04.2026  
Принята к печати 27.05.2026

---

Received April 08, 2026  
Accepted May 27, 2026