

РОЛЬ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ПОЧЕК В ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ КРОЛИКОВ С ГИДРОНЕФРОЗОМ К НЕФРОТОКСИЧНОСТИ АМИНОГЛИКОЗИДОВ НА ПРИМЕРЕ ГЕНТАМИЦИНА¹

К. М. Бушма, М. И. Бушма²

Установлена связь между индивидуальными особенностями активности ферментов почек кроликов с гидронефрозом и степенью выраженности нефротоксичности гентамицина. Поражение почек антибиотиками в большей степени проявлялось у кроликов с исходно (до воздействия гентамицином) повышенной активностью лактатдегидрогеназы, сниженной — сукцинатдегидрогеназы, кислой фосфатазы, а также с низким содержанием рибонуклеопротеинов.

Ключевые слова: кролики с гидронефрозом, гентамицин, предрасположенность к нефротоксичности, гистохимия почек

ВВЕДЕНИЕ

Известна различная индивидуальная чувствительность почек животных и человека к повреждению аминогликозидами. При действии на животных антибиотика в одной и той же дозе тяжесть морфологических и функциональных нарушений в почках варьирует в широких пределах [5, 19].

Ранее нами показано, что к нефротоксичности гентамицина предрасположены интактные (без гидронефроза) кролики с исходно малым диаметром канальцев нефронов и клеток, выстилающих их просвет [3], низкой дыхательной активностью митохондрий клеток коркового слоя почек (преимущественно при использовании в качестве субстрата окисления пальмитоилкарнитина) [4]; повышенным содержанием в почке малонового диальдегида и активизированными реакциями его образования в НАДФН-зависимой системе, низким содержанием восстановленного глутатиона; энзимопатией супероксиддисмутазы и каталазы [5].

В настоящем исследовании оценен вклад вариабельности активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), сукцинатдегидрогеназы (СДГ), кислой фосфатазы (КФ) содержания рибонуклеопротеинов (РНП) в предрасположенность кроликов с гидронефрозом к нефротоксичности гентамицина.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на 13 кроликах-самках с исходной массой 2–3 кг. Под общей анестезией диэтиловым эфиром в стерильных условиях моделировали

гидронефроз правой почки путём наложения шёлковой лигатуры в верхней трети правого мочеточника (ограничение просвета \approx на 50%). Степень развития гидронефроза контролировали с помощью УЗИ и, в последующем, после нефрэктомии.

Через 30 дней удаляли гидронефротическую правую почку и моделировали гидронефроз единственной оставшейся левой почки как описано выше.

В криостанных срезах свежемороженого материала гидронефротической правой почки гистохимически определяли активность ЛДГ и СДГ [17], КФ [15]. Фиксированные в жидкости Карнуа парафиновые срезы почки толщиной 5–10 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. РНП выявляли с использованием галлоциана хромовых квасцов.

На основании полученных данных составляли “гистохимический паспорт” гидронефротической правой почки каждого кролика.

Через 12 дней после правосторонней нефрэктомии и начала развития гидронефроза оставшейся левой почки, моделировали её токсическое поражение гентамицином (производитель — РУП “Борисовский завод медицинских препаратов”, Республика Беларусь) — в мышцу, 60 мг/кг/день, 5 дней [13, 14].

Через 24 ч после последнего введения гентамицина из краевой вены уха брали кровь для проведения исследований. Затем кроликов выводили из эксперимента путём болюсного введения 100 мг/кг гексенала в вену. После остановки дыхания и сокращений сердца извлекали гидронефротическую левую почку и мочу из мочевого пузыря (шприцем в стерильных условиях).

Степень выраженности нефротоксичности гентамицина по отношению к единственной гидронефротической левой почке оценивали с использованием морфологических (почка — окраска гематоксилином и эозином), биохимических и клинических (моча, кровь) исследований.

В гистологических срезах почки, окрашенных гематоксилином и эозином, определяли процент некротизированных корковых (КН) и юкстамедуллярных нефронов (ЮН). В моче регистрировали содержание бел-

¹ Исследование выполнено благодаря финансовой поддержке Белорусского республиканского Фонда фундаментальных исследований при СМ РБ (грант Б98–022). Получен патент на изобретение (№ 7722 от 13.10.2005) “Способ прогнозирования индивидуальной предрасположенности к нефротоксичности гентамицина”.

² Кафедра фармакологии (зав. — проф. М. И. Бушма), анестезиологии и реанимации с курсом клинической биохимии (зав. — проф. В. В. Спас) учреждения образования “Гродненский государственный медицинский университет” МЗ Республики Беларусь, Гродно, 230009, ул. Горького, 80.

ка, в крови — содержание мочевины — уреазной реакцией с реактивами фирмы “Abbott” (США), креатинина (Яффе-кинетическим методом с реактивами фирмы “Hospitex Diagnosties”), уровень средних молекул [6].

Для нахождения связей между индивидуальными гистохимическими особенностями активности ферментов и содержания РНП в гидронефротической правой почке и характером, степенью выраженности нефротоксичности гентамицина по отношению к единственной гидронефротической левой почке использовали методы корреляционного, пошагового многофакторного регрессионного, дисперсионного (ANOVA) и канонического анализа [1, 12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что ограничение просвета мочеточника \approx на 50% путём наложения шёлковой лигатуры в его верхней трети сопровождается развитием выраженного гидронефроза. Это подтверждается УЗИ

(ослабление дыхательной подвижности почки, снижение толщины паренхимы и расширение лоханки в 2 – раза; отсутствие контуров мочеточника в верхней трети) и после нефрэктомии (застой мочи выше лигатуры с резким расширением верхней трети мочеточника и почки). Выявлена выраженная вариабельность гистохимических показателей в гидронефротической правой почке популяции кроликов (табл. 1).

Гентамицин при введении кроликам с единственной гидронефротической левой почкой оказал нефротоксическое действие, степень выраженности которого в популяции животных сильно варьирует (табл. 1).

Корреляционный анализ. Взаимосвязей между гистохимическими показателями в гидронефротической правой почке кроликов (до интоксикации гентамицином) и процентом некротизированных КН, содержанием в крови креатинина, средних молекул (после интоксикации) не установлено. Доказано, что процент некротизированных ЮН в единственной гидронефротической левой почке кроликов после интоксикации ген-

Таблица 1. Коэффициенты корреляции между гистохимическими показателями в гидронефротической правой почке кроликов до интоксикации гентамицином и показателями его нефротоксичности по отношению к единственной гидронефротической левой почке

Показатель в гидронефротической правой почке до интоксикации гентамицином (ЕД ОП · 10 ³)	Показатели нефротоксичности гентамицина по отношению к единственной гидронефротической левой почке							
	Почка (% некротизированных)		Моча			Кровь (ммоль/л)		
	КН (5,0 – 31,3)	ЮН (6,3 – 58,3)	Белок (0,1 – 3,6 г/л)	Лейкоциты (1 – 50 в п/зр.)	Эритроциты (3 – 50 в п/зр.)	Мочевина (4,6 – 16,2)	Креатинин (0,02 – 0,31)	Средние молекулы (0,23 – 0,43)
	<i>Проксимальный извитой каналец КН</i>							
ЛДГ (401,5 – 584,8)	-0,14	-0,25	-0,00	+0,18	-0,04	+0,51	-0,26	-0,13
СДГ (263,7 – 527,9)	-0,03	+0,30	-0,80	-0,38	-0,46	+0,17	-0,26	-0,25
КФ (87,7 – 336,1)	-0,36	-0,32	-0,53	-0,21	-0,34	+0,20	+0,12	+0,45
РНП (144,5 – 270,0)	+0,05	+0,12	-0,17	+0,18	-0,14	-0,17	-0,36	-0,35
	<i>Дистальный извитой каналец КН</i>							
ЛДГ (357,5 – 528,8)	+0,09	-0,12	-0,49	+0,28	-0,05	+0,80	+0,13	-0,10
СДГ (228,1 – 529,9)	-0,28	+0,02	-0,74	-0,77	-0,77	-0,14	-0,41	+0,11
КФ (71,7 – 154,0)	-0,33	-0,61	-0,35	-0,01	-0,35	+0,27	-0,03	+0,50
РНП (175,3 – 336,2)	+0,29	+0,34	-0,40	+0,25	-0,15	+0,07	-0,12	-0,57
	<i>Проксимальный извитой каналец ЮН</i>							
ЛДГ (426,6 – 523,4)	-0,19	-0,34	-0,26	-0,26	-0,28	+0,50	-0,21	+0,16
СДГ (389,4 – 507,2)	-0,25	-0,05	-0,59	-0,75	-0,87	-0,43	-0,60	+0,10
КФ (49,5 – 309,5)	-0,01	-0,20	-0,80	-0,36	-0,50	+0,51	+0,03	+0,31
РНП (127,6 – 216,4)	+0,14	+0,09	-0,70	-0,34	-0,47	+0,07	-0,41	+0,10
	<i>Дистальный извитой каналец ЮН</i>							
ЛДГ (288,6 – 530,2)	+0,18	-0,42	+0,18	+0,40	+0,12	+0,30	+0,03	+0,20
СДГ (292,1 – 490,1)	-0,31	-0,22	-0,49	-0,75	-0,78	-0,27	-0,59	+0,24
КФ (70,1 – 177,6)	-0,51	-0,74	-0,44	-0,42	-0,64	+0,35	-0,28	+0,62
РНП (170,7 – 330,5)	-0,28	-0,16	-0,60	-0,02	-0,22	+0,35	+0,20	+0,07
	<i>Дистальный прямой каналец ЮН</i>							
ЛДГ (239,2 – 443,5)	+0,15	+0,12	-0,14	+0,43	+0,34	+0,64	+0,40	-0,38
СДГ (193,1 – 335,2)	-0,57	-0,53	-0,32	-0,38	-0,49	-0,10	-0,34	+0,50
КФ (85,2 – 277,7)	+0,42	-0,09	-0,18	+0,45	+0,22	+0,19	+0,33	+0,33
РНП (195,0 – 321,6)	-0,25	-0,41	-0,31	-0,04	-0,43	+0,05	-0,33	+0,19

Примечание. В скобках — вариабельность показателей в популяции кроликов (от минимальных до максимальных значений). ЛДГ — лактатдегидрогеназа, СДГ — сукцинатдегидрогеназа, КФ — кислая фосфатаза, РНП — рибонуклеопротейны. В п/зр. – в поле зрения. КН — корковые, ЮН — юкстамедуллярные нефроны. Выделены достоверные взаимосвязи ($p < 0,05$) линейного типа.

тамицином максимален у животных с исходно низкой активностью КФ в дистальных извитых канальцах (ДИК) ЮН гидронефротической правой почки до интоксикации.

Протеинурия максимальна у животных с исходно низкой активностью СДГ в эпителии проксимальных извитых канальцев (ПИК) и ДИК КН, а также низкой активностью КФ и низким содержанием РНП в эпителии ПИК ЮН. Содержание лейкоцитов и эритроцитов в моче обратно коррелирует с низкой активностью СДГ в эпителии ДИК КН, а также ПИК и ДИК ЮН (табл. 1).

Содержание мочевины в крови этих животных максимально у кроликов с исходно высокой активностью ЛДГ в эпителии ДИК КН (табл. 1).

Пошаговый многофакторный регрессионный анализ. Установлено, что вызванная гентамицином протеинурия у кроликов с единственной гидронефротической левой почкой максимальна у животных с исходно (до воздействия антибиотиком) сниженной активностью СДГ в ПИК КН гидронефротической правой почки в сочетании с низкой активностью СДГ в ДИК КН, а также КФ в ПИК ЮН. Кроме того, протеинурия мак-

симальна у животных с низкой активностью СДГ в ДИК КН в сочетании с энзимопатией КФ в ПИК ЮН, а также низкой активностью КФ в сочетании со сниженным уровнем РНП в ПИК ЮН (табл. 2).

Содержание лейкоцитов в моче этих животных максимально у кроликов с энзимопатией СДГ в ДИК КН в сочетании со сниженной её активностью в ПИК ЮН и ДИК ЮН (табл. 2). Вызванная гентамицином гематурия максимальна у кроликов с энзимопатией СДГ в ДИК КН и ПИК ЮН, а также ПИК ЮН и ДИК ЮН (табл. 2). Взаимосвязь показателей описывается уравнениями линейной (№ 1, 5 – 8) и множественной линейной (№ 2 – 4) регрессии (табл. 2).

На рис. 1 в качестве примера приведено графическое изображение проекции на плоскость поверхности, являющейся уравнением множественной линейной регрессии (№ 2, см. табл. 2).

Дисперсионный анализ. Проверку соответствия линейной регрессионной модели экспериментальным данным осуществляли методом однофакторного анализа, приняв уровень значимости, равным 0,05 (5%). В табл. 2 приведены статистически значимые регрессионные модели, у которых значения статистики Фишера

Таблица 2. Уравнения регрессии, описывающие взаимосвязи между показателями нефротоксичности гентамицина по отношению к единственной гидронефротической левой почке и показателями в гидронефротической правой почке кроликов до интоксикации антибиотиком

Показатель нефротоксичности гентамицина (z)	Показатели до интоксикации гентамицином		Уравнение	R	F	Регрессия
	(x)	(y)				
Белок в моче	СДГ	СДГ	$z = 5,55 - 0,01x$ (1)	0,77	12,75	Линейная
	ПИК КН	ДИК КН	$z = 5,55 - 0,01x - 0,01y$ (2)	0,92	21,14	Множественная линейная
	СДГ	КФ	$z = 3,70 - 0,01x - 0,01y$ (3)	0,88	14,37	Множественная линейная
	ДИК КН	ПИК ЮН	$z = 5,01 - 0,01x - 0,01y$ (4)	0,80	11,10	Множественная линейная
Лейкоциты в моче	СДГ	СДГ	$z = 191,76 - 0,41y$ (5)	0,70	7,49	Линейная
	ДИК КН	ПИК ЮН	$z = 46,40 - 0,09x$ (6)	0,62	6,25	Линейная
	СДГ	ДИК ЮН				
Эритроциты в моче	СДГ	СДГ	$z = 58,74 - 0,1x$ (7)	0,77	13,76	Линейная
	ДИК КН	ПИК ЮН	$z = 98,23 - 0,19y$ (8)	0,76	12,16	Линейная

Примечание. Приведены статистически значимые уравнения при заданном 5% уровне значимости. R — коэффициент корреляции. F — критерий Фишера.

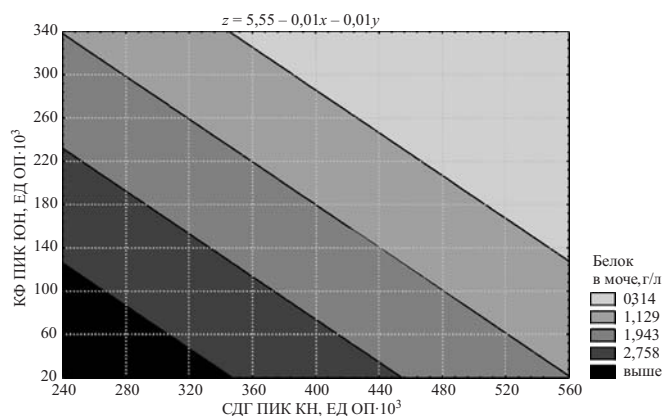


Рис. 1. Взаимосвязь между содержанием белка в моче кроликов с единственной гидронефротической левой почкой (z ; после интоксикации гентамицином), активностью сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в проксимальных извитых канальцах (ПИК) корковых нефронов (КН; x) и кислой фосфатазы (КФ) в ПИК юкстамедуллярных нефронов (ЮН; y) гидронефротической правой почки, до интоксикации гентамицином.

Степень протеинурии отражает интенсивность цвета и цифровые значения, представленные на шкале справа. Уравнение регрессии приведено над рисунком.

ра (F), превышают критические значения. Результаты анализа подтверждают гипотезу наличия линейной связи. Построенные модели адекватны экспериментальным данным с уровнем значимости $p < 0,05$. Модели информационно качественны, о чем свидетельствуют значения коэффициентов корреляции $R > 0,7$.

Канонический анализ. Для оценки степени взаимосвязи между показателями нефротоксичности гентамицина (протеинурия, лейкоцитурия, гематурия) и исходными показателями в почке (СДГ ДИК КН, СДГ ПИК ЮН) проведен канонический анализ. Показатели до введения, сильно коррелирующие между собой, не анализировали. О наличии сильной, статистически значимой корреляционной зависимости между этими двумя наборами показателей свидетельствует коэффициент канонической корреляции $R = 0,92$, ($p = 0,02$) и расположение наблюдений вдоль прямой на графике. Полученная зависимость между двумя группами показателей информационна. Она объясняет 85% изменения показателей нефротоксичности от активности СДГ в эпителии ДИК КН и ПИК ЮН, до введения гентамицина (рис. 2).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что повышенная активность ЛДГ, энзимопатия СДГ и КФ, низкое содержание РНП predispose кроликов с гидронефрозом к нефротоксичности гентамицина. Пытаясь объяснить эту закономерность, мы исходили из биологической роли изучаемых ферментов и РНП в почках.

ЛДГ локализована в цитозоле. Максимальная активность — в почках [7]. Катализирует передачу восстановленного эквивалента от лактата на НАД^+ или от НАДН на пируват:

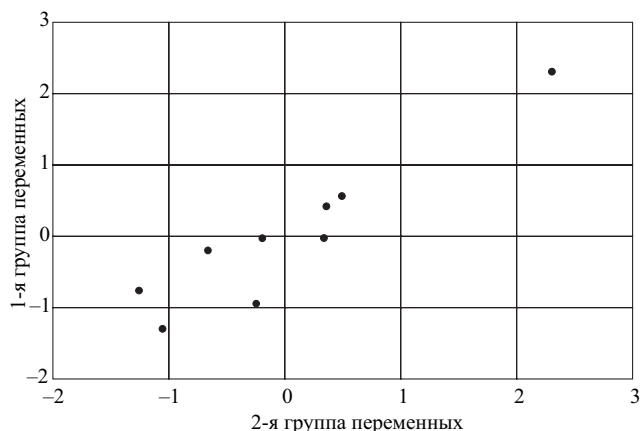
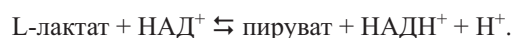


Рис. 2. Множество исследуемых кроликов в координатах 1-й и 2-й групп переменных.

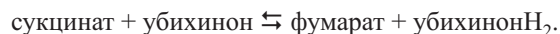
1-я группа переменных — показатели нефротоксичности гентамицина (белок, лейкоциты и эритроциты в моче). 2-я группа переменных — исходные показатели в почке (сукцинатдегидрогеназа в дистальных извитых канальцах корковых нефронов и проксимальных извитых канальцах юкстамедуллярных нефронов). Точки на графике — индивидуальный кролик.



Кроме того, фермент окисляет ряд α -гидроксикислот и восстанавливает некоторые α -кислоты [16, 18]. Обеспечивает синтез АТФ в анаэробных условиях без участия митохондриальной дыхательной цепи. В условиях гипоксии, по мере накопления лактата фермент активируется для его перевода в пируват. Таким образом, повышение активности ЛДГ свидетельствует об ускорении анаэробного гликолиза. Установлено, что активация ЛДГ в сочетании с ингибированием активности окислительно-восстановительных ферментов свидетельствует об обменных нарушениях в клетках эпителия канальцев нефронов [9].

Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что у кроликов, носителей более высокой активности фермента в почках, интенсивность анаэробного гликолиза и явления ишемии почек выражены в большей степени. Эта особенность животных predispose их в последующем к нефротоксическому действию гентамицина. Об этом свидетельствует положительная корреляционная взаимосвязь между исходной активностью ЛДГ в ДИК КН и вызываемой гентамицином гипераммониемией (табл.1).

СДГ локализована во внутренней мембране митохондрий. Катализирует реакцию:



СДГ выполняет важную роль в передаче электронов и протонов от ФАДН_2 , входящего в её состав, в митохондриальную дыхательную цепь [8]. Играет ключевую роль в энергетическом обмене клеток при гипоксии [8, 11]. При повышенных энергозатратах фермент является основным в энергообеспечении клеток [11].

В митохондриях, интенсивно нарабатывающих АТФ, его активность значительно возрастает [20].

Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что у кроликов, носителей более высокой активности СДГ в почках, проявления нефротоксического действия гентамицина будут менее выраженными. Это предположение подтверждается обратной корреляционной связью между активностью фермента в клетках эпителия: 1) ПИК КН и содержанием белка в моче, 2) ДИК КН и содержанием белка, лейкоцитов и эритроцитов в моче, 3) ПИК, ДИК ЮН и содержанием лейкоцитов, эритроцитов в моче (табл. 1).

КФ локализована в лизосомах. Катализирует реакцию отщепления неорганического фосфата от фосфорных эфиров. Оптимум рН 5,2. Установлено, что снижение её активности в клетках канальцев нефронов сопровождается нарушением внутриклеточного метаболизма и реабсорбции белка [9]. Эти данные согласуются с результатами наших исследований. Показано, что у кроликов с исходно низкой активностью КФ в ПИК ЮН зарегистрирована более выраженная протеинурия под влиянием гентамицина. Кроме того, у кроликов с энзимопатией КФ гентамицин приводит к более выраженной гибели ЮН (табл. 1, 2; рис.1).

Высокие значения РНП свидетельствуют о более интенсивном процессе синтеза белка свободными рибосомами для нужд клетки. Активация белкового синтеза, в свою очередь, вызывает увеличение основной функции канальцевого аппарата нефрона — сложного процесса мочеобразования от реабсорбции ультрафильтрата из первичной мочи до образования окончательной мочи [2, 10]. Эти данные подтверждаются также и результатами наших исследований. Показано, что у кроликов с более высоким уровнем РНП в ПИК ЮН зарегистрирована минимальная протеинурия после интоксикации гентамицином (табл. 1, 2).

ВЫВОДЫ

1. Выявлены значительные межиндивидуальные различия в активности ферментов и содержании рибонуклеопротеинов (РНП) в гидронефротической правой почке кроликов.

2. Степень нефротоксического действия гентамицина по отношению к единственной гидронефротиче-

ской левой почке в популяции кроликов значительно варьирует.

3. К нефротоксичности гентамицина предрасположены кролики с гидронефрозом с исходно (до интоксикации антибиотиком) повышенной активностью лактатдегидрогеназы, энзимопатией сукцинатдегидрогеназы, кислой фосфатазы; низким содержанием РНП.

4. Основной вклад в предрасположенность кроликов с гидронефрозом к нефротоксическому действию гентамицина вносит энзимопатия сукцинатдегидрогеназы.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Афифи, С. Эйзен, *Статистический анализ. Подход с использованием ЭВМ*, Мир, Москва (1982).
2. Р. В. Бабаханян, С. Ф. Скрижицкий, О. Д. Ягумуров, *Нефрология*, 2, 85 – 87 (1998).
3. К. М. Бушма, Л. С. Кизюкевич, М. И. Бушма и др., *Бюл. экпер. биол.*, № 11, 544 – 549 (2004).
4. К. М. Бушма, *Токсикол. вестн.*, № 6, 25 – 30 (2005).
5. К. М. Бушма, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 1, 33 – 37 (2006).
6. В. С. Камышников, *Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике*, Беларусь, Минск (2000), Т. 1.
7. В. Г. Колб, В. С. Камышников, *Клиническая биохимия (Пособие для врачей-лаборантов)*, Беларусь, Минск (1976).
8. М. Н. Кондрашева, *Терапевтическое действие янтарной кислоты*, Пушино (1976).
9. Л. В. Кузьменкова, *Врачебное дело*, № 3, 94 – 98 (1973).
10. Ю. Е. Роговий, *Одеск. мед. ж.*, № 1, 32 – 35 (2000).
11. В. А. Розанов, Ван Ван Ть, Г. Р. Герасимьяк и др., *Укр. биохим. ж.*, 63(2), 66 – 71 (1991).
12. В. Ю. Урбах, *Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях*, Медицина, Москва (1975).
13. К. А. Abu-Stephan and A. A. Abdel-Gayoum, *Arch. Toxicol.*, 75(5), 284 – 290 (2001).
14. J. I. Sr. Enziguez, M. Schydlower, K. C. O'Hair, et al., *Vet. Hum. Toxicol.*, 34(1), 32 – 35 (1992).
15. G. Gomori, *Arch. Pathol.*, 32, 189 – 199 (1941).
16. M. McQueen and J. King, *Enzyme*, 12, 523 (1971).
17. M. Nachlas, K. Tsou, E. De Soura, et al., *J. Histochem. Cytochem.* 5(6), 420 – 436 (1957).
18. D. Plummer and J. Wilkinson, *Biochem. J.*, 87, 423 (1963).
19. M. A. Sens, D. J. Hazen-Martin, and D. A. Sens, *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 23(5), 362 – 368 (1993).
20. H. S. Waagepetersen, U. Sonnewald, U. Larsson, et al., *J. Neurosci. Res.*, 57(3), 342 – 349 (1999).

Поступила 24.04.08

THE ROLE OF INDIVIDUAL FEATURES IN THE ACTIVITY OF RENAL ENZYMES IN THE SUSCEPTIBILITY OF HYDRONEPHROTIC RABBITS TO AMINOGLYCOSIDE (GENTAMICIN) NEPHROTOXICITY

K. M. Bushma and M. I. Bushma

Grodno State Medical University, ul. Gor'kogo 80, Grodno, 230009, Belarus

A correlation between the individual features of the activity of renal enzymes and the expression of aminoglycoside (gentamicin) induced nephrotoxicity is established in hydronephrotic rabbits. The level of gentamicin-induced damage of the kidney is more significant in rabbits with initially (prior to gentamicin administration) increased activity of lactate dehydrogenase, decreased activity of succinate dehydrogenase and acid phosphatase, and low content of ribonucleoproteins.

Key words: Hydronephrotic rabbits, gentamicin, susceptibility to nephrotoxicity, histochemistry of kidney