

**И.Ю.Акиншевич  
Е.Ю.Шаповалова**

ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И.Георгиевского», Симферополь

**Ключевые слова:** эмбриогенез крыс, почка, РНК, синтез белка.

Надійшла: 27.10.2011  
Прийнята: 17.11.2011

УДК: 591.3+591.424+591.461.1/2:615.372+615:616-092.4

## **СИНТЕЗ БЕЛКА КЛЕТКАМИ ОКОНЧАТЕЛЬНЫХ ПОЧЕК КРЫС, РАЗВИВАЮЩИХСЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ ИНГИБИТОРОВ АНГЕОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА И БЛОКАТОРОВ Кальциевых КАНАЛОВ, ВВОДИМЫХ БЕРЕМЕННЫМ САМКАМ**

*Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы «Закономерности пренатального и постнатального гисто- и органогенеза при типической и атипической имплантации и под влиянием медикаментозных препаратов» (номер государственной регистрации 0109U008095).*

**Резюме.** Изучено содержание РНК, как показателя синтеза белка, в цитоплазме клеток эпителиальных и мезенхимных закладок окончательных почек крыс, развивающихся в норме и под влиянием эналаприла и нифедипина. У эмбрионов крыс, матери которых получали терапевтическую, субтоксическую и токсическую дозы этих препаратов наблюдаются статистически достоверные изменения содержания РНК в цитоплазме клеток почек. Наименее существенны они после приема эналаприла и нифедипина в терапевтической дозе, и наиболее существенны – после применения субтоксической дозы эналаприла и токсической дозы нифедипина. Все дозы эналаприла и нифедипина оказывают большее влияние на содержание РНК в клетках эпителия по сравнению с таковым в клетках мезенхимных закладок. Все дозы нифедипина меньше изменяют содержание РНК в цитоплазме клеток закладок окончательных почек по сравнению с изученными дозами эналаприла.

**Морфология.** – 2011. – Т. V, № 4. – С. 20-24.  
© И.Ю.Акиншевич, Е.Ю.Шаповалова, 2011

**Akinshevich I.Yu., Shapovalova Ye.Yu. Cell protein synthesis of embryos metanephros of female rats treated by angiotensin-converting enzyme inhibitor and blokator of calcium cannals.**

**Summary.** Content of RNA molecule as marker of protein synthesis in cytoplasm of epithelial and mesenchymal cells of developing rat metanephros in norm and under influence of enalapril and niphedipin were investigated. It is determined that changes of RNA molecules contents in the cells cytoplasm of metanephros epithelial and mesenchymal derivatives under action of enalapril and niphedipin are present. Greatest changes of this substance caused by subtoxic dose of enalapril and toxic dose of niphedipin. Less changes of this substance caused by a therapeutic dose of enalapril and niphedipin. All doses of enalapril and niphedipin render greater influence on maintenance RNA in the cells of epithelium as compared to such in the cells of mesenchymal derivatives. All of doses of niphedipin cause less changes of RNA concentration in metanephros cells cytoplasm as compared to the studied doses of enalapril.

**Keywords:** embryogenesis of rats, metanephros, RNA, protein synthesis.

### **Введение**

Эмбриотоксичность лекарственных средств является мало публикуемой и мало изученной областью современной морфологии и фармакологии. В профессиональных руководствах по применению лекарственных препаратов чаще всего отмечается, что препарат не рекомендуется применять при беременности и лактации. Вместе с тем есть лекарственные средства, без которых

невозможно обойтись при беременности, которая в современном мире зачастую случается у женщин в среднем возрасте и старше среднего возраста. К таким препаратам в первую очередь относятся гипотензивные средства. В настоящее время в Украине используется Американская классификация лекарственных препаратов по безопасности для плода Food and Drug Administration (FDA, 2001). Согласно ей выделя-

ют пять категорий лекарственных препаратов. Среди современных гипотензивных средств, нет препаратов, которые относятся к категории А: абсолютно безопасных для плода. Сведения о влиянии всех пяти групп гипотензивных препаратов на плод разрозненны и редки. Отмечается, что практически все антигипертензивные препараты проникают через плаценту и потенциально способны оказывать нежелательное влияние на плод (Грацианская А.Н., Костылева М.Н., 2006; Cudo F. et al., 2007). Влияние таких препаратов на развитие почек у эмбрионов и плодов изучено крайне скудно (Ivanov S., Mikhova M., 2006), а сведения об изменениях синтеза белка в клетках при органогенезе окончательных почек отсутствуют вообще.

**Целью** нашего исследования явилось определение содержания РНК в эпителиальных клетках и клетках мезенхимы развивающихся окончательных почек крыс в норме и под влиянием эналаприла и нифедипина.

#### **Материалы и методы**

В исследовании использованы окончательные почки эмбрионов и плодов самок белых крыс породы «Вистар», полученных в семи сериях эксперимента, в возрасте с 17-х по 21-е сутки нормальной беременности и от самок, получавших терапевтическую, субтоксическую и токсическую дозу эналаприла и нифедипина. Эксперименты выполняли с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского Сообщества (86/609/ЕС) и согласно «Проведению проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Из полученного материала были изготовлены серийные парафиновые срезы толщиной 5 мкм. Обзорные препараты окрашивались гематоксилином и эозином. Интенсивность синтеза белка оценивалась по содержанию РНК в цитоплазме клеток (Альбертс Б. и соавт., 1994; Спирин А.С., 2001). Сотрудниками нашей лаборатории показано, что клетки эмбриональных тканей интенсивно синтезируют белок, как для пластических, так и метаболических целей (Бойко Т.А. и соавт., 2008; Харченко С.В., 2009). РНК в цитоплазме клеток определяли по методике Эйнарсона с применением галлоцианин-хромовых квасцов (Семченко В. В. и соавт., 2006). Интенсивность окраски цитоплазмы оценивали с помощью компьютерной программы Argeo Image Score 2008.

#### **Результаты и их обсуждение**

Окончательная почка у зародышей крыс определяется к 14-му дню эмбриогенеза. На 15-х сутках по периферии почки образуется метанефрогенная зона, в которой в это время и в последующие 16-е сутки формируются первичные почечные канальцы, свидетельствующие о начавшейся дифференцировке нефронов. Мезенхима, лежащая в области будущего мозгового

вещества представлена рыхлой тканью. На этапе пренатального развития зародышей, соответствующего 16 суткам, применение галлоцианин-хромовых квасцов дает интенсивное окрашивание серо-синего цвета цитоплазмы клеток первичных почечных канальцев и окружающей их мезенхимы, свидетельствующее о высоком содержании в них РНК. На 17-е сутки эпителиальная и мезенхимная закладки метанефроса быстро претерпевают дальнейшие изменения. Постоянная почка содержит четыре генерации ветвлений метанефритического дивертикула и происходит активное новообразование зачатков нефронов. Их плотность намного больше, чем в предыдущем возрасте. Этот процесс дифференцировки сопровождается снижением количества РНК в цитоплазме клеток мезенхимы на 41,2%, в эпителии канальцев – на 18,8%.

В течение 19-х суток пренатального развития метанефрос продолжает увеличиваться в размерах, окружен выраженной капсулой. Хорошо определяются корковое и мозговое вещество. В корковом веществе сохраняется небольшое количество метанефрогенной ткани, состоящей из плотно прилежащих клеток с круглыми ядрами и базофильной цитоплазмой. В подкапсулярной зоне располагаются зачатки нефронов четвертой генерации, преобразующиеся в S-образные структуры, являющиеся наиболее незрелыми закладками нефронов. По мере приближения к мозговому веществу располагаются все более дифференцированные генерации нефронов. Лоханка с достаточно широкой полостью. Выслана переходным эпителием, обнаруживаются эпителиальные складки. В больших и малых чашечках также появляется переходный эпителий. В метанефросе 19 суточных плодов наблюдается ослабление окраски, касающееся всех изучаемых структур. В цитоплазме клеток мезенхимы оно составляет 61,1%, эпителии канальцев – 34,7% (табл. 1).

В метанефросе плодов 21-22 суточного возраста почечные структуры плотно прилежат друг к другу. Новообразование закладок нефронов не происходит, наблюдается рост и дифференцировка уже имеющихся зачатков. Обнаруживаются нефроны четырех генераций. Незрелые нефроны четвертой генерации занимают подкапсулярное положение. Нефроны трех первых генераций намного более дифференцированные. Продолжается дифференцировка канальцев. Тонкие канальцы удлинились, глубже проникли в мозговое вещество. Собираательные трубочки более дифференцированные на этом этапе. Они широкие, состоят из призматических и кубических эпителиоцитов. В окончательной почке корковое и мозговое вещество четко разграничены. Продолжается выделение почечных пирамид и столбов. Лоханка, большие и малые чашечки высланы переходным эпителием. В лоханке

обнаруживается складчатость эпителиальной выстилки. Почка окружена снаружи хорошо сформированной капсулой. У плодов этого возраста содержание РНК продолжает снижаться (табл. 1). Наиболее выражено снижение в цито-

плазме клеток мезенхимы, где оно достигает 74,3%. Уменьшение концентрации РНК не так активно в эпителии канальцев и составляет 37,4%.

Таблица 1  
Динамика содержания РНК в процентах в цитоплазме клеток эпителия и мезенхимы окончательной почки крыс контрольной группы

	16-е сутки	17-е сутки	19-е сутки	21-е сутки	22-е сутки
Эпителий почек	100%	-18,8%	-34,7%	-36,9%	-37,4%
Мезенхима почек	100%	-41,2%	-61,1%	-70,3%	-74,3%

Изменения содержания РНК в метанефросе под влиянием терапевтической дозы эналаприла обнаруживаются уже на 17-е сутки эмбриогенеза. Количество его в клетках эпителия увеличивается по сравнению с нормой на 11,69%. В клетках мезенхимы изменения менее выражены

и увеличение количества РНК достигает всего 6,1%. Наиболее выраженные изменения в развивающемся метанефросе крыс появляются на 21-й день развития, когда происходит уменьшение содержания РНК в клетках эпителия на 90,90% (табл. 2), мезенхимы – на 8,0% (табл. 3).

Таблица 2  
Динамика содержания РНК в процентах по сравнению с контролем в цитоплазме клеток эпителия развивающихся окончательных почек крыс после введения эналаприла и нифедипина беременным самкам

Эпителий канальцев почек	Возраст зародышей в сутках		
	17-е	19-е	21-е
Контроль	100%	100%	100%
Терапевтическая доза эналаприла	+11,69	+17,90	-90,90
Субтоксическая доза эналаприла	-34,73	-42,30	-96,75
Токсическая доза эналаприла	-31,36	-32,24	-90,30
Терапевтическая доза нифедипина	+10,79	+13,86	-26,60
Субтоксическая доза нифедипина	-14,70	-28,43	-37,0
Токсическая доза нифедипина	-27,58	-38,89	-88,40

Примечание: знак «минус» означает, что содержание показателя снизилось, знак «плюс» означает, что содержание показателя увеличилось.

Таблица 3  
Динамика содержания РНК в процентах по сравнению с контролем в цитоплазме клеток мезенхимы развивающихся окончательных почек крыс после введения нифедипина и эналаприла беременным самкам

Мезенхима или эмбриональная соединительная ткань	Возраст зародышей в сутках		
	17-е	19-е	21-е
Контроль	100%	100%	100%
Терапевтическая доза эналаприла	+6,10	+10,20	-8,0
Субтоксическая доза эналаприла	-31,90	-38,41	-79,09
Токсическая доза эналаприла	-13,97	-13,7	-14,85
Терапевтическая доза нифедипина	+8,19	-0,72	-6,80
Субтоксическая доза нифедипина	-10,90	-25,09	-33,90
Токсическая доза нифедипина	-22,12	-31,7	-72,10

Примечание: знак «минус» означает, что содержание показателя снизилось, знак «плюс» означает, что содержание показателя увеличилось.

Изменения в содержании РНК в цитоплазме клеток окончательных почек под влиянием субтоксической дозы эналаприла имеют более выраженный характер. Заметные сдвиги здесь в сторону угнетения синтеза белка начинаются с

17-го дня гестации и к 21-м суткам достигают рекордного для этого препарата снижения содержания РНК в клетках эпителия на 96,75% и в клетках мезенхимы на 79,09%. Токсическая доза эналаприла не оказывает столь яркого действия

на количество РНК в клетках эпителия и мезенхимы, хотя к 21-м суткам снижение содержания РНК в клетках эпителия достигает 90,30% (табл. 2), а в клетках мезенхимы – 79,09% (табл. 3). Все дозы эналаприла оказывают большее влияние на содержание РНК в цитоплазме клеток эпителия по сравнению с таковым в клетках мезенхимных закладок.

Как показали результаты исследования, нифедипин, также как эналаприл, обладает способностью изменять содержание РНК в цитоплазме клеток эпителиальных и мезенхимных закладок окончательных почек. На 17-е сутки развития отмечается увеличение или снижение содержания РНК в эпителии (табл. 2) и мезенхиме (табл. 3), имеющее дозозависимый характер и менее выраженное в сравнении с уменьшением количества РНК в цитоплазме клеток эпителия и мезенхимы, вызванное влиянием эналаприла в соответствующий период эмбриогенеза. К 19-му дню гестации угнетение синтеза белка становится более значительным по сравнению с более ранним сроком развития и сопровождается увеличением количества РНК в цитоплазме клеток эпителия метанефроса только под воздействием терапевтической дозы нифедипина. Также при приеме беременными самками терапевтической дозы нифедипина на 21-е сутки количество РНК в клетках эпителия и мезенхимы уменьшается на 26,60% и 6,80% соответственно. Субтоксическая и токсическая дозы нифедипина угнетают синтез белка, но не так резко, как аналогичные дозы эналаприла в этом же возрасте. Менее всего страдают в этом смысле мезенхимные закладки окончательной почки, что согласуется с данными (Дорохова О.А., 2011), полученными в нашей лаборатории при изучении влияния эналаприла и нифедипина на органогенез легких.

## Выводы

1. В процессе развития эмбрионов в цитоплазме клеток эпителиальных и мезенхимных закладок окончательных почек крыс контрольной группы происходит постепенное снижение содержания РНК.

2. У эмбрионов крыс, матери которых получали исследуемые дозы эналаприла, наблюдаются статистически достоверные изменения содержания РНК в цитоплазме клеток метанефроса. Наименее существенны они в окончательных почках после приема эналаприла в терапевтической дозе, и наиболее существенны – после применения субтоксической дозы.

3. У эмбрионов крыс, матери которых получали исследуемые дозы нифедипина, наблюдаются статистически достоверные изменения содержания РНК в цитоплазме клеток окончательных почек. Наиболее существенны они в клетках метанефроса после приема токсической дозы и наименее существенны – после введения терапевтической дозы.

4. Все дозы эналаприла и нифедипина оказывают большее влияние на содержание РНК в цитоплазме клеток эпителия по сравнению с таковым в клетках мезенхимных закладок.

5. Все дозы нифедипина меньше изменяют содержание РНК в цитоплазме клеток закладок окончательных почек по сравнению с изученными дозами эналаприла.

## Перспективы дальнейших исследований

Сравнительное изучение особенностей содержания РНК в цитоплазме клеток окончательных почек эмбрионов крыс, сопоставление этих данных с особенностями углеводного обмена и гистопотографией гликополимеров способствует выяснению влияния гипотензивных препаратов на органогенез почек.

## Литературные источники

Грацианская А. Н. Терапевтическое действие ингибиторов АПФ в I триместре беременности / А. Н. Грацианская, М. Н. Костылева // Качественная клиническая практика. – 2006. – № 2. – С. 76-79.

Дорохова О. А. Закономерности изменения активности синтеза белка в эмбриогенезе легких крыс при введении некоторых гипотензивных препаратов / О. А. Дорохова // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Т. 2, Вип. 3. – С. 59-62.

Компендиум 2006 – лекарственные препараты / [под ред. В. П. Коваленко, А. П. Викторова]. – К. : Морион, 2006. – 1126 с.

Молекулярная биология клетки / [Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др.]. – [2-е изд.]. – М. : Мир, 1994. – Т.3. – 504с.

Семченко В. В. Гистологическая техника /

В. В. Семченко, С. А. Барашкова, В. И. Ноздрин. – Омск, 2006. – 289 с.

Спирин А. С. Биосинтез белков, мир РНК и происхождение жизни / А. С.Спирин // Вестник РАН. – 2001. – Т. 71, № 4. – С. 320-328.

Харченко С. В. Изменение активности синтеза белка в эмбриогенезе легких и почек крыс после введения парацетамола и нимесулида беременным самкам / С. В. Харченко // Світ медицини та біології. – 2009. – № 2. – С. 114-119.

Шаповалова Е. Ю. Особенности биосинтеза полисахаридов и волокнистого каркаса поджелудочной железой и окончательной почкой в раннем эмбриогенезе у человека при маточной имплантации / Е. Ю.Шаповалова, Т. А. Бойко, Н. И. Майструк // Таврический медико-биологический вестник. – 2008. – Т. 11, № 2, – С. 182-186.

Angiotensin-converting enzyme inhibitor fetopathy: long-term outcome. / Cudo F. Laube, Markus J. Kemper, G. Gregor Schubiger [et.al] //Arh. Dis. Child Fetal. Neonatal. – 2007. – Vol. 92. – P. 402-403.

Ivanov S. Effectiveness of antihypertensive medications in patients with preeclampsia / S. Ivanov, M. Mikhova //Akush. Ginekol. – 2006. – № 4. – P. 3-7.

**Акіншевич І.Ю., Шаповалова О.Ю. Синтез білка клітинами остаточних нирок щурів, які розвинулися під впливом інгібіторів ангіотензінперетворюючого ферменту і блокаторів кальцієвих каналів, що вводилися вагітним самицям.**

**Резюме.** Вивчений вміст РНК, як показник синтезу білка, в цитоплазмі клітин епітеліальних і мезенхімних закладок остаточних нирок щурів, що розвиваються в нормі і під впливом еналапріла і ніфедіпіна. У ембріонів щурів, матері яких отримували терапевтичну, субтоксичну і токсичну дози цих препаратів, спостерігаються статистично достовірні зміни вмісту РНК в цитоплазмі клітин нирок. Найменш істотні вони після прийому еналапріла і ніфедіпіна в терапевтичній дозі, і найбільш істотні – після вживання субтоксичної дози еналапріла і токсичної дози ніфедіпіна. Всі дози еналапріла і ніфедіпіна роблять більший вплив на вміст РНК в клітинах епітелію в порівнянні з таким в клітинах мезенхімних закладок. Всі дози ніфедіпіна менше змінюють зміст РНК в цитоплазмі клітин закладок остаточних нирок в порівнянні з вивченими дозами еналапріла.

**Ключові слова:** ембріогенез щурів, нирки, РНК, синтез білка.