

Л.М. Марченко  
Т.П. Говоруха  
М.В. Рєпін  
В.І. Строна

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини  
НАН України,  
Харків

Надійшла: 23.04.2018  
Прийнята: 26.05.2018

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.2.40-45>

УДК 615.361:615.451.1:618.46]:57.086.13:611.45.084.012.4:616.61-008.6

## ВПЛИВ ПОПЕРЕДНЬОГО ВВЕДЕННЯ КРІОЕКСТРАКТІВ ПЛАЦЕНТИ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ КЛУБОЧКОВОЇ ЗОНИ НАДНИРНИКІВ ЩУРІВ З ГОСТРОЮ НИРКОВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ

*Роботу виконано в рамках науково-дослідної теми «Дослідити морфологічні і функціональні аспекти нефропротекторної і регенераційної дії кріоекстракту плаценти при моделюванні патології нирки у щурів» (номер державної реєстрації 0116U003495).*

© Morphologia. – 2018. – Т. 12, № 2. – С. 40-45.

© Л.М. Марченко, Т.П. Говоруха, М.В. Рєпін, В.І. Строна, 2018

✉ [nvrepin@mail.ru](mailto:nvrepin@mail.ru)

**Marchenko L.M., Govorukha T.P., Repin M.V., Strona V.I. Influence of preliminary introduction of placenta cryoextracts on ultrastructure of rat's adrenal gland glomerular zone with acute renal failure.**

**ABSTRACT. Background.** When developing new available methods of restorative correction of renal function in renal insufficiency, the placenta preparations are increasingly used. The course of acute renal failure and its transformation into a chronic form significantly affects aldosterone, that is one of the links of the hypothalamic-pituitary-adrenal system. Determination of ultrastructural adrenocorticocyte changes in the glomerular zone of adrenal glands and the level of saturation of cells with lipids will allow judging the degree of this hormone secretion. The **objective** of the research was to investigate the ultrastructure of cells of adrenal cortex glomerular of rats with acute renal failure when introducing the placenta cryoextracts of allogeneic and xenogeneic origin prior to the renal pathology simulation. **Methods.** The research object were 65 white male rats aged 4 months. Animals were given with the cryoextracts of placental tissue of various origins by 0.5 ml three times a week. A week after the introduction of cryoextracts, renal insufficiency was modeled by intramuscular injection of 50% aqueous solution of glycerol in a dose of 10 ml per 1 kg body weight. Animals were divided into 3 groups: 1 - rats with the simulated renal failure; 2, 3 - rats with simulated renal failure, which were pre-administered with cryoextracts of the rat and human placenta, respectively. Animals were withdrawn from the experiment to the first, second and third week after the introduction of glycerol. The ultrastructure of the cells was examined using an electron microscope PEM-125K (Selmi JSC). **Results.** Within 3 weeks of glycerol model of an acute renal failure, regardless of the previous administration of either rat's or human placenta cryoextracts the ultrastructure of adrenocorticocytes of glomerular zone showed the signs of strengthening steroidogenesis, which were manifested by hypertrophy of endoplasmic reticulum and mitochondria, swelling of mitochondria, formation of myelin-like structures and mitochondrial vacuoles as well as tight mitochondrial complexes, endoplasmic reticulum and liposomes. **Conclusion.** The signs of increased steroidogenesis in glomerular zone of rat's adrenal cortex were most pronounced when introducing the xenogeneous cryoextracts of placenta prior to the start of pathology modeling. **Key words:** acute renal failure, adrenal gland, placenta cryoextract, ultrastructure

### Citation:

Marchenko LM, Govorukha TP, Repin MV, Strona VI. [Influence of preliminary introduction of placenta cryoextracts on ultrastructure of rat's adrenal gland glomerular zone with acute renal failure]. Morphologia. 2018;12(2):40-5. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.2.40-45>.

### Вступ

Однією з найбільш актуальних медичних проблем залишається лікування ниркової недостатності, провідним напрямом якого є розробка нових доступних методів відновної корекції функції нирок. Дані літератури свідчать про успішну апробацію при корекції ниркової патології препаратів плаценти [1, 2] та інших біологічних

об'єктів, які активізують регенерацію клітин і відновлюють порушений клітинний і тканинний гомеостаз [3]. Істотним джерелом впливу на перебіг та наслідки гострої ниркової недостатності (ГНН) є мінералокортикоїди, а особливо альдостерон, як одна з ланок гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи. Синтез альдостерону відбувається в клубочковій зоні кори наднирни-

ків. Дослідження останніх років доводять, що альдостерон впливає не тільки на дистальні канальці нирки, але і на її судинну мережу [4], а саме на скорочення клітин гладкої мускулатури судин у залежності від концентрації [5, 6]. Альдостерон також є безпосереднім тригером прозапальних процесів, що сприяє трансформації ГНН у хронічну ниркову недостатність (ХНН) [4].

Таким чином, рівень синтезу та секреції альдостерону є ефективним показником перебігу патологічного стану та маркером напрямку розвитку ушкодження нирок. Визначення ультраструктурних змін адренкортикоцитів клубочкової зони наднирників та рівня насиченості клітин ліпідами дозволить судити про ступінь секреції гормонів.

**Метою** роботи є дослідження ультраструктури клітин клубочкової зони кори наднирників щурів з ГНН при введенні кріоекстрактів плаценти аlogenного та ксеногенного походження до початку моделювання ниркової патології.

#### Об'єкт і методи дослідження

Об'єктом дослідження були 65 білих беспородних щурів вагою 180–190 г, віком 4 місяці. Тваринам вводили кріоекстракти плацентарної тканини різного походження по 0,5 мл тричі протягом тижня. Через тиждень після введення кріоекстрактів розпочинали моделювання ГНН: щурів витримували 24 години без їжі, після чого внутрішньом'язово вводили 50% водний розчин гліцеролу в дозі 10 мл на 1 кг маси тіла. Тварини були розподілені на 3 групи: 1 – щури з моделлю ГНН; 2, 3 – щури з моделлю ГНН, яким попередньо вводили кріоекстракти плаценти щура

(КПЩ) та людини (КПЛ), відповідно. Контролем були інтактні тварини, яким вводили фізіологічний розчин. Кріоекстракти виготовляли за описаним раніше методом [1]. Тварин виводили з експерименту на перший, другий та третій тижні після введення гліцеролу.

Для електронно-мікроскопічного дослідження фрагменти тканини наднирників фіксували в 3% розчині глутарового альдегіду на фосфатному буфері, та чотирьохокису осмію, містили в епон-аралит.

Ультратонкі зрізи контрастували ураніацетатом і цитратом свинцю. Ультраструктуру клітин досліджували за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К (АТ «Selmi») при прискорювальній напрузі 75 кВ.

Всі маніпуляції з тваринами проводились відповідно до закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№1759-VI от 15.12.2009), положень Європейського наукового товариства «Використання тварин в дослідженнях (2000)».

#### Результати та їх обговорення

Клубочкова зона кори наднирників інтактних тварин розташовувалася безпосередньо під капсулою у вигляді зігнутих тяжів адренкортикоцитів, плазматична мембрана яких утворювала мікроворсинки. У цитоплазмі виявлялися ліпідні краплі різної величини з гомогенною внутрішньою структурою низької електронної щільності. Вони часто контактували з мітохондріями і вакуолями гладкого ендоплазматичного ретикулума (рис. 1,а). Мітохондрії містили, в основному, пластинчасті кристи і гомогенний дрібнозернистий матрикс (рис. 1,б).

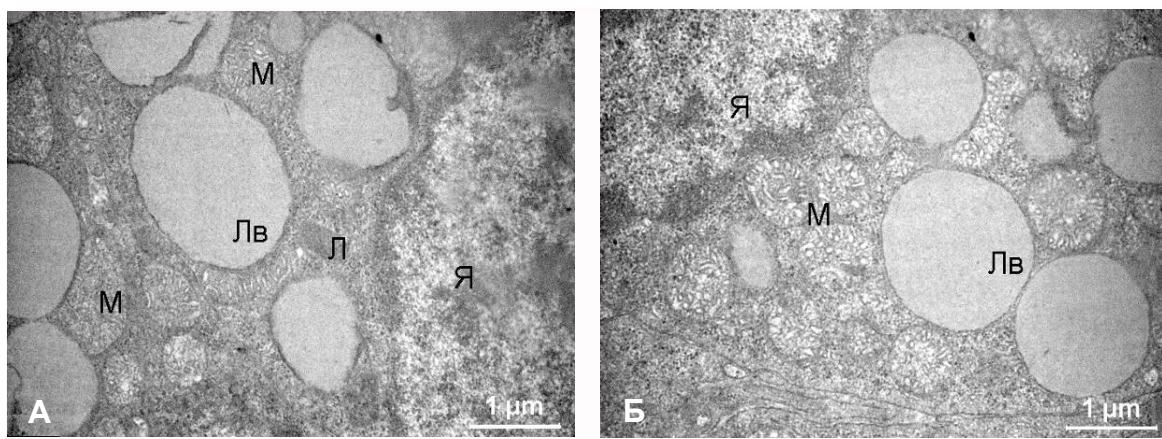


Рис.1. Ультраструктура адренкортикоцитів клубочкової зони наднирника щура в контролі: А – тісний контакт ліпідних крапель і мітохондрій; Б – мітохондрії з пластинчастими кристами: Я – ядро; М – мітохондрії; Лв – ліпідні включення; Л – лізосоми.

Ендоплазматичний ретикулум (ЕПР) представлений дрібними округлими везикулами, зовнішня мембрана яких не містила рибосом, що вочевидь відображає певний функціональний стан цих клітин або різну фазу їх секреторної

активності. Поблизу ядра розташовувався комплекс Гольджі у вигляді паралельно орієнтованих мембран, вакуолей і везикул. У цитоплазмі адренкортикоцитів виявлялися одиничні лізосоми з одношаровою мембраною і мікротільця.

На стадії ГНН «шокова нирка» через 1 тиждень після введення гліцеролу в ультраструктурі адренкортикоцитів спостерігалися зміни, які можна характеризувати як реакцію на стресову дію. У тварин з ГНН, а також при введенні аlogenного кріоекстракту плаценти в клубочковій зоні наднирників визначалися адренкортикоцити з великими ядрами, заповненими еухроматином, та крупними ядерцями. У деяких клітин відмічено глибокі інвагінації каріолеми. Поверхня адренкортикоцитів, обернена в перикапілярний простір, утворювала багаточисельні ворсинки (рис. 2). Цитоплазма клітин містила ліпосоми високої електронної щільності різних розмірів. Мітохондрії також характеризувалися щільним матриксом з пластинчастими і трубчастими кристами.

Ультраструктура адренкортикоцитів щурів з попереднім введенням КПЛ на першому тижні розвитку ГНН істотно відрізнялася від описаних вище зразків. Так клітини клубочкової зони містили ядра з переважанням гетерохроматину, ущільненою каріоплазмою і звивистим контуром (рис. 3,а). Ліпосоми цих клітин тісно контактували з мітохондріями і розширеними цистернами ЕПР. Матрикс багатьох мітохондрій був значно просвітлений, кристи частково зредуковані (рис. 3,б), що свідчило про їх помірне набрякання.

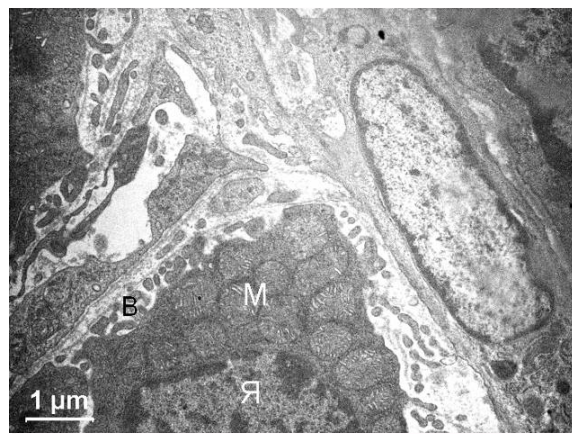


Рис. 2. Ультраструктура фрагмента клубочкової зони кори наднирника щура з попереднім введенням КПЛ (1 тиждень ГНН): Я – ядро адренкортикоцита; М – мітохондрія; В – мікроросинки.

Описані зміни можуть бути обумовлені на 1 тижні ГНН як наслідками стресу від введення гліцеролу, так і введенням кортикостероїдів у складі КПЛ.

Через 2 тижні після введення гліцеролу на олігоануричній стадії розвитку ГНН ультраструктура ядер адренкортикоцитів не змінювалася. В цитоплазмі визначалося багато вільних рибосом. У складі ліпосом виявлялися стопки елементарних мембран, а також мієліноподібні структури в центральній частині цих органел.

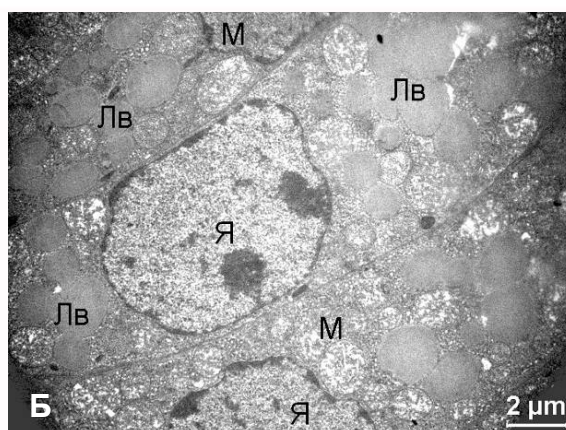
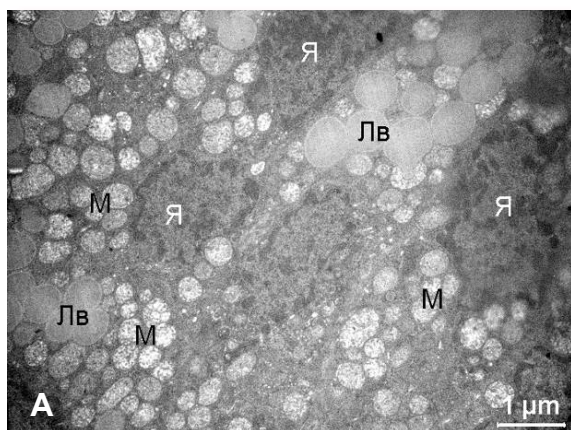


Рис. 3. Ультраструктура фрагментів клубочкової зони кори наднирника з попереднім введенням КПЛ (1 тиждень ГНН): Я – ядра адренкортикоцитів; М – мітохондрія; Лв – ліпосоми.

При попередньому введенні КПЛ адренкортикоцити мали подовжену і келихоподібну форму та ексцентрично розташовані крупні світлі ядра. У цитоплазмі клітин виявлялася велика кількість електроннопрозорих ліпосом різних розмірів. Вони щільно контактували з мітохондріями, які містили частково зредуковані пластинчасті і трубчасті кристи в просвітленому матриксі. Гладкий ЕПР був виражений слабо, в той же час виявлялося багато вільних рибосом.

У тварин з попереднім введенням КПЛ через 2 тижні розвитку ГНН також спостерігалися ультраструктурні ознаки посилення синтезу альдостерону в клітинах клубочкової зони, такі як гіпертрофія елементів комплексу Гольджі (рис. 4,а), набрякання мітохондрій, прояснення вмісту ліпосом, тісний контакт ліпосом з мітохондріями і каналцями ЕПР. Ліпосоми були оточені декількома елементарними мембранами, часто безпосередньо пов'язаними з мітохондріями та їх

кристами (рис. 4,б). Кількість ліпосом в адренокортикоцитах була зменшена. Мітохондрії були багаточисельні з просвітленим матриксом і зре-

дукованими кристами, що свідчить про напругу функціонування цих органел.

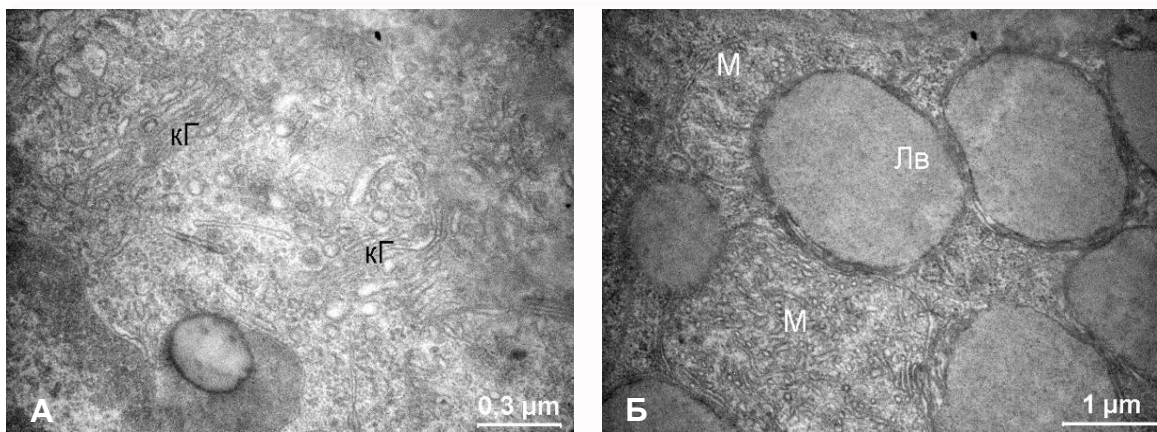


Рис. 4. Ультраструктура фрагментів адренокортикоцитів клубочкової зони кори наднирників щурів через 2 тижні після введення гліцеролу (введення КПЛ): а – гіпертрофія комплексу Гольджі; б – зв'язок мітохондрій та ліпосом: кГ – комплекс Гольджі; М – мітохондрії; Лв – ліпосоми.

Через 3 тижні після введення гліцеролу виявлялися адренокортикоцити з великими, більше 10 мкм в діаметрі, ядрами і переважанням еухроматину. У цитоплазмі клітин кількість ліпосом була велика, вони характеризувалися середньою електронною щільністю і різними розмірами

(рис. 5,а). Мітохондрії часто контактували з ліпосомами і містили пластинчасті і тубулярні кристи. Спостерігалися явища гіпертрофії мітохондрій, а також значне прояснення матриксу з гексагональною упаковкою крист (рис. 5,б).

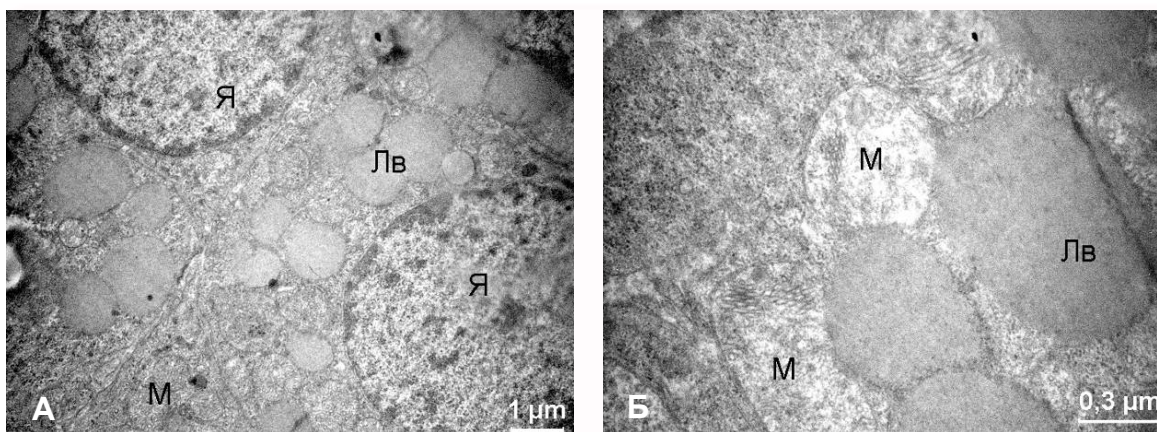


Рис. 5. Ультраструктура адренокортикоцитів через 3 тижні після введення гліцеролу: а – гетерогенність розмірів ліпосом; б – тісний контакт мітохондрій і ліпосом: Я – ядро; М – мітохондрії; Лв – ліпосоми.

У цитоплазмі виявлялися вільні рибосоми і короткі цистерни гладкого ЕПР. Кількість мікрворсинок, утворених цитолемою адренокортикоцитів у міжклітинному і перикапілярному просторах, була зменшена.

При аналізі препаратів наднирників щурів з попереднім введенням КПЩ виявлені подібні особливості ультраструктури. Відмінним виявилось збільшення кількості мікрворсин в перикапілярних просторах. В клітинах клубочкової зони спостерігалась трансформація мітохондрій (рис. 6), що виявлялося в порушенні зовнішньої і внутрішньої мітохондріальних мембран і розша-

руванні їх на декілька осміофільних шарів, а також утворення внутрішньомітохондріальних вакуолей. Такі зміни деякі дослідники інтерпретують як ознаки підвищеного функціонального стану мітохондрій [7].

При введенні КПЛ в наднирниках також виявлялися ознаки посилення стероїдогенезу. Так, в клітинах клубочкової зони спостерігалася гіпертрофія і розширення каналців ЕПР, збільшення кількості мікрворсин в міжклітинних просторах, скупчення щільних тілець в районі комплексу Гольджі.

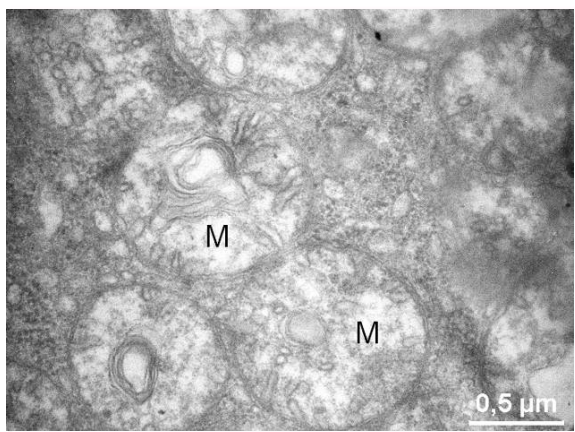


Рис. 6. Ультраструктура мітохондрій (М) адренокортикоцита клубочкової зони через 3 тижні після введення гліцеролу (введення КПЩ).

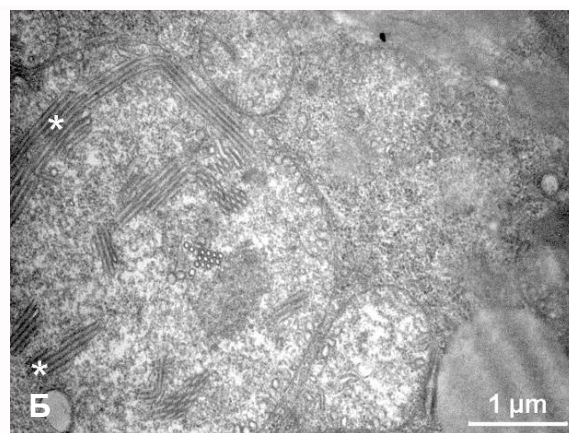
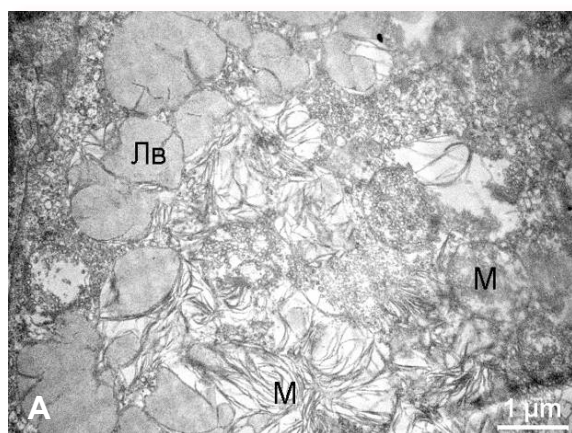


Рис. 7. Ультраструктура фрагментів адренокортикоцитів через 3 тижні після введення гліцеролу (введення КПЛ): а – трансформація мітохондрій; б – гексагональна упаковка крист (\*): М – мітохондрії; Лв – ліпосоми.

### Підсумок

В процесі розвитку ГНН від 1 до 3 тижнів після введення гліцеролу в ультраструктурі адренокортикоцитів клубочкової зони спостерігалися ознаки посилення стероїдогенезу, які виявлялися в гіпертрофії гладкого ЕПР та мітохондрій, набряканні мітохондрій, утворенні м'ялиноподібних структур і мітохондріальних вакуолей, а також потрійних комплексів мітохондрій, ЕПР та ліпосом. Ці зміни ультраструктури були найбільш виразними при введенні ксеногенного

кріоекстракту плаценти до початку моделювання ГНН.

### Перспективи подальших досліджень

Одержані дані свідчать про необхідність подальших поглиблених досліджень механізмів впливу біоактивних речовин кріоекстракту плаценти на різні ланки патологічного процесу в нирках при розвитку хронічної ниркової недостатності у порівнянні з традиційними методами лікування.

### Літературні джерела References

1. Yurchenko TN, Kondakov II, Strona VI. Renal effects following introduction of cryopreserved placental extract on the background of experimental renal failure. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2014;24(1):75-8.
2. Yurchenko TN, Govorukha TP, Marchenko LN, Kondakov II, Repin NV. [Ultrastructure and functional peculiarities of rat kidney

1. during modelling of toxic acute nephrotonia]. *Experim I Klin Medytsyna.* 2012;56(3):49–53. Ukrainian.
3. Goltsev AN, Yurchenko TN, editors: Placenta: cryokonservirovanie, klinicheskoe primenenie [Placenta: cryopreservation, clinical application]. Kharkiv: FOP Brovin A.V.; 2013. 318 p. Russian.
4. Schiffrin EL. Effects of aldosterone on

the vasculature. Hypertension. 2006;47:312-8.

5. Arima S, Kohagura K, Xu HL, Sugawara A, Abe T, Satoh F, Takeuchi K, Ito S. Nongenomic vascular action of aldosterone in the glomerular microcirculation. J Am Soc Nephrol. 2003;14:2255-63.

6. Gros R, Ding Q, Armstrong S, O'Neil C, Pickering JG, Feldman RD. Rapid effects of aldosterone on clonal human vascular smooth mus-

cle cells. Am J Physiol Cell Physiol. 2007;292:788-94.

7. Gordienko V.M., Kozyrsky V.G.: Ultrastruktura gelez endokrinnoi sistemi [Ultrastructure of endocrine system glands]. Kiev: Zdorovie; 1978. 288 p. Russian.

8. Rhodin J. The ultrastructure of the adrenal of the rat under normal and experimental conditions. J Ultrastruct Res. 1971;34:23-71.

**Марченко Л.М., Говоруха Т.П., Рєпін М.В., Строна В.І. Вплив попереднього введення кріоекстрактів плаценти на ультраструктуру клубочкової зони наднирників щурів з гострою нирковою недостатністю.**

**РЕФЕРАТ.** Однією з найбільш актуальних медичних проблем залишається лікування ниркової недостатності, провідним напрямом якого є розробка нових доступних методів відновної корекції функції нирок. Дані літератури свідчать про успішну апробацію при корекції ниркової патології препаратів плаценти та інших біологічних об'єктів, які активізують регенерацію клітин і відновлюють порушений клітинний і тканинний гомеостаз. Визначення ультраструктурних змін адренкортикоцитів клубочкової зони наднирників та рівня насиченості клітин ліпідами дозволить судити про ступінь секреції гормонів. Метою роботи було дослідження ультраструктури клітин клубочкової зони кори наднирників щурів з гострою нирковою недостатністю при введенні кріоекстрактів плаценти алогенного та ксеногенного походження до початку моделювання ниркової патології. Об'єктом дослідження були 65 білих беспородних щурів. Тваринам вводили кріоекстракти плацентарної тканини різного походження. Для моделювання гострої ниркової недостатності внутрішньом'язово вводили 50% водний розчин гліцеролу в дозі 10 мл на 1 кг маси тіла. Ультраструктурне дослідження проводили за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії. Протягом 3 тижнів розвитку гліцеролової моделі гострої ниркової недостатності незалежно від попереднього введення кріоекстрактів плаценти щура або людини в ультраструктурі адренкортикоцитів клубочкової зони спостерігалися ознаки посилення стероїдогенезу, які виявлялися в гіпертрофії ендоплазматичного ретикулума та мітохондрій, набряканні мітохондрій, утворенні м'єліноподібних структур і мітохондріальних вакуолей, а також тісних комплексів мітохондрій, ендоплазматичного ретикулума та ліпосом.

**Ключові слова:** гостра ниркова недостатність, наднирники, кріоекстракт плаценти, ультраструктура.

**Марченко Л.Н., Говоруха Т.П., Рєпін Н.В., Строна В.И. Влияние предварительного введения криоэкстрактов плаценты на ультраструктуру клубочковой зоны надпочечников крыс с острой почечной недостаточностью.**

**РЕФЕРАТ.** Одной из наиболее актуальных медицинских проблем остается лечение почечной недостаточности, ведущим направлением которого является разработка новых доступных методов восстановительной коррекции функции почек. Данные литературы свидетельствуют об успешной апробации при коррекции почечной патологии препаратов плаценты и других биологических объектов, активизирующих регенерацию клеток и восстанавливающих нарушенный клеточный и тканевой гомеостаз. Определение ультраструктурных изменений адренкортикоцитов клубочковой зоны надпочечников и уровня насыщенности клеток липидами позволит судить о степени секреции гормонов. Целью работы было исследование ультраструктуры клеток клубочковой зоны коры надпочечников крыс с острой почечной недостаточностью при введении криоэкстрактов плаценты аллогенного и ксеногенного происхождения до начала моделирования почечной патологии. Объектом исследования были 65 белых беспородных крыс. Животным вводили криоэкстракты плацентарной ткани различного происхождения. Для моделирования острой почечной недостаточности внутримышечно вводили 50% водный раствор глицерола в дозе 10 мл на 1 кг массы тела. Ультраструктурное исследование проводили с помощью трансмиссионной электронной микроскопии. На протяжении 3 недель развития глицероловой модели острой почечной недостаточности независимо от предварительного введения криоэкстрактов плаценты крысы или человека в ультраструктуре адренкортикоцитов клубочковой зоны коры надпочечников наблюдались признаки усиления стероидогенеза, проявлявшиеся в гипертрофии эндоплазматического ретикулума и митохондрий, набухания митохондрий, образовании миелиноподобных структур, митохондриальных вакуолей, а также тесных комплексов митохондрий, эндоплазматического ретикулума и липосом.

**Ключевые слова:** острая почечная недостаточность, надпочечники, криоэкстракт плаценты, ультраструктура.