

УДК 616-09.9+611.611+616.61+616-089.583.29

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ФІЛЬТРАЦІЙНОГО БАР'ЄРУ НИРОК ДОРΟΣЛИХ ЩУРІВ У РАННІ ТЕРМІНИ ПІСЛЯ ВПЛИВУ ЗАГАЛЬНОЇ ГЛИБОКОЇ ГІПОТЕРМІЇ

О.В. Баскевич
Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ

В ранні терміни (на висоті впливу і 3 добу) після впливу загальної глибокої гіпотермії в структурних компонентах ниркових тілець (судинному клубочку, приносних і виносних артеріолах, клубочковій капсулі та юктагломерулярних клітинах) виявляються реактивно-набрякові зміни, що проявляється пригніченням екскреторної функції нирок у дорослих щурів.

Ключові слова: загальна глибока гіпотермія, нирки, фільтраційний бар'єр, щурі.

Робота пов'язана з плановою науково-дослідною роботою кафедри анатомії людини Івано-Франківського національного медичного університету «Морфофункціональний стан мікроциркуляторного русла (МЦР) і клітинних елементів органів і тканин після дії загальної глибокої гіпотермії» (номер держреєстрації 0103U00941).

Порушення фільтраційного бар'єру нирок при загальній гіпотермії, незважаючи на значні досягнення у вивченні етіології і патогенезу, профілактики та лікування, продовжує залишатися однією з найбільш актуальних медичних проблем [2, 5, 7]. Немаловажними залишаються ускладнення, які виникають при нирковій недостатності внаслідок переохолодження [1, 3, 5].

Однак, незважаючи на це, в науковій літературі практично немає однозначних даних про вплив загальної гіпотермії на функціональний та морфологічний стан нирок і порушення фільтраційного бар'єру в різні періоди онтогенезу. З приводу останнього треба наголосити, що одні дослідники не виявили якого-небудь пригнічуючого впливу гіпотермії на становлення морфології та функції нирок у молодому віці [1], інші спостерігали його порушення лише в старечому віці [1, 5, 6]. З врахуванням того, що гіпотермія є одним з найбільш значимих для людини і тварин патологічних чинників, які приймають участь в регуляції більшості процесів життєдіяльності, можна передбачити, що її вплив повинен приводити до серйозних порушень, в тому числі до зміни структури і функції нирок на різних етапах онтогенезу [7]. Тому існує необхідність більш детального, в даному випадку експериментального, вивчення впливу гіпотермії на становлення фільтраційного бар'єру в різні вікові періоди, що й дозволило нам сформулювати актуальність даної проблеми.

Метою роботи було вивчення впливу загальної глибокої гіпотермії (ЗГГ) на морфологічний і функціональний стан нирок у статевозрілих щурів.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проведені на 16 статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar середньою масою 220-250 г., яких поміщали в холодову камеру до досягнення ректальної температури +12-+14°C, що відповідає температурним рамкам загальної глибокої гіпотермії. Тварин в період дослідження утримували на стандартному раціоні в умовах вільного доступу до води та їжі. Досліджували морфологічні особливості і морфометричні показники складових компонентів фільтраційного бар'єру нирок, спонтанний діурез з вивченням вмісту сечовини і креатиніну в сечі. Для встановлення спонтанного діурезу тварин утримували в спеціальних клітках без обмеження рухової активності. Забір матеріалу проводили зразу після загального охолодження і через 3 дні. Тканину нирок фіксували в 12% нейтральному формаліні, а для електронномікроскопічного дослідження – в 1% розчині тетраоксиду осмію. Гістологічні зрізи фарбували гематоксилін-еозином. Вимірювання різних структур ниркового тільца проводили на панорамних мікрофотографіях формату *.tif за допомогою програми "Bio Vision 4". Отримані цифрові дані підлягали статистичній обробці параметричним методом з визначенням t-критерію Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Зразу ж після впливу загальної глибокої гіпотермії в більшості ниркових тілець виявляється звуження просвіту приносної і виносної клубочкових артеріол та капілярів клубочка, набряк ендотеліоцитів і міоцитів. Спостерігається набряк і мезангіоцитів, поміж якими накопичується незначна кількість рідини. У

порівнянні з нормою, площа ниркового тільця, судинного клубочка та просвіту клубочкової капсули зменшуються відповідно на 15,0%, 20,0% і 17,0% (табл. 1).

Таблиця 1

Морфометричні показники ниркових тілець у статевозрілих щурів (M±m; n=30)

Показники	Термін, доба		
	норма	Зразу ж після впливу ЗГГ	3
S ниркового тільця, мкм ²	3968,0±112,3	3372,8±103,6	3203,4±101,3
S капілярного клубочка, мкм ²	3243,0±106,5	2594,4±96,7	2308,6±87,9
S просвіту капсули нефрона, мкм ²	725,0±32,9	601,7±29,4	564,9±27,8
Діаметр просвіту, мкм			
Аферентної артеріоли	8,61±0,25	7,43±0,23	6,21±0,20
Еферентної артеріоли	5,38±0,12	4,21±0,10	3,42±0,10
S середньої оболонки, мкм ²			
Аферентної артеріоли	168,33±7,51	227,98±10,21	296,71±10,68
Еферентної артеріоли	85,34±1,98	109,15±3,22	166,23±3,89

Діаметр просвіту аферентної та еферентної артеріол звужується відповідно на 13,7% і 21,7%, при цьому площа середньої оболонки збільшується відповідно на 35,4% і 27,9% (P<0,05). На ультраструктурному рівні безпосередньо після загального охолодження виявляється зниження електроннооптичної щільності цитоплазми ендотеліоцитів, міоцитів, мезангіоцитів, подоцитів і юстагломерулярних клітин кінцевого відділу приносячої артеріоли. Ядра цих клітин містять велику кількість інвагінацій і химерної форми випинань, нуклеоплазма має низьку електронну щільність з концентрованим на периферії грудочковим хроматином. Цистерни комплексу Гольджі та ендоплазматичної сітки розширюються, зменшується кількість вільних і фіксованих рибосом, просвітлюється матрикс, дезорієнтуються і частково руйнуються кристи мітохондрій. Такі зміни мембранних органел клітин є морфологічною ознакою пригнічення енерго- і біосинтезуючих процесів [6, 7].

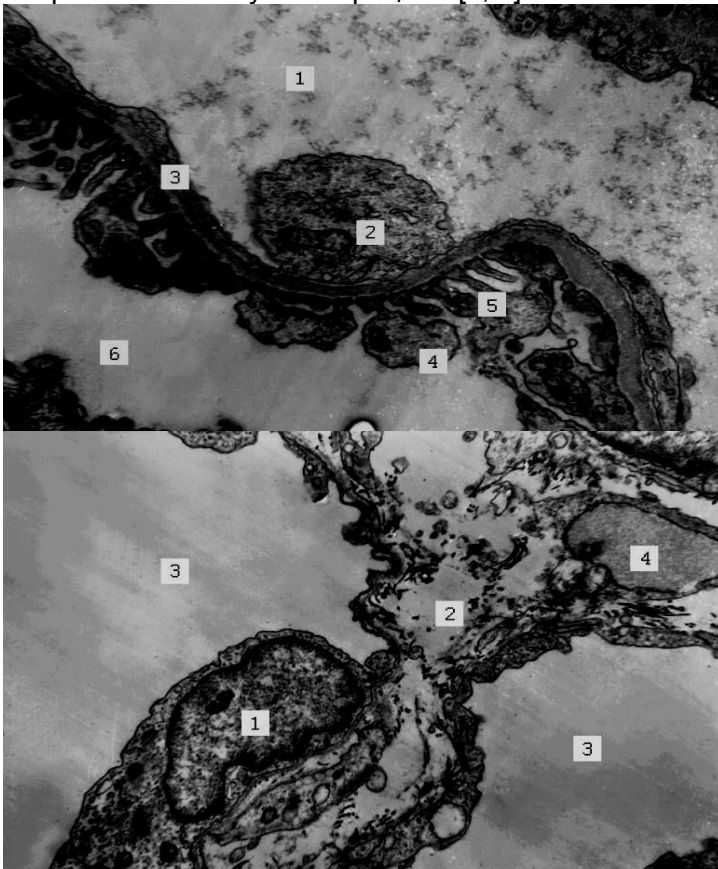


Рис. 1. Ультраструктурна організація фільтраційного бар'єру нирки щура безпосередньо після дії загальної гіпотермії. 1– просвіт капіляра, 2 – ендотеліоцит, 3 – базальна мембрана, 4 – цитоплазма подоцита, 5 – псевдоподії, 6 – просвіт капсули клубочка. Зб.: x 7000.

Рис. 2. Ультраструктура ниркового клубочка щура на 3 добу після гіпотермії. 1 – ядро ендотеліоцита, 2 – базальна мембрана, 3 – просвіт капіляра, 4 – ядро мезангіоцита. Зб.: x 8000.

Цитоподії подоцитів деформуються, між ними зменшуються проміжки. У ендотеліоцитах піноцитозні пухирці групуються вздовж їх люменальної поверхні, що свідчить про порушення мікропіноцитозного транспорту. У просвіті клубочкових капілярів виявляються еритроцитарні складжі. Цитоплазма юстагломерулярних клітин містить незначну кількість гранул електроннощільного матеріалу, що є свідченням їх звільнення від реніну під впливом ішемії [7].

Базальна мембрана капілярів потовщується, має меншу електронну щільність і підвищену складчастість, втрачає правильну 3-ох контурну будову, розволокнюється (рис. 1). В цей термін діурез зменшується до $11,8 \pm 0,8$ мл/год/100г, що становить 72,4% від таких показників у нормі. В сечі, порівняно з нормою, визначається на 12,3% менша концентрація сечовини і на 3,4% креатиніну ($P < 0,05$).

На 3-ю добу після дії холодового фактору спазм приносних і виносних клубочкових артеріол поглиблюється, в їх просвіті виявляються класичні еритроцитарні сладжі. Внутрішня еластична мембрана має нерівномірні, гофроподібні складки, на їх верхівках видно поодинокі вакуолізовані ендотеліоцити, іноді вони злуцуються у просвіт судини. Така десквамація ендотеліоцитів спостерігається при дії різних стресових факторів (гіпотермія і гіпертермія, психо-емоційні реакції, фізичне перенавантаження тощо) і є неспецифічним явищем [1, 2, 3, 4]. В нирковому клубочку виявляється велика кількість плазматичних капілярів, ендотеліоцити яких мають просвітлену цитоплазму і гіпохромні ядра. Подібні морфологічні зміни стосуються і подоцитів. У порівнянні з попереднім терміном, площа ниркового тільця, судинного клубочка та просвіту клубочкової капсули зменшується відповідно на 5,0%, 11,1% і 6,1% (див. табл. 1). При цьому площа середньої оболонки аферентної та еферентної артеріол збільшується відповідно на 30,1% і 52,3% ($P < 0,05$), а діаметр їх просвіту звужується на 16,4% і 18,7% і супроводжується зниженням ефективного фільтраційного тиску у судинному клубочку [4]. Електронномікроскопічно на 3-ю добу після дії холодового фактору у просвіті приносних артеріол та окремих клубочкових капілярів спостерігаються еритроцитарні сладжі, а в окремих із них зовсім відсутні формені елементи крові (рис. 2).

Ендотеліоцити клубочкових капілярів збільшуються за розмірами, форма і контури ядер різноманітні, каріолема має значну кількість маргінальних інвагінацій. Цитоплазма низької електроннооптичної щільності, в її периферичній частині спостерігаються збільшені пори і підвищена кількість мікропіноцитозних пухирців. Мітохондрії мають просвітлений матрикс і переважну більшість фрагментованих крист. У структурах комплексу Гольджі виявляються великих розмірів вакуолі і пухирці. Значна частина цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки вакуолізується, руйнуються їх мембрани, на їх поверхні зменшується кількість фіксованих рибосом. Базальна мембрана клубочкових капілярів потовщується, просвіт-люється і розволокнюється. Цитоподії подоцитів втрачають чіткі контури і місцями зливаються між собою, що приводить до порушення структури і функції фільтраційних щілин [6, 7]. Ядра подоцитів збільшуються за розмірами, хроматин розташовується маргінально.

Цитоплазма подоцитів набуває низької електроннооптичної щільності, вакуолізується, містить фрагментовані структури гранулярної ендоплазматичної сітки, мітохондрій та комплексу Гольджі. Дрібних розмірів вакуолі розташовуються і в окремих цитоподіях цих клітин. При цьому у просвіті капсули клубочка виявляються конгломерати дрібнодисперсних білків. Цитоплазма юкстагломерулярних клітин також просвітлюється, містить частково зруйновані цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки, частково або повністю вивільнюється від електроннощільних гранул реніну, що добре корелює з морфометричними показниками величини просвіту судин і вказує на безпосередній вплив місцевих біологічно активних речовин на підсилення судинного тонуусу [2, 6].

Наслідком спазму артерій і редукції ниркового кровотоку є зменшення у цей термін діурезу. Він знижується у порівнянні з попереднім терміном на 14,5% і становить $10,08 \pm 0,8$ мл/год/100 г, складаючи тільки 57,9% від норми ($P < 0,05$). Поряд з цим, на 17,9% і 4,7% ($P < 0,05$) зменшується концентрація в сечі сечовини і креатиніну. Виявлені відмінності, безсумнівно, свідчать про існування „холодової дегенерації” структурних елементів нирки, яка з часом посилюється [2, 8].

Підсумок

Наслідком загальної глибокої гіпотермії в ранні терміни є реактивно-набрякові зміни структурних компонентів фільтраційного бар'єру, приносних і виносних артеріол та юкстагломерулярних клітин нирок, що проявляється пригніченням їх екскреторної функції.

Перспективи подальших досліджень в даному напрямку передбачають вивчення закономірностей змін фільтраційного бар'єру нирок в залежності від віку.

Література

1. Ачкасова В. В. Реактивность кровеносных сосудов у больных хронической болезнью почек: автореф. дис. на соискание учёной степени канд. мед. наук: спец. 14.00.16; 14.00.05) / В. В. Ачкасова. – СПб., 2008. – 23 с.
2. Баринев Е. Ф. Морфофункциональный стан нирок тварин після важкої термічної травми / Е. Ф. Баринев, І. В. Карасьов // Матеріали I Всеукр. наукової конф. “Карповські читання”. – Дніпропетровськ, 18-21 травня 2004 р.: зб. статей. – Дніпропетровськ, 2004. – С. 6–7.
3. Джиоев И. Г. Некоторые особенности функции и морфологии почек крыс в условиях различных моделей экспериментальной почечной недостаточности / И. Г. Джиоев, А. М. Фидарова // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – Т. 15, № 1. – С. 38–39.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. чл.-кор. АМН України Стефанова О. В. – К.: Вид.дім Авіцена, 2001. – 528 с.
5. Перов Ю. Л. Тубулоинтерстициальная патология почек / Ю. Л. Перов // Архив патологии. – 2008. – №1. – С. 13 – 17.
6. Фидарова А. М. Некоторые морфологические и функциональные особенности почек в условиях острой почечной недостаточности / А. М. Фидарова // Тезисы докладов VI конференции молодых ученых СОГМА. – Владикавказ, 2007. – С.116–117.
7. Фидарова А. М. Морфологические и функциональные изменения почек при экспериментальной острой почечной недостаточности у крыс / А. М. Фидарова, Т. Р. Бораздова, Л. А. Акоева // Мат- лы межвузовской науч. конф. «Фундаментальные проблемы морфологии». – Махачкала, 2007. – С.81–84.
8. Bledsoe G. Reversal of renal fibrosis, inflammation, and glomerular hypertrophy by kallikrein gene delivery / G. Bledsoe, B. Shen, Y. Yao // Hum. Gene Ther. – 2006. – Vol. 17. – P. 545–555.

Реферати

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФИЛЬТРАЦИОННОГО БАРЬЕРА ПОЧЕК ВЗРОСЛЫХ КРЫС В РАННИЕ СРОКИ ПОСЛЕ ВЛИЯНИЯ ОБЩЕЙ ГЛУБОКОЙ ГИПОТЕРМИИ

Баскевич О.В.

В ранние сроки после влияния общей глубокой гипотермии в структурных компонентах почечных телец наблюдаются реактивно-отечные изменения, которые проявляются подавлением экскреторной функции почек у взрослых крыс.

Ключевые слова: гипотермия, почки, фильтративный барьер, крысы.

Стаття надійшла 6.12.09.

MORPHOFUNCTIONAL CHANGE OF FILTRATION BARRIER OF OF MALE RATS IN EARLY TERMS AFTER INFLUENCE OF GENERAL DEEP HYPOTHERMIA

Baskevych O.V.

Influence of general hypothermia is studied on the state of lauter barrier of kedney of the mature age rats. It is rotined that a cooling factor violates morpho-functional properties of kidney the expressed of which is increased with age substantially. Comes into a question separate mechanisms of violation of lauter ability of kedney.

Key words: hypothermia, kidney, rats, ontogenesis.

УДК: 543.544-612.015.21-616-003.96

МОЛЕКУЛЯРНО-МАССОВОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕПТИДОВ В ЭКСТРАКТАХ ТКАНЕЙ R. RIDIBUNDA ПОСЛЕ ПРЕБЫВАНИЯ В РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ УСЛОВИЯХ.

И.В. Белочина, А.Ю. Семенченко, И.П. Михайлова, Л.Н. Тынныка, Б.П. Сандомирский, Институт проблем криобиологии и криомедицины ИАН Украины, г. Харьков

Анализ экстрактов тканей R. ridibunda методом высокоэффективной гельпроникающей хроматографии показал, что 3-х месячное пребывание животных при +4°C (режим 1), 24 часа при +20°C (режим 2) и 3 сеанса при –3°C на протяжении 5 часов с возвращением к температуре +4°C (режим 3) влияют на пептидный состав экстрактов тканей. Часть низкомолекулярных пептидов не определяется в экстрактах после охлаждения в режиме 3.

Ключевые слова: водно-солевой экстракт, белково-пептидный состав, хроматограмма.

Публикация связана с научно-исследовательской работой по теме: «Получение водно-солевых экстрактов из тканей R. ridibunda и изучение возможностей их использования в средах для криоконсервирования клеток» (№ государственной регистрации 0106U002168).

Холоднокровные позвоночные, которые вынуждены зимой выдерживать субнулевые температуры, имеют разные стратегии холодовой устойчивости и могут быть разделены на