

УДК: 611.018.1:612.465.1:57.087:616.441-008.64-036.1
 © Кузьменко Ю.Ю., 2011

МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ ЗМІН ПОДОЦИТІВ НИРОК В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОГО ГІПОТИРЕОЗУ

Кузьменко Ю.Ю.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця

Вступ. Важливу роль у фільтраційному процесі нирок відіграють подоцити – високо-спеціалізовані клітини, які мають крупне тіло з багаточисельними, різного розміру відростками – цитотрабекулами та цитоподіями [1]. В тілі клітин та їх цитотрабекулах продукуються більшість компонентів гломерулярної базальної мембрани (ГБМ) та різні судинні фактори росту [2]. Цитоподії зв'язують інші частини подоцитів з гломерулярною базальною мембраною та утворюють клітинні з'єднання у вигляді щільних діафрагм [3]. Щільні діафрагми (ЩД) приймають участь в клубочковій фільтрації, обмежуючи проходження протеїнів плазми в сечовий простір як фільтр, що обмежує розмір. Їх ширина змінюється при підвищенні або зниженні тиску крові [4].

При дії патологічних чинників, що призводять до розвитку альбумінурії, подоцити розглядаються як одна з центральних мішеней [5]. При цьому зниження діурезу, затримка рідини і натрію в організмі, протеїнурія є клінічними проявами гіпотиреозу [6]. Тому метою нашого дослідження було проведення порівняльного аналізу якісних та кількісних змін подоцитів в нирках щурів на різних стадіях розвитку післяопераційного гіпотиреозу.

Матеріал та методи дослідження. Матеріалом дослідження були нирки статевозрілих щурів: 5 контрольних та 10 тварин, у яких методом видалення щитоподібної залози створювалася модель гіпотиреозу. Досліди проводилися згідно умов утримання та використання лабораторних тварин. З експерименту тварин вилучали через 50 та 100 діб після операції. В ці ж періоди, іму-

ноферментним методом визначали рівень вільного тироксину в плазмі крові піддослідних тварин.

Кіркова частина нирки після подріблення фіксувалася у 2,5 % розчині глютарового альдегіду на фосфатному буфері з наступною дофіксацією в 1 % розчині OsO₄. Зневоднювання матеріалу та заключення його у суміш епоксидних смол проводилися згідно загально прийнятої методики. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультратомі LKB-III, після контрастування вивчалися та фотографувалися на електронному мікроскопі ПЕМ-125 К.

Морфометричний аналіз проведений на основі стереологічних показників, які дозволяють об'єктивно характеризувати зміни в подоцитах. Об'ємна, кількісна щільність, площа фактор форми цитотрабекул та цитоподій визначалися за допомогою програми "Органела" на напівавтоматичному пристрої обробки графічних зображень. Показники кількісної щільності, довжини ЩД та відсотку ГБМ, зайнятої ЩД отримані на електронному мікроскопі ПЕМ-125К з використанням програми "KAPPA Image Base Metreo 2.7.2". Отриманий цифровий матеріал оброблявся за допомогою програми Statistica for Windows 6.0 (Microsoft Corporation, USA). Оцінка наявності або відсутності значущих відмінностей поміж вибірок, що порівнювалися, здійснювалася за параметричним критерієм Ст'юдента та непараметричним методом Колмогорова-Смирнова.

Результати досліджень та їх обговорення. Рівень тироксину в плазмі крові тиреоїдектомованих щурів на протязі усього експерименту нижче, ніж у контрольних тварин (табл. 1).

Табл. 1. Зміни показників вільного тироксину (нмоль/л) у плазмі крові в динаміці розвитку післяопераційного гіпотиреозу

Групи тварин	Інтактні	50 діб п/о	100 діб п/о
Тироксин	58,97±21,7	22,32±8,9*	24,32±6,52*

Через 50 діб після тиреоїдектомії подоцити зазнають значних ультраструктурних змін. Частина подоцитів має ультраструктурні ознаки компенсаторної спрямованості, але більшої поширеності набувають дистрофічно-деструктивні процеси, що проявляється або лізісом цитоплазми в цитотрабекул, або накопиченням в них та цитоподіях електроннощільного фібрилярного матеріалу. Значно зменшені у розмірах цитотрабекули та цитоподії (табл. 2). При цьому, фактор форми цитотрабекул значуще зменшений у порівнянні з контролем. Це обумовлено тим, що в даний післяопераційний термін поширені подоцити, в яких зменшені у розмірах цитотрабе-

кули мають неправильну сплюснену форму. Фактор форми цитоподій, навпаки, продовжує збільшуватися та перевищує аналогічний показник у контролі, тобто, значна частина цих ультраструктур стають менш витягнутими. Кількість та об'єм, який цитотрабекули займають в одиниці об'єму судинного клубочка, не мають статистично значущих відмінностей від контролю, тоді як об'ємна насиченість цитоподіями гломерул зменшується при незмінності їх кількісної щільності (табл. 2). Суттєве зниження (\approx вдвічі) об'ємної щільності цитоподій викликано аналогічним зменшенням їх розмірів. Щодо ЩД, які з'єднують цитоподії, то довжина, кількість та

відсоток поверхні ГБМ, зайнятої ЩД, залишається меншими, ніж у контролі і за середніми показниками (табл. 3), і за характером їх гістограм (рис. 1, 2).

Через 100 діб після тиреоїдектомії в клубочках повсюдно спостерігаються подоцити з різним ступенем пошкоджень. В тілі подоцитів зменшується кількість органел біосинтетичного плану, в мітохондріях спостерігається набряк, локальний лізис матриксу та крист. В цитотрабекулах і цитоподіях накопичується електроннощільний деструктурований фібрилярний матеріал, який подекуди заповнюють майже весь простір, внаслідок чого подоцити стають електроннощільнішими. Морфометричний аналіз показав, що зменшені у розмірах цитотрабекули мають ще більш сплющену форму та зменшуються у кількісній і, відповідно, об'ємній щільності, не тільки у порівнянні з контрольним, а й попереднім терміном спостережень (табл. 2). Цитоподії стають більш витягнутими, про що свідчить зниження показника фактора форми (табл. 2), внаслідок чого іноді важко розрізнити між собою цитотрабекули і цитоподії. Можливо,

частина перших набуває вигляд других, через що кількісна щільність цитоподій залишається незмінною у порівнянні з контролем (табл. 2). Показник середньої довжини ЩД залишається, як і на протязі усього експерименту, значуще меншою, ніж у контролі (табл. 3). Разом з тим, аналіз розподілу ЩД за цим показником свідчить, що він дещо відрізняється від попередніх термінів спостережень та контролю. Так, підвищення числа коротких ЩД супроводжується появою дуже довгих щілин (< 200 нм), які не спостерігалися ні в одній із експериментальних груп (рис. 2). Такі проміжки між цитоподіями відображають, скоріш усього, їх розходження і є проявом деструкції. Кількісна щільність щілин, як і цитоподій, значуще не відрізняється від показника в контролі (табл. 3). Поширеність дистрофічно змінених подоцитів та зміни їх кількісних показників свідчить про загибель частини цих клітин. Це підтверджується тим, що в цей же термін спостережень, як було встановлено в наших попередніх дослідженнях [7], в клубочках зменшується і кількість гломерулярних капілярів.

Табл. 2. Зміни кількісних показників подоцитів тиреоїдектомованих щурів в динаміці розвитку гіпотиреозу

Експериментальні групи	Об'ємна щільність цитотрабекул у НТ, %	Кількісна щільність цитотрабекул у НТ, *10 ⁻² /мкм ³	Площа цитотрабекул, мкм ²	Фактор форми цитотрабекул
інтактні	10,21±1,22	1,14±0,19	6,29±1,05	0,48±0,01
50 діб	12,04±1,91	0,93±0,26	4,56±0,71*	0,44±0,01*
100 діб	7,66±0,87*	0,58±0,20*	4,73±1,02*	0,35±0,01*
Експериментальні групи	Об'ємна щільність цитоподій у НТ, %	Кількісна щільність цитоподій у НТ, *10 ⁻² /мкм ³	Площа цитоподій, мкм ²	Фактор форми цитоподій
інтактні	3,40±0,23*	24,3±5,6	0,15±0,01	0,47±0,01
50 діб	1,75±0,27*	32,79±6,93	0,07±0,002*	0,59±0,01*
100 діб	3,26±0,16	25,22±2,90	0,11±0,006*	0,42±0,01

Табл. 3. Кількісні зміни ЩД в подоцитах тиреоїдектомованих щурів в динаміці розвитку гіпотиреозу

Експериментальні групи	Довжина ЩД, нм	Відсоток ГБМ, яка зайнята ЩД, %	Кількісна щільність ЩД, 10 ⁻⁴ /нм
інтактні	86,9±12,0	14,50±3,82	17,1±4,6
50 діб	59,5±5,8*	5,96±1,8*	10,3±3,7
100 діб	64,5±6,5*	10,35±2,96	16,1±4,5

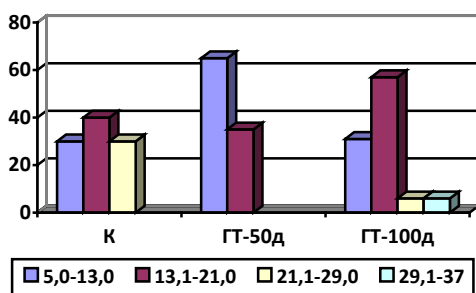


Рис. 1. Розподіл подоцитів за кількісною щільністю діафрагм в динаміці розвитку післяопераційного гіпотиреозу. По осі абсцис – кількісна щільність, 10⁻⁴/нм. По осі ординат - кількість подоцитів, %.

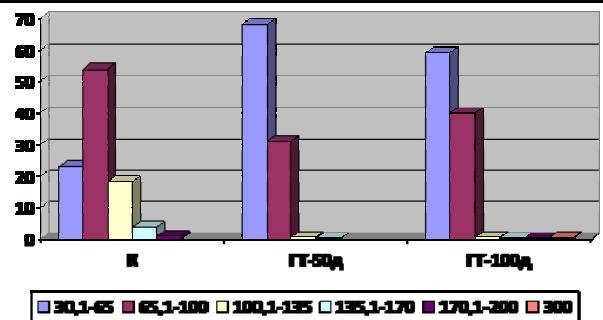


Рис. 2. Розподіл діафрагм за довжиною в динаміці розвитку післяопераційного гіпотиреозу. По осі абсцис – довжина діафрагм, нм. По осі ординат - кількість діафрагм, %.

Висновки. Комплексний морфометричний аналіз показав, що через 50 діб зміни в подоцитах мають дистрофічно-деструктивну спрямованість, але, в цілому, можна вважати, що подоцити знаходяться на стадії компенсації,

хоча в цей період спостережень до діурезу, очевидно, приєднуються порушення фільтрації протеїнів. Через 100 діб після тиреоїдектомії в клубочках спостерігається деструкція окремих компонентів подоцитів, та загибель частини з

них. Те, що подоцити відносяться до високо-спеціалізованих клітин і не підлягають розмноженню, дає підставу вважати, що в них відбувається зрив компенсації. Тобто, в динаміці розвитку гіпотиреозу для подоцитів характерна стадійність змін, яка притаманна і для інших органів: серця, головного мозку, яєчни-

ка [8-10]. *Перспективи подальших досліджень.* В подальших роботах планується проведення комплексного ультраструктурного та морфометричного аналізу в подоцитах нирки на пізніх етапах розвитку експериментального гіпотиреозу.

ЛІТЕРАТУРА:

1. **Петросян Э.К.** Подоцит: строение и роль в развитии нефротического синдрома / Э.К. Петросян // Нефрология и диализ. - 2006. - Т.8, №2. - С. 112-121.
2. **Eremina V.** The role of VEGF-A in glomerular development and function/ V.Eremina, S.Quaggin // Curr Opin Nephrol Hypertens.- 2004.- V.13.- P. 9-15.
3. Structure-stabilizing forces in the glomerular tuft / [Kriz W., Elger M., Mundel P., Lemley K.V.] // J Am Soc Nephrol. - 1995.- V. 5, №10.- P.1731-1739.
4. Ultrastructural study of glomerular capillary loops at different perfusion pressures as revealed by quick-freezing, freeze-substitution and conventional fixation methods / [Yu Y., Leng C.G., Kato Y., Ohno S.] // Nephron. - 1997. - V. 76, №4. - P. 452-459.
5. Podocyte biology in diabetic nephropathy / [Li JJ, Kwak SJ, Jung DS, et al.] // Kidney Int. Suppl. - 2007. - V. 106.- P. 36-42.
6. **Окороков А.Н.** Диагностика болезней внутренних органов / Окороков А.Н.// - М.: Медицинская литература, 2001, Т.2. - 547с.
7. **Кузьменко Ю.Ю.** Морфометричні зміни ниркового тільця у динаміці розвитку експериментального гіпотиреозу / Ю.Ю.Кузьменко// Український морфологічний альманах. – 2009. - Т.7, № 4. - С. 76-79.
8. Сердце при гипотиреозе (экспериментальное исследование) / [Стеченко Л. А., Петренко В. А., Куфтирева Т. П., и др.] // - Киев, 2008. - 196 с.
9. Ультраструктурні прояви неповноцінності жовтого тіла при експериментальному гіпотиреозі у невагітних щурів / [Кузян В.Р., Куфтирева Т.П., Стеченко Л.О. та ін.] // Морфологічний вісник – 2007. - №3. – С. 227-232.
10. Ультраструктурні зміни нейронів кори головного мозку в динаміці розвитку гіпотиреозу/[Ляпіна Л.М., Куфтирева Т.П., СтеченкоЛ.О. та ін.] // Морфологічний вісник – 2007. - №3. – С.243-248.

Кузьменко Ю.Ю. Морфометричний аналіз змін подоцитів нирок в динаміці розвитку післяопераційного гіпотиреозу // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 2. – С. 110-112.

Комплексний морфометричний аналіз показав, що через 50 діб зміни в подоцитах нирки мають компенсаторно-приспосувальну і дистрофічно-деструктивну спрямованість, але, в цілому, можна вважати, що подоцити знаходяться на стадії компенсації. Через 100 діб після тиреоїдектомії в клубочках спостерігається деструкція окремих компонентів подоцитів та загибель частини з них, що загалом свідчить про зрив компенсації.

Ключові слова: подоцити, щури, експериментальний гіпотиреоз, морфометрія.

Кузьменко Ю.Ю. Морфометрический анализ изменений подоцитов почек в динамике развития послеоперационного гипотиреоза // Украинский медицинский альманах. – 2011. – Том 14, № 2. – С. 110-112.

Комплексный морфометрический анализ показал, что через 50 суток изменения в подоцитах почки имеют компенсаторно-приспособительную и дистрофически-деструктивную направленность, но, в целом, можно считать, что подоциты находятся на стадии компенсации. Через 100 суток после тиреоидэктомии в клубочках наблюдается деструкция отдельных компонентов подоцитов и гибель части из них, что в общем, свидетельствует о срыве компенсации.

Ключевые слова: подоциты, крысы, экспериментальный гипотиреоз, морфометрия.

Kuzmenko Y.Y. Morphometric analysis of changes of podocytes of kidney in dynamics of development of postoperative hypotiriosis // Украинский медицинский альманах. – 2011. – Том 14, № 2. – С. 110-112.

A complex morphometric analysis showed, that in a 50 days of change in podocytes have compensatory-adapting and dystrophic-destructive orientation, but, on the whole, it is possible to consider that podocytes are on the stage of indemnification. After 100 days of a thyroidectomy in glomerulus there are destruction of separate components of podocytes and death of the part from them, that in general, testifies to blowing off indemnification.

Key words: podocytes, rats, experimental hypothyroidism, morphometric analysis.

Надійшла 18.12.2010 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін