

УДК: 616.61-091:616,441-008.64-036.4
© Кузьменко Ю.Ю., 2010

ЗМІНИ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ НИРКИ ЩУРІВ НА ПОЧАТКОВОМУ ЕТАПІ РОЗВИТКУ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОГО ГІПОТИРЕОЗУ

Кузьменко Ю.Ю.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця (Київ)

Кузьменко Ю.Ю. Зміни структурної організації нирки щурів на початковому етапі розвитку післяопераційного гіпотиреозу // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, № 4. – С. 80-82.

Проведений комплексний аналіз нирки щурів через 14 діб після тиреоїдектомії показав, що зміни в структурних компонентах нирки щурів на початковому етапі розвитку післяопераційного гіпотиреозу мають різний характер та ступінь виразності. Зменшення розмірів ниркового тільця, судинного клубочку, просвіту гломерулярних капілярів, ширини щілин є структурною ознакою сповільнення швидкості фільтрації рідини. Виразні пошкодження епітелію проксимальних каналців в усіх ділянках клітин свідчать про глибокі порушення процесів реабсорбції. Значних змін зазнають і ендотеліальні клітини перитубулярних капілярів, серед яких одні носять компенсаторний, а інші – деструктивний характер.

Ключові слова: гіпотиреоз, щури, нирки, морфометрія.

Кузьменко Ю.Ю. Изменения структурной организации почки крыс на начальном этапе развития послеоперационного гипотиреоза // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, № 4. – С. 80-82.

Проведенний комплексний гистологічний, електронномікроскопічний, імуногістохімічний і морфометричний аналіз почки крыс через 14 суток після тиреоїдектомії показав, що змінення в структурних компонентах почки крыс на початковому етапі розвитку післяопераційного гіпотиреоза імають різний характер і ступінь виразності. Уменьшення розміров почечного тельца, сосудистого клубочка, просвета гломерулярних капілярів, ширини щелей являється структурним признаком замедлення скорости фильтрации жидкости. Выразительные повреждения эпителия проксимальных канальцев во всех участках клеток свидетельствуют о глубоких нарушениях процессов реабсорбции. Значительных изменений испытывают и эндотелиальные клетки перитубулярных капілярів, среди которых одни носят компенсаторный, а другие - деструктивный характер.

Ключевые слова: гипотиреоз, крысы, почки, морфометрия.

Kusmenko U.U. Changes of the structural organization of kidney of the rats at the initial stage of development postoperative hypothyroidism // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, № 4. – С. 80-82.

Summary. Spent complex histological, electronmicroscopical, immunohistochemical and morphometric the kidney analysis rats in 14 days after thyroidectomy has shown that changes in structural components of a kidney of the rats at the initial stage of development postoperative hypothyroidism have different character and expressiveness degree. Reduction of the sizes of a renal little body, vascular to a glomulus, a lumen glomerular capillaries, width of clefts is a structural sign of retardation of rate of a filtration of a liquid. Expressive damages of an epithelium proximal channels in all sites of cells to deep disturbances of processes reabsorption. Appreciable changes will test and endothelial cells peritubular capillaries among which one wear compensatory, and others - destructive character.

Key words: hypothyroidism, rats, kidneys, morphometry.

Вступ. Загальновідомо, що дефіцит гормонів щитоподібної залози викликає важкі порушення практично в усіх органах та системах і призводить до розвитку гіпотиреозу, поширеність якого серед населення, внаслідок погіршення екології, зростає кожен рік [1, 2]. Одним з органів-мішеней, функція яких порушується при гіпотиреозі, є нирки. Не дивлячись на багаточисельні дослідження, залишається багато невирішених питань, особливо стосовно ранніх етапів розвитку цього захворювання.

Мета дослідження вивчення змін в структурних компонентах нирки щурів на початковому етапі розвитку гіпотиреозу після повної тиреоїдектомії.

Матеріали та методи дослідження. Стан маніфестного гіпотиреозу моделювали на 10 щурах-самках лінії Вістар масою 180-200г шляхом проведення тотальної тиреоїдектомії [3]. Тварин виводили з експерименту через 14 діб після операції шляхом декапітації під легким ефірним наркозом згідно "Загальним етичним принципам експериментів на тваринах".

Матеріал для загальногістологічних методик обробляли в парафіновій заливці, зрізи фарбували гематоксилін-еозином та пікрофуксином по Ван-Гізон. Оцінку проліферативної активності клітин нирки визначали: 1) підрахунком відсотку клітин з морфологічними ознаками проліферації на 100 досліджених клітинах кожного типу; 2) імуногістохімічно непрямым стрептавидін-пероксидазним методом виявлення рівня експресії антигенів PCNA. Розповсюд-

женість та інтенсивність реакції оцінювали напівкількісним методом в балах, від 0 до 3 балів. Для електронномікроскопічного дослідження ділянки коркової речовини нирок, фіксували в 2,5 % розчині глотарового альдегіду на фосфатному буфері з дофіксацією в 1 % розчині OsO₄ та обробляли згідно загально прийнятої методики. Морфометричний аналіз проводили за допомогою напівавтоматичного пристрою обробки графічних зображень. Отримані цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Ст'юдента. Результати вважали достовірними при P<0,05.

Результати дослідження та їх обговорення. В нирках щурів через 14 діб після тиреоїдектомії виявлені поодинокі ділянки змін в кірковому та мозковому шарах. В стромі виявлені "дрібні" обмежені вогнища фуксинофілії, що свідчить про накопичення сполучної тканини в периваскулярній і перитубулярній стромі. В деяких клубочках відзначається гіперпелюлярність до 20-22 клітин, в основному за рахунок епітеліальних клітин капсули клубочків. Це підтверджується імуногістохімічно: експресія до PCNA, яка характерна клітини, що знаходяться в S-фазі, відмічається тільки в ядрах епітеліоцитів клубочків. Для ниркових каналців характерні вогнища білкової дистрофії епітелію.

На ультраструктурному рівні зміни спостерігаються в усіх структурних компонентах нефрону. Зменшуються розміри ниркового тільця та їх складових - судинного клубочку загалом та просвітів капілярів. Це

підтверджується морфометричним аналізом, який детальний викладений у попередній публікації [4]. В той же час суттєвих ушкоджень ультраструктури кровоносних капілярів та подоцитів не відмічається. Ендотеліоцити містять функціонально активне ядро, незначну кількість органел, стоншені периферійні ділянки з недіафрагмованими фенестрами. Слід однак, відмітити, що спостерігаються поодинокі ендотеліоцити з підвищеною електронною щільністю цитоплазми та ядер, що характерно для так званих «покових» клітин. Базальна мембрана чітко структурована, приблизно однакової товщини в периферійних ділянках та потовщена в місцях біфуркацій (рис. 1). Ультраструктурна організація подоцитів свідчить про активні біосинтетичні процеси в цих клітинах: в тілі розташовуються великі за розмірами ядра з рівномірним розподілом по каріоплазмі хроматином, овальної форми мітохондрії з матриксом помірної електронної щільності та незначною кількістю крист, не розширені каналці зернистої ендоплазматичної сітки, комплекс Гольджі, полірибосоми. Ці ж органели, але в меншій кількості спостерігаються і в цитотрабекулах, де в більший мірі представлені мікрофіламенти. Цитоподії варіюють за розмірами і формою, незначно галузяться та поширюються у більш звужений, ніж у контролі, сечовий простір (рис. 1). Разом з тим, подекуди відмічаються ділянки помірного набряку ендотеліоцитів та подоцитів, локальний лізис матрикс та крист в мітохондріях останніх. Ці зміни носять реактивний характер і не мають значної розповсюдженості.

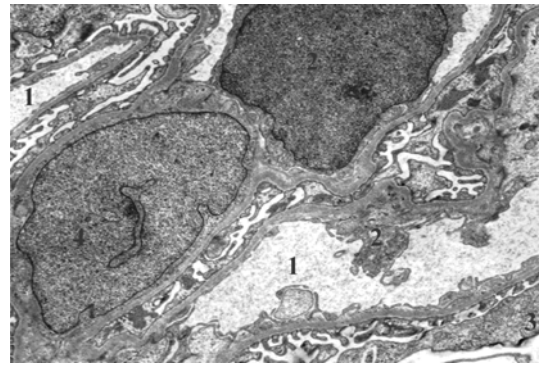


Рис. 1. Фрагменти ниркових тілець щура через 14 діб після тиреоїдектомії. Просвіт гломерулярних капілярів (1). Ендотеліоцити (2). Подоцити (3). Мезангіальні клітини (4). Гломерулярна базальна мембрана (5). Електронно-мікроскопічна мікрофотографія. Зб.: – 8000.

Слід відмітити, що, хоча ультраструктура подоцитів в контрольній та експериментальній групах подібні, морфометричний аналіз показав деякі відмінності в показниках, які характеризують ці клітини. Так, через 14 діб після операції зменшуються показники середньої площі цитотрабекул та цитоподій, у порівнянні з контрольними величинами (табл.). Внаслідок цього знижується і об'єм, який займають ці структури в одиниці об'єма судинного клубочка (табл.).

Таблиця. Стереологічні показники, які характеризують подоцити нирок інтактних щурів (К) та щурів через 14 діб після тиреоїдектомії (ГТ)

| | Площа НТ, 10 ² мкм ² | Об'ємна щільність цитотрабекул у НТ, % | Кількісна щільність цитотрабекул у НТ, 10 ⁻² / мкм ³ | Площа цитотрабекул, мкм ² | Фактор форми цито- трабекул |
|----|--|--|--|--------------------------------------|-----------------------------|
| К | 598,56±38,28 | 10,21±1,22 | 1,14±0,19 | 6,29±1,05 | 0,48±0,01 |
| ГТ | 343,62±29,99* | 8,90±1,07 | 1,31±0,24 | 3,18±0,64* | 0,46±0,01 |
| | Площа НТ, 10 ² мкм ² | Об'ємна щільність цитоподій у НТ, % | Кількісна щільність цитоподій у НТ, 10 ⁻² / мкм ³ | Площа цитоподій, мкм ² | Фактор форми цитоподій |
| К | 598,56±38,28 | 3,40±0,23 | 24,3±5,6 | 0,15±0,01 | 0,47±0,01 |
| ГТ | 343,62±29,99* | 2,25±0,37* | 34,70±7,07 | 0,09±0,003* | 0,50±0,01 |

*-статистично значуща різниця порівняно з контролем (P < 0,05)

Особливу увагу привертають кількісні зміни, що зазнають щільніні діафрагми і відповідно щільніні, які вони перекривають: їх довжина дорівнює 54,7±4,4 нм, що значуще менше показника у контролі (86,9±12,0нм). Розподіл діафрагм за довжиною в свою чергу показав, що у тиреоїдектомованих тварин переважають найвужчі форми (рис. 2).

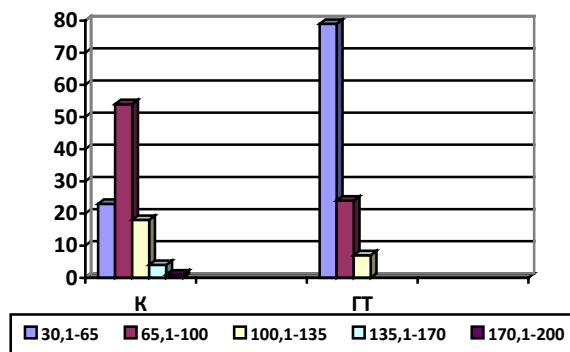


Рис. 2. Розподіл щільнінініх діафрагм за довжиною в подоцитах нирок інтактних (К) щурів та тиреоїдектомованих щурів через 14 діб після операції (ГТ). По осі абсцис – довжина діафрагм (нм). По осі ординат – їх кількість (%).

Зменшення фільтраційної поверхні в подоцитах дає підставу вважати, що вже в ранні післяопераційні терміни відбувається зниження інтенсивності фільтрації рідини, так як відомо про позитивну кореляцію між цими показниками [5].

Мезангіальні клітини, які розташовуються в гломерулах, контактують з ендотеліоцитами. Вони мають велике за розмірами ядро з чітко структурованою каріолемою та рівномірним розподілом хроматином. В цитоплазмі розташовуються мітохондрії, серед яких переважають невеликі за розмірами структури, полірибосоми, незначна кількість каналців ендоплазматичної сітки та комплексу Гольджі, мікрофіламенти без певної орієнтації (рис. 1 А).

Більш виражені зміни спостерігаються в проксимальних каналцях, епітеліоцити яких зазнають тих чи інших ушкоджень. Ці клітини зменшуються за розмірами, деякі перетворюються із циліндричних у плоскі за формою клітини, інші набувають неправильну форму внаслідок глибоких інвазіяцій та випинань цитоплазми. Повсюдно епітеліоцити втрачають міжклітинні зв'язки на латеральній поверхні, утворюючи різної ширини щілини. Базолатеральні

мембранні складки стають звивистими, розширюються, подекуди відокремлюються від основної частини цитоплазми. Електронна щільність таких клітин підвищена, в них накопичуються дрібнодисперсний матеріал, конгломерати полісом, лізосоми, серед яких переважають їх вторинні та третинні форми. Мітохондрії, здебільшого зберігаючи цілісність зовнішніх та внутрішніх мембран, як правило, набувають овальну форму та утворюють скупчення поза базального лабіринту, на відміну від витягнутих мітохондрій, розташованих між мембранних складок у інтактних щурів. Кількість ендосом та первинних лізосом незначна, хоча мікрворсинки мають в основному паралельну орієнтацію та формують типову щітинкову облямівку (рис. 3 А). Спостерігаються також клітини з пікноморфними ядрами та найбільшою електронною щільністю цитоплазми, глибокі інвагінації якої приводять до їх фрагментації. Така ультраструктура характерна для епітеліальних клітин, які знаходяться на різних стадіях апоптозу [6].

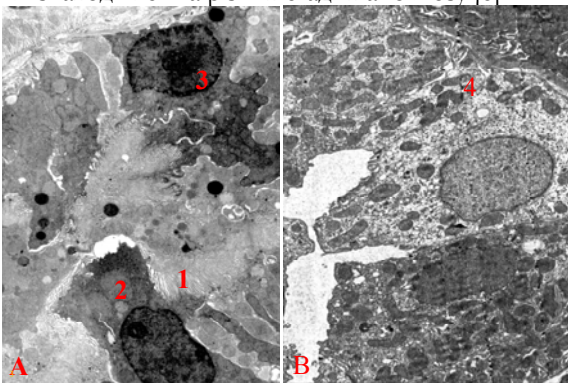


Рис. 3. Фрагменти нирок щура через 14 днів після тиреоїдектомії. А – проксимальний каналець: щітинкова облямівка (1) та базальні лабіринти епітеліоцитів (2); апоптозно змінені епітеліоцити (3); В – дистальний каналець: епітеліоцити (4). Електронно-мікроскопічна мікрофотографія. Зб.: А – 4200; В – 5200.

Зменшення кількості ендодитозних вакуолей та первинних лізосом, в яких здійснюється перенос та розщеплення білків до амінокислот [7], може бути ознакою серйозних порушень при транспортуванні білків у перитубулярні капіляри та їх присутності у сечі. Порушується, очевидно, і процес повернення води, яке відбувається через цитоплазму епітеліальних клітин, а також реабсорбція хлористого натрію, яка пов'язана з ендодитозом [8]. Зміни в між-епітеліальних контактах, які обумовлюють інтенсивність пасивного парацелюлярного переносу хлоридів [9], визначають порушення і в транспортуванні цих речовин.

Епітеліальні клітини в дистальних каналцях мають кращу збереженість ультраструктури, ніж в проксимальних. Зміни, які зазнають ці клітини, в основному, відносяться до дезорганізації базолатеральних мембранних відростків, зменшення площі їх поверхні. Спостерігається також топографічна переорієнтація ядер з апікальної частини цитоплазми в базальну та мітохондрії, які розподілені по всій цитоплазмі (рис. 3В).

Висновки: Проведений аналіз показав, що зміни в структурних компонентах нирки щурів на початковому етапі розвитку післяопераційного гіпотиреозу мають різний характер та ступінь виразності. Кількі-

сні зміни клубочкового апарату є проявом загальної контракції, яку в цей термін спостережень зазнають усі його компоненти: ниркове тільце, судинний клубочок, просвіт гломерулярних капілярів, ширина щілин. Ці зміни, скоріш усього, є реакцією на післяопераційний стрес, внаслідок яких відбувається сповільнення фільтраційної спроможності клубочків. Виразні пошкодження епітеліо проксимальних каналців в усіх ділянках клітин свідчать про глибокі порушення процесів реабсорбції води, білків, хлоридів, глюкози. В дистальних каналцях структурні зміни менш виразні і стосуються переважно перебудов базальної частини епітеліоцитів.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані результати визначають спрямованість і характер змін в структурах нирки в ранні терміни після тиреоїдектомії, що може бути використано при пошуку та розробці нових схем лікування гіпотиреозного стану.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Тронько Н. Д. Рак щитовидної залози у дітей України / Н. Д.Тронько, Т. І. Богданова // Київ: - Чернобыльинформ, - 1997, 198 с.
2. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, Braverman LE. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): NATIONAL Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) // J Clin Endocrinol Metab.- 2002.- V. 87.- N 2.- P.489-499.
3. Стеченко А.О. Спосіб моделювання гіпотиреозу у щурів / А. О.Стеченко, В. А.Петренко, П. А. Бик., В. Р.Кузян, Т. П. Куфтирева // Патент №27821, МПК G09B23/28(2006.01). Офіційний бюлетень.-2007р.
4. Кузьменко Ю.Ю. Морфометричні зміни ниркового тільця у динаміці розвитку експериментального гіпотиреозу/ Ю.Ю.Кузьменко // Український морфологічний альманах.- 2009.- Т.7.- N 4.- С.76-79.
5. Yu Y.Ultrastructural study of glomerular capillary loops at different perfusion pressures as revealed by quick-freezing, freeze-substitution and conventional fixation methods./ Yu Y, Leng CG, Kato Y, Ohno S.// Nephron.- 1997.- V.76.- N 4.- P.452-459.
6. Стеченко А. О. Тканиноспецифічність морфологічних проявів апоптозу/ А. О.Стеченко, Т. П.Куфтирева, В. А.Петренко, І. С.Іщенко, В.Р.Кузян // Таврический медико-биологический вестник. – 2006. – Т.9, №3. - С. 191-194.
7. Nielsen S. Endocytosis in renal proximal tubules. Experimental electron microscopical studies of protein absorption and membrane traffic in isolated, in vitro perfused proximal tubules/Nielsen S. // Dan Med Bull.- 1994.- V41.- N 3.- P.243-263.
8. Baum M., Quigley R. Maturation of rat proximal tubule chloride permeability /Baum M., Quigley R. // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. - 2005.- V.289.- P R1659-R1664.
9. Shah M. Maturation of rabbit proximal straight tubule chloride / base exchange /Shah M, Quigley R. // J. Physiol. Renal. Physiol.- 1998.- V.274.- P. F883–F888.

Надійшла 11.10.2010 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін