

УЛЬТРАСТРУКТУРА НИРОК ЮВЕНІЛЬНИХ ЩУРІВ НА РАННІХ СТАДІЯХ РОЗВИТКУ ВРОДЖЕНОГО ГІПОТИРЕОЗУ

Кузьменко Ю.Ю.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця

Кузьменко Ю.Ю. Ультраструктура нирок ювенільних щурів на ранніх стадіях розвитку вродженого гіпотиреозу // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 60-63.

Встановлено, що у ювенільних щурів на початкових етапах розвитку гіпотиреозу в нирці відсутні реактивні, дистрофічні або деструктивні зміни. В той же час відмічається відставання в дозріванні всіх її структурних компонентів. В частині судинних клубочків ще не завершуються процеси диференціювання ендотеліоцитів та подоцитів. В останніх це проявляється відсутністю розподілу на цитотрабекули та цитоподії, дефіцитом щілинних діафрагм, що безумовно відображається на інтенсивності фільтраційних процесів. Про затримку процесів диференціювання в каналцях свідчить недостатня сформованість щітчастої облямівки та базальних лабіринтів, що позначається на процесах реабсорбції.

Ключові слова: нирки, гіпотиреоз, електронна мікроскопія, морфометрія, щури

Кузьменко Ю.Ю. Ультраструктура почек ювенильных крыс на ранних стадиях развития врожденного гипотиреоза // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 60-63.

Установлено, что у ювенильных крыс на начальных этапах развития гипотиреоза в почке отсутствуют реактивные, дистрофические или деструктивные изменения. В то же время отмечается отставание в созревании всех ее структурных компонентов. В части сосудистых клубочков еще не завершаются процессы дифференцировки эндотелиоцитов и подоцитов. В последних это проявляется отсутствием деления на цитотрабекулы и цитоподии, дефицитом щелевых диафрагм, что безусловно влияет на интенсивность фильтрационных процессов. О задержке процессов дифференцировки в канальцах свидетельствует недостаточное формирование щеточной каемки и базальных лабиринтов, что влияет на процессы реабсорбции.

Ключевые слова: почки, гипотиреоз, электронная микроскопия, морфометрия, крысы.

Kuzmenko Y.Y. Ultrastructure of kidney juvenile rats in the early stages of congenital hypothyroidism // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 60-63.

Found that in juvenile rats in the initial stages of hypothyroidism in the kidney no reactive, degenerative or destructive changes. At the same time there is delay in the maturation of all its structural components. Part vascular glomerulus are not complete processes of differentiation endothelial and podocyte. In the latter, this is manifested in the lack of division cytotrabeculus and cytopodia, lack slit diaphragms which certainly effect on the intensity of filtration processes. About the delay in the process differentiation tubule formation suggests a lack brush border and basal labyrinth, which affects on the process of reabsorption.

Key words: kidney, hypothyroidism, electron microscopy, morphometry, rats.

Вступ. В останній час все більшого поширення набувають захворювання щитоподібної залози у вагітних. Число випадків гіпотиреодного стану у жінок фертильного віку зросло більш, ніж на 600% [1]. Загальновідомо, що тиреоїдні гормони необхідні для нормального росту та розвитку організму. Вони відповідають в першу чергу за процеси дозрівання та диференціювання. У новонароджених, матері яких мають цю патологію, частота аномалій розвитку складає 18—25% [2]. Найбільш часто при цьому уражуються центральна нервова та ендокринна системи. В останньому випадку розвивається вроджений гіпотиреоз (ВГТ) [3,4].

Ряд клінічних досліджень показали, що при гіпотиреозі порушується і функція нирок. Зменшується швидкість ниркового кровотоку, клубочкової фільтрації, що призводить до зниження діурезу, затримці рідини та натрію в організмі [5]. Разом з тим, в літературі відсутні відомості про структурні основи функціональних порушень в нирці при вродженому гіпотиреозі.

Зв'язок роботи з науковими програмами, темами: робота виконана в рамках держбюджетної теми Інституту проблем патології Національного медичного університету імені О.О.

Богомольця „Морфо-функціональний стан органів найбільш чутливих до дефіциту гормонів щитовидної залози за умов гіпотиреозу та його корекції” (№ держреєстрації 0106 У 004081).

Метою дослідження було вивчення ультраструктурних особливостей нирки на початкових етапах розвитку вродженого гіпотиреозу, що дозволить теоретично обґрунтувати нові підходи до корекції цієї патології.

Матеріал та методи дослідження. Електронно-мікроскопічно досліджені нирки 7-ми добових інтактних щурів та 7-ми добових щурів через 14 діб після початку моделювання ВГТ.

Вроджений гіпотиреоз моделювали шляхом пригнічення щитоподібної залози тиреостатиком – мерказолілом. Вагітним самкам препарат вводили щоденно у дозі 20 мг/кг маси тіла перорально, починаючи з 14-ї доби перинатального розвитку, потім піддослідні тварини отримували його з молоком матері. Стан гіпотиреозу визначали за вмістом рівня вільного тироксину у плазмі крові на приборі «Sunrise RC» фірми ТЕКАН при виведенні тварин з експерименту.

Матеріал фіксували 2,5% розчином глутарового альдегіду на фосфатному буфері з дофіксацією у 1% розчині чотирьохокису осмію за

Мілонінгом та обробляли згідно загальноприйнятій методикі. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультратомі LKB III (Швеція), досліджували та фотографували під електронним мікроскопом ПЕМ-125К при збільшеннях в 6–20 тисяч раз.

Стереометричні дослідження проводилися за програмою «Органела» на напівавтоматичному пристрої обробки графічних зображень. Площа ниркових тілець (НТ), капілярного клубочка (КК), щілини між зовнішнім та внутрішнім висцеральним листком, гломерулярних капілярів, об'єм та кількість останніх у одиниці об'єму НТ визначалися на напівтонких зрізах, забарвлених за Науат. Об'ємна та кількісна щільності цитотрабекул і цитоподій у нирковому тілці, площі та фактор форми цитотрабекул і цитоподій здійснювали на електронно-мікроскопічних фото. Довжину щілинної діафрагми, довжину базальної поверхні подоцита та кількісну щільність діафрагм визначали на електронному мікроскопі

ПЕМ-125К за програмою «Карра». Статистична обробка отриманого матеріалу проводилася згідно принципам варіаційної статистики.

Результати дослідження та їх обговорення.

У 7-ми добових щурів через 14 діб після початку експерименту рівень вільного тироксину у плазмі крові дорівнював $3,44 \pm 0,49$ пмоль/л, що значуще, більш ніж удвічі, відрізняється від показника у віковому контролі ($7,98 \pm 0,71$ пмоль/л).

Ниркові тілця, які знаходяться на різних стадіях диференціації розташовуються у слабкорозвиненій кірковій речовині. Їх площа зрізу не перевищує 45000 мкм^2 , внаслідок чого середній показник дорівнює $(381,3 \pm 19,02) \cdot 10^2 \text{ мкм}^2$, що незначно, але значуще від показника у інтактних 7-ми добових щурів (табл. 1). Епітеліоцити висцерального та парієнтального листків розташовуються близько, площа щілини між двома листками НТ дорівнює $(15,4 \pm 3,68) \cdot 10^2 \text{ мкм}^2$, а площа судинного клубочку - $(365,1 \pm 11,19) \cdot 10^2 \text{ мкм}^2$.

Таблиця 1. Морфометричні показники ниркового тілця нирок 7-ми добових щурів з ВГТ

	Площа НТ * 10^2 мкм^2	Площа СК, * 10^2 мкм^2	Площа щілини, * 10^2 мкм^2
контроль	$432,6 \pm 23,81$	$415,1 \pm 34,45$	$17,5 \pm 3,59$
ВГТ	$381,3 \pm 19,02$ *	$365,1 \pm 11,19$ *	$15,4 \pm 3,68$

* значуще відрізняється від контролю ($P < 0,05$)

В 1 мкм^3 НТ розміщується $(15,95 \pm 1,49) \cdot 10^{-6}$ капілярів. При цьому їх середня площа складає $(3,16 \pm 0,431) \cdot 10^2 \text{ мкм}^2$, що значуще більше, ніж у інтактних ювенільних щурів. Зменшене число ка-

пілярів на фоні збільшених їх розмірів призводить до того, що об'єм, який вони займають в НТ залишається статистично однотипним з віковим контролем і дорівнює $5,79 \pm 1,82\%$ об'єму НТ (табл. 2).

Таблиця 2. Морфометричні показники гломерулярних капілярів нирок 7-ми добових щурів з ВГТ

	Об'ємна щільність капілярів у НТ, %	Кількісна щільність капілярів у НТ * 10^{-6} мкм^3	Площа капілярів * 10^2 мкм^2
контроль	$6,82 \pm 0,97$	$19,42 \pm 1,61$	$3,60 \pm 0,21$
ВГТ	$5,79 \pm 1,82$	$15,95 \pm 1,49$ *	$4,16 \pm 0,23$ *

* значуще відрізняється від контролю ($P < 0,05$)

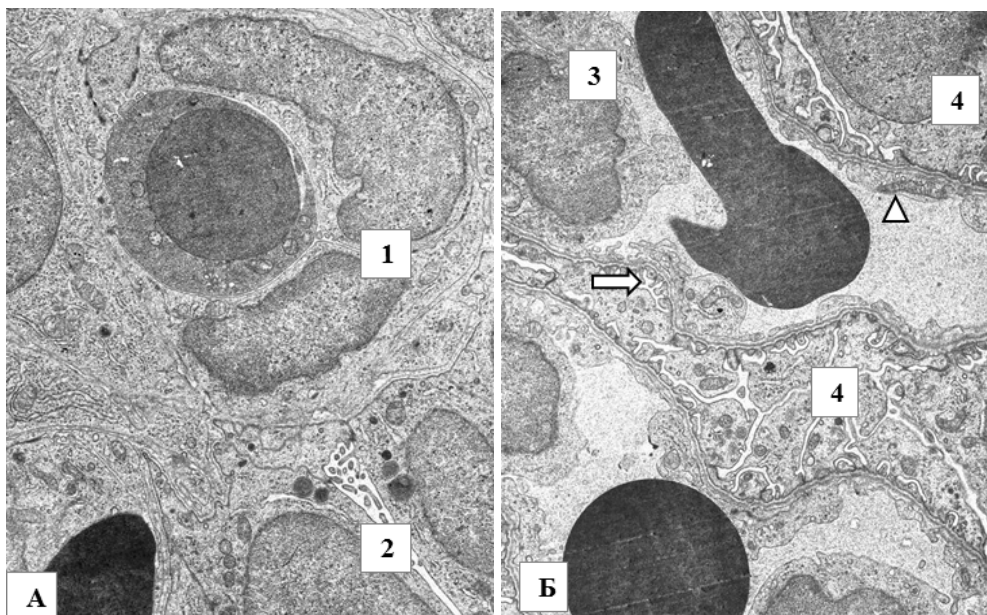


Рис. 1 – Фрагменти НТ 7-ми добових щурів через 14 діб після початку моделювання ВГТ. А – Мало диференційовані ендотеліоцити (1) та подоцити (2). Б – Ядровмісна (3) та периферична (Δ) ділянки ендотеліоцитів. Цитотрабекули (4) та цитоподії (→) в подоцитах. Електронно-мікроскопічне фото. Зб.: А, Б - 6000

Частина НГ знаходиться ще на заключних етапах диференціювання. Гломерулярні капіляри в таких тільцях вистелені ендотеліоцитами, в яких великі ядра займають більшу частину об'єму і відсутня диференціація на ядромісну та периферичну, стоншену ділянку. Саме це, очевидно, і є причиною збільшення, у порівнянні з контролем, розмірів капілярів. Подоцити таких клубочків контактують з ендотеліоцитами тілами, в них ще не сформовані цитоподії та цитотрабекули, що свідчить про незавершене дозрівання. Спостерігаються ділянки, де цитотрабекули контактують між собою за допомогою десмосом (рис. 1 А).

Інші НГ, їх менша кількість, містять капіляри з відкритими просвітами, утворені ендотеліальними клітинами, де розрізняються ядромісна та периферичні ділянки. Останні часто мають потовщений вигляд, внаслідок чого кількість фенестр незначна, а деякі з них мають діафрагми, що притаманне ембріональним гломерулярним

ендотеліоцитам. Подоцити в більш зрілих клубочках вже диференційовані на цитотрабекули та цитоподії, хоча проміжки між ними залишаються невеликими, внаслідок досить щільного розташування (рис. 1Б).

Морфометричний аналіз в свою чергу також свідчить про відмінності у будові подоцитів ювенільних щурів у контролі та з ВГТ, пов'язані з відставанням дозрівання. Так, кількісна щільність щілин та цитоподій, які утворюють їх, значуще менша, ніж у віковому контролі і дорівнює $(5,7 \pm 16) \times 10^{-4}/\text{нм}$ та $(7,7 \pm 1,9) \times 10^{-4}/\text{нм}$, відповідно. При цьому довжина щілинної діафрагми статистично не відрізняється від контролю, тоді як протяжність цитоподій значуще більша, ніж у контролі. Невелика кількість щілин при незмінності їх довжини призводить до зниження при ВГТ протяжності гломерулярної базальної мембрани, зайнятої структурами, через які відбувається фільтрація рідини (табл. 3).

Таблиця 3. Стереологічні показники, які характеризують подоцити нирок 7-ми добових щурів з ВГТ

	Довжина щілинної діафрагми, нм	Довжина базальної поверхні подоцита, яка зайнята щілинними діафрагмами, %	Кількісна щільність діафрагм, $10^{-4}/\text{нм}$
Контроль	$66,4 \pm 6,1$	$6,32 \pm 1,79$	$11,5 \pm 2,2$
ВГТ	$56,9 \pm 8,5$	$4,02 \pm 1,06^*$	$5,7 \pm 16^*$
	Довжина цитоподій, нм	Довжина базальної поверхні подоцита, яка зайнята цитоподіями, %	Кількісна щільність цитоподій, $10^{-4}/\text{нм}$
Контроль	$465,6 \pm 19,3$	$93,12 \pm 1,70$	$12,4 \pm 1,6$
ВГТ	$570,3 \pm 34,1^*$	$93,6 \pm 3,01$	$7,7 \pm 1,9^*$

* значуще відрізняється від контролю ($P < 0,05$)

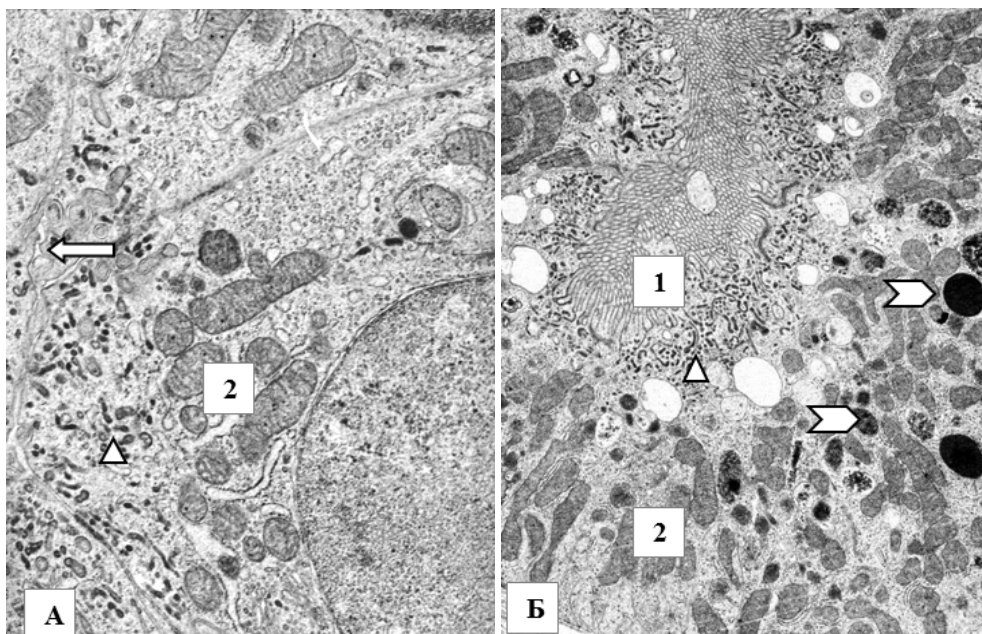


Рис. 2 - Фрагменти проксимальних каналців 7-ми добових щурів через 14 діб після початку моделювання ВГТ. Просвіт каналця без щіткової облямівки (←). Щіткова облямівка (1). Електроннощільні гранули (Δ), лізосоми (Σ), мітохондрії (2) в епітеліоцитах. Електронно-мікроскопічне фото. Зб.: А - 12500; Б - 7000

Гломерулярна базальна мембрана в незрілих судинних клубочках ще не повністю сформована, в інших вона – стоншена навіть в місцях біфуркацій. Мезангіальні клітини мають ультраструктурні ознаки функціональної активності: ядра з рівномірно розташованим хроматином,

великі за розмірами мітохондрії, значну кількість рибосом, полісом, каналців ендоплазматичної сітки (рис. 1 А).

Проксимальні каналці також знаходяться на різних стадіях диференціювання, про що свідчить наявність каналців з ще не сформованою

щіточковою облямівкою. Про належність їх до проксимальної ланки говорить присутність в епітеліоцитах, які їх утворюють, електроннощільних гранул, які притаманні саме цим каналацям. Разом з тим, лізосоми в таких клітинах представлені в незначній кількості (рис. 2 А). В епітеліоцитах з щіточковою облямівкою містяться і секреторні гранули, і лізосоми. Останні варіюють за розмірами та вмістом: дрібні та великі електроннощільні чергуються з структурами нерівномірно заповненими гранулярним вмістом. Мітохондрії витягнутої або овальної, в залежності від зрізання, форми, містять чітко структуровану зовнішню мембрану та паралельно

розташовані кристи (рис. 2 Б).

В дистальних каналацях просвіти часто звужені, заповнені мікрівіями. Ядра епітеліоцитів помірної електронної щільності, внаслідок рівномірного розподілу хроматину по каріоплазми. Останні часто мають округлу форму і розташовуються по всій цитоплазмі, включаючи її апікальну частину, тоді як базальні екструзії залишаються недорозвинутими (рис. 3. А, Б). Щодо кровоносних перитубулярних мікросудин, необхідно відмітити добру розвиненість органел біосинтетичного плану в потовщених периферичних ділянках ендотеліоцитів, що характерне для незавершеного диференціювання.

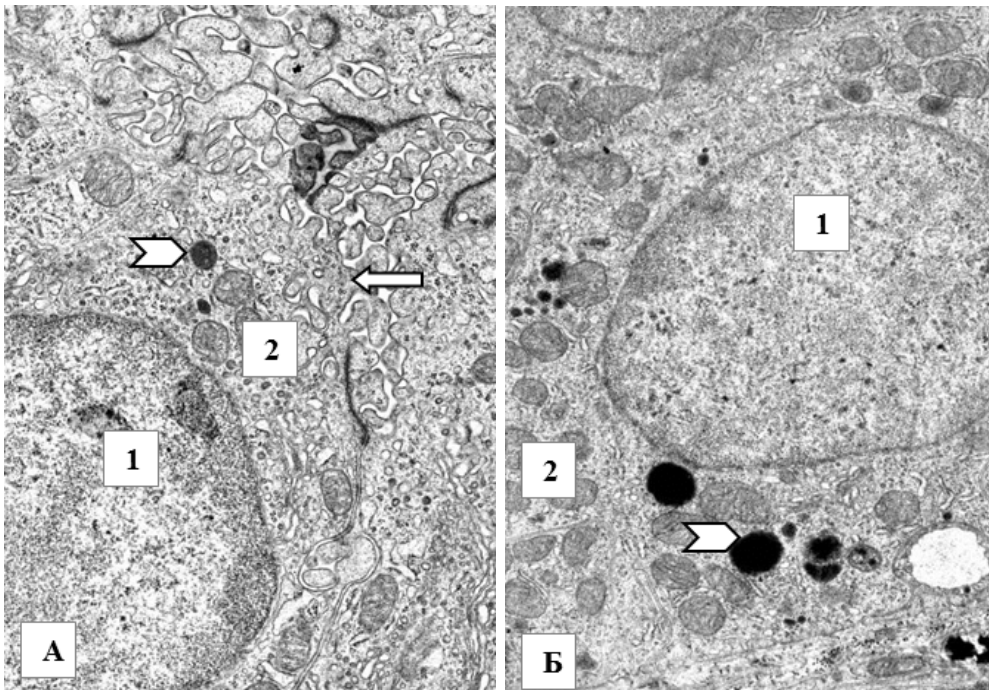


Рис. 3. Фрагменти дистальних каналаців 7-ми добових щурів через 14 діб після початку моделювання ВГТ. Просвіт каналаця (←). Ядро (1), лізосоми (Σ), мітохондрії (2) в епітеліоцитах. Електронно-мікроскопічне фото. Зб.: А- 12500; Б- 9500

Висновки: У 7-ми добових щурів через 14 діб від початку розвитку гіпотиреозу на фоні відсутності реактивних, дистрофічних або деструктивних змін відмічається відставання в дозріванні всіх структурних компонентів нирки. Ниркові тільця не досягають розмірів, характерних для вікового контролю. В частині судинних клубочків ще не завершуються процеси диференціювання ендотеліоцитів та подоцитів. В останніх це проявляється відсутністю розподілу на цитотрабекули та цитоподії, дефіцитом щільних діафрагм, що безумовно відображається на інтенсивності фільтраційних процесів. Про затримку процесів диференціювання в каналацях свідчить недостатня сформованість щіточкової облямівки та базальних лабіринтів, що позначається на процесах реабсорбції.

Перспективи подальших досліджень. Метою наступних досліджень буде вивчення змін, які розвиваються в ниркових тільцях, проксимальних та дистальних каналацях нирки тварин різних вікових груп при вродженому та набутому гіпотиреозі.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Ханагрян Т. А. Участие гормонов щитовидной железы в механизме поддержания гомеостаза натрия / Т. А. Ханагрян, А. Я. Тернер // Нефрология и диализ. – 2005. - Т. 7, №1. – С. 145-151
2. Partial reversibility during late postpartum of thyroid abnormalities associated with pregnancy / Glinoe D, Lemone M, Bourdoux P. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. - 1992. - V.74, № 2. - P. 453-457.
3. Хосталец У. Тиронд / У. Хосталец // Сборник лекций. - М, 1997. - С. 6-12.
4. Glinoe D. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology / D. Glinoe // Endocr. Rev. - 1997. - V.18, № 3. - P. 404-433.
5. Changes in renal function in primary hypothyroidism / Montenegro J, González O, Saracho R. et al. // Am. J. Kidney Dis. - 1996. - V.27, № 2. - P. 195-198.

Надійшла 18.06.2012 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін