

UDC 616.13.002.2-004.6:611.611

PECULIARITIES OF STRUCTURAL CHANGES OF KIDNEYS IN EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROSIS AND ITS CORRECTION

Romashkina O.A., Piskun R.P.

Summary. The article focuses on the results of investigating derangements of macromorphological parameters of rats' kidneys in case of experimental atherosclerosis and their positive changes caused by gene therapy, directed at expression of apo-E gene.

Key words: atherosclerosis, kidney, macromorphometry, gene correction.

Стаття надійшла 31.03.2011 р.

УДК 611.453:576.31:616.441-008.64

А.М. Рубинштейн, Т.П. Куфтырева, Р.С. Довгань

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АДРЕНОКОРТИКОЦИТОВ КРЫС В УСЛОВИЯХ СТОЙКОГО НЕКОМПЕНСИРОВАННОГО ГИПОТИРЕОЗА

Институт проблем патологии НМУ им. О.О. Богомольца (г. Киев)

Работа выполнена в рамках госбюджетной темы Института проблем патологии НМУ имени О.О. Богомольца «Морфофункциональное состояние органов наиболее чувствительных к дефициту гормонов щитовидной железы в условиях гипотиреоза и его коррекции», № государственной регистрации 0106U004081

Вступление. В настоящее время эпидемиологическая ситуация в мире складывается таким образом, что на первые по частоте заболеваемости места выступают эндокринные нозологии, а среди них одну из передовых позиций занимает гипотиреоз [1]. Одним из ведущих факторов патогенеза этого заболевания является стойкий дефицит гормонов щитовидной железы в пораженном организме, основным проявлением которого выступает нарушение энергетического обмена на всех уровнях. Немалую роль в развитии вторичных патологий играет общее расстройство метаболизма в организме, формирующееся в результате нарушения гормонального баланса из-за выпадения функции щитовидной железы и невозможности его компенсации за счет остальных эндокринных желез, функция которых также затронута.

Ультраструктурным признаком нарушений клеточной энергетики является наличие стойких деструктивных изменений в митохондриях [2,3]. В том же случае, если энергетическую и эндокринную функции в клетке выполняет одна и та же органелла - как это происходит с митохондриями в корковом веществе надпочечных желез, - то патологические изменения будут затрагивать оба аппарата: гормонсинтетический, в структуру которого входят митохондрии и липидные гранулы, и энергообразующий, основным элементом которого выступают митохондрии.

Целью настоящего исследования было изучить ультраструктурные изменения пучково-сетчатой зоны коркового вещества надпочечных желез (КВНЖ) в условиях стойкого некомпенсированного гипотиреоза и выделить ряд характерных для данной нозологии патологических реакций протекающих в адренортикоцитах.

Объект и методы исследования. Исследование проводилось на 10 белых беспородных половозрелых крысах-самках, которые были разделены на группы: I - контрольные животные, II - животные с экспериментальным гипотиреозом. Гипотиреоз моделировался путем тотальной тиреоидэктомии [4].

Материал забирали через 100 суток после операции, фиксировали в 2% растворе OsO₄ и заливали в смесь эпона и аралдита. Ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме LKBVIII, контрастировали уранилацетатом на 70% этаноле и цитратом свинца по Рейнольду и исследовали с помощью трансмиссионного микроскопа ПЭМ-125K.

Морфометрические исследования проводились на полуавтоматическом устройстве для обработки графических изображений методов с помощью программы

«Органелла». Анализировались объемная и количественная плотности, площадь и фактор формы митохондрий, ламинарных и везикулярных крист, а также объемная и количественная плотности, площадь и фактор формы липидных капель. Для каждого параметра определялись средняя величина, ошибка среднего, среднеквадратичное отклонение, показатель точности. Оценка результатов проводилась с помощью Т-критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение. В контроле паренхима пучково-сетчатой зоны КВНЖ представлена двумя типами клеток: оптически более светлые, которые рассматривались как более активные, и оптически-темные, или менее активные клетки. При гипотиреозе на фоне массовой деструкции адренортикоцитов обнаруживаются только оптически-светлые клетки, среди которых наблюдаются отчетные. Отсутствие темных клеток объясняется, скорее всего, переходом части из них в пул более активных светлых. Такое увеличение количества оптически-светлых клеток выступает в роли компенсаторного механизма, который противодействует массовой клеточной деструкции, наблюдающейся в этот период эксперимента.

Не обнаружены клетки, находящиеся в состоянии митоза, что свидетельствует об отсутствии процессов клеточной регенерации пучково-сетчатой зоны КВНЖ. В тоже время наблюдаются двуядерные клетки, что, возможно, является признаком полиплоидизации. Ядра приобретают неправильную овальную форму с волнистым краем, что рассматривается как признак активации компенсаторных процессов, так как приводит к увеличению площади ядерно-цитоплазматического соприкосновения; ядрышки несколько уплотнены и уменьшены в размерах (рис. 1).

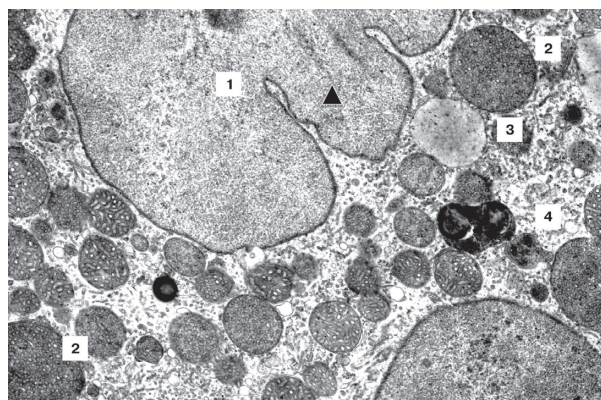


Рис. 1. Пучковая зона коркового вещества надпочечной железы крыс через 100 суток после тиреоидэктомии.

Ядра (1), инвагинации карิโอлеми (▲), митохондрии(2), липидные капли (3), фагосомы (4).
Электронно-микроскопическое фото. Ув.: 9000.

При гипотиреозе в цитоплазме адренкортикоцитов находятся разные по форме и размерам митохондрии. Местами органеллы образуют конгломераты, что, вероятно, предшествует их слиянию, так как параллельно появляются гигантские митохондрии. Целостность внешней мембраны органелл не нарушена, не наблюдаются деструктивно измененные митохондрии, что свидетельствует об отсутствии их гибели. Косвенным подтверждением этого является незначительное количество лизосом - органелл отвечающих за аутолиз отмерших элементов (рис. 1).

Одновременно изменения затрагивают липидные гранулы: встречаются увеличенные в размерах, округлые включения.

Для объективизации выше изложенных данных было проведено морфометрическое исследование, в результате которого установлено, что на 100 сутки после тиреоидэктомии объемная плотность митохондрий достоверно не изменяется. Это, скорее всего, вызвано увеличением площади митохондрий более чем в два раза при значительном уменьшении их количественной плотности, что подтверждает гипотезу о слиянии органелл (табл. 1).

Несмотря на то, что по средним показателям фактор формы митохондрий достоверно не изменяется, анализ распределения показывает, что увеличивается количество вытянутых и округлых органелл, при уменьшении количества промежуточных (рис. 2).

Таблица 1
Морфометрические показатели, характеризующие изменения митохондрий адренкортикоцитов крыс в условиях гипотиреоза (ГТ)

Группы наблюдений	Объемная плотность, %	Количественная плотность, *10 ⁻² /мкм ³	Площадь, *10 ⁻² мкм ²	Фактор формы
контроль	19,25±2,88	73,78±12,93	34,46±1,86	0,79±0,01
ГТ	23,52±1,98	29,36±3,12*	71,17±4,6*	0,86±0,12

Примечание: * Статистически достоверная разница по сравнению с контролем (P < 0,05).

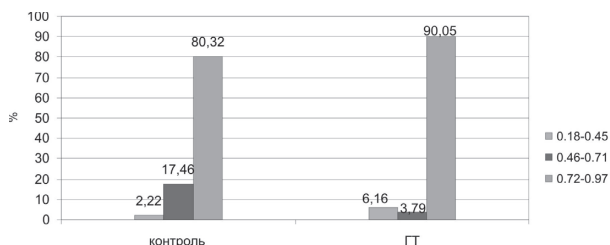


Рис. 2. Распределение митохондрий (MT) по фактору формы у контрольных крыс и крыс с гипотиреозом (ГТ). По оси абсцисс – фактор формы MT, по оси ординат – количество MT (%).

Увеличение средней площади митохондрий происходит за счет появления средних и больших по размерам органелл, которые не были характерны для контроля, при относительном уменьшении количества малых форм (рис. 3).

Учитывая, что преобладают митохондрии первой группы, решено было проанализировать их распределение. В группе малых митохондрий также наблюдается перераспределение количественного состава в сторону увеличения их площади (рис. 4).

При анализе общей объемной плотности крист обращает на себя внимание отсутствие достоверных изменений этого показателя, что вместе с увеличением показателя средней площади митохондрий свидетельствует о возрастании абсолютного числа крист, что подтверждается также значительным, более чем в 7 раз, увеличением их количественной плотности (табл. 2).

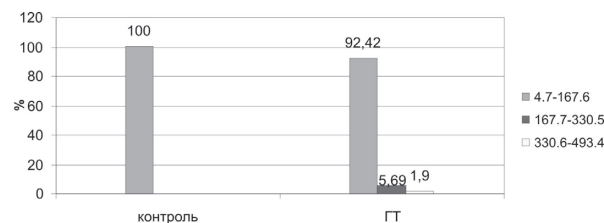


Рис. 3. Распределение митохондрий (MT) по площади у контрольных крыс и у крыс с гипотиреозом (ГТ). По оси абсцисс - площадь MT (*10⁻²мкм²), по оси ординат – количество MT (%).

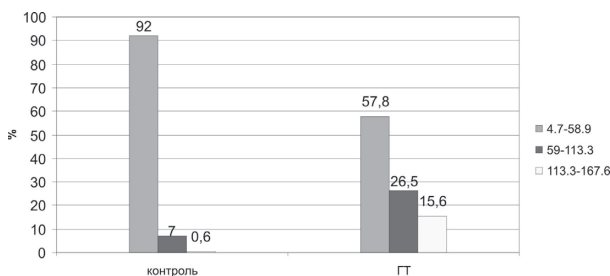


Рис. 4. Распределение мелких митохондрий (MT) по площади у контрольных крыс и крыс с гипотиреозом (ГТ). По оси абсцисс - площадь MT (*10⁻²мкм²), по оси ординат – количество MT (%).

Таблица 2
Морфометрические показатели, характеризующие изменения крист митохондрий КВНЖ крыс в условиях длительного гипотиреоза

	Объемная плотность крист, %	Количественная плотность крист, * 10 ² /мкм ³
контроль	25,33 ± 2,1	10,02 ± 1,51
гипотиреоз	25,46 ± 1,47	69,98 ± 8,23*

Примечание: * Статистически достоверная разница по сравнению с контролем (P < 0,05).

При гипотиреозе в митохондриях изменяется соотношение ламинарных и везикулярных крист. Объемная плотность везикулярных крист (ВК) уменьшается, а ламинарных (ЛК) увеличивается, что при практически равноценном изменении площади, может быть вызвано количественными изменениями (табл. 3).

Наблюдаемое увеличение количественной плотности ламинарных и везикулярных крист согласуется с общей динамикой. Однако эти показатели изменяются не равномерно для везикулярных и ламинарных крист. Количественная плотность ламинарных крист возрастает в 10 раз, в то время как для везикулярных крист этот фактор увеличивается в

Таблица 3

Морфометрические показатели, характеризующие изменения крист митохондрий КВНЖ крыс в условиях длительного гипотиреоза

	Объемная плотность, %		Количественная плотность, * 10 ² /мкм ³		Площадь, * 10 ⁻⁴ мкм ²		Фактор формы	
	ВК	ЛК	ВК	ЛК	ВК	ЛК	ВК	ЛК
К	18,39 ± 2,38	6,94 ± 1,76	8,71 ± 2,89	1,31 ± 0,29	28,2 ± 0,88	41,37 ± 2,8	0,83 ± 0,01	0,48 ± 0,05
ГТ	13,96 ± 1,54*	11,5 ± 1,32*	56,32 ± 14,51*	12,66 ± 1,78*	6,97 ± 0,29*	12,57 ± 0,85*	0,48 ± 0,02*	0,54 ± 0,02

Примечание: * Статистически достоверная разница по сравнению с контролем (P < 0,05).

6,5 раз. Увеличение объемной плотности ламинарных и снижение этого показателя для везикулярных крист объясняется перераспределением количества крист.

Средняя площадь крист обоих видов уменьшается

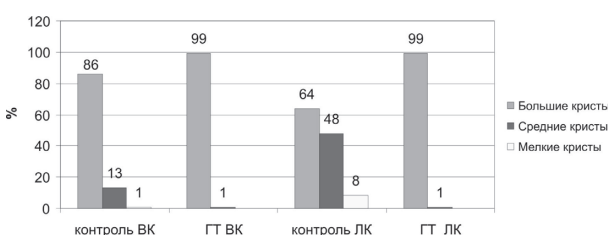


Рис.5. Распределение ламинарных (ЛК) и везикулярных крист(ВК) по площади у контрольных крыс и у крыс с гипотиреозом (ГТ).

По оси абсцисс – площадь крист (* 10⁻⁴ мкм²).
По оси ординат- количество крист (%).

равномерно приблизительно в 3-4 раза, за счет увеличения доли «мелких» крист до 99% в обоих случаях, снижения количества промежуточных и исчезновения «больших». Наиболее показательны эти изменения затрагивают класс ламинарных крист, для которых, несмотря на преобладание «мелких» крист в контроле, характерно значительное представительство «средних» и «крупных» (рис.5).

Данное перераспределение может объясняться повышением активности новообразования или фрагментации крист. Одновременно происходит вытягивание везикулярных крист – значительно увеличивается доля вытянутых и умеренно вытянутых структур с параллельным округлением ламинарных крист - что, вероятно, свидетельствует о трансформации везикулярных крист в ламинарные, в связи с развивающимся дефицитом АТФ.

Морфометрический анализ липидных гранул (ЛГ) адренкортикоцитов крыс показал, что в ходе эксперимента наблюдается достоверное повышение показателя средней площади срезов (табл.4).

Таблица 4

Морфометрические показатели, характеризующие изменения липидных гранул адренкортикоцитов крыс в условиях гипотиреоза (ГТ)

	Объемная плотность ЛГ %	Количественная плотность ЛГ* 10 ⁻² /мкм ³	Площадь ЛГ, *10 ⁻² мкм ²	Фактор формы ЛГ
контроль	31,75±4,55	28,45±5,74	67,48±3,54	0,68±0,06
ГТ	19,97±3,05*	11,36±1,72*	86,44±3,87*	0,83±0,01

Примечание: * Статистически достоверная разница по сравнению с контролем (P < 0,05).

В основе вышеуказанных изменений лежит снижение количества «малых» липидных гранул (этот класс продолжает доминировать в эксперименте, как и в контроле) при статистически достоверном увеличении количества промежуточных и «больших» (рис.6). В группе «малых»

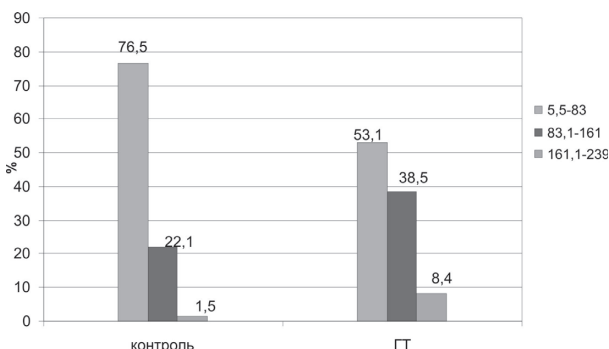


Рис.6. Распределение липидных капель (ЛК) по площади у контрольных крыс и крыс с гипотиреозом (ГТ).

По оси абсцисс - площадь ЛК (* 10⁻²мкм²),
по оси ординат – количество ЛК (%).

липидных гранул наблюдалась схожая направленность изменений в сторону увеличения количества более крупных включений.

Параллельное снижение показателей объемной и количественной плотностей ЛГ свидетельствует об увеличении их количества, что может быть вызвано накоплением и нарушением утилизации не использованных холестероловых эфиров в адренкортикоцитах, что согласно данной литературы является характерным признаком нарушения синтеза глюкокортикоидов при гипотиреозе [5].

Параллельно отмечается перераспределение липидных гранул по фактору формы со значительным увеличением доли наиболее округлых включений (рис.7). Наряду с этим появляется класс наиболее вытянутых гранул, которые не присутствовали в контроле.

Увеличение площади и фактора формы липидных гранул также может быть вызвано повышенным накоплением холестероловых эфиров в ходе неэффективной работы митохондрий коры надпочечников, которая в свою очередь вызвана изменением качественного состава крист. Это может быть обусловлено тем, что в норме содержащиеся в гранулах холестероловые эфиры используются для синтеза предшественников стероидных гормонов на везикулярных кристах. Уменьшение количественной плотности

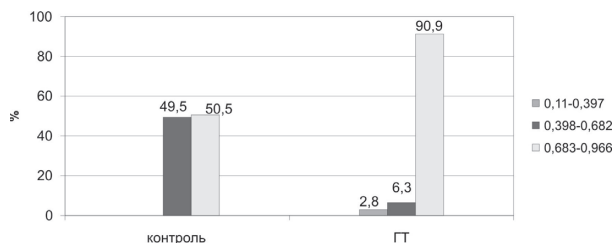


Рис. 7. Распределения липидных капель по фактору формы у контрольных крыс и крыс с гипотиреозом(ГТ).

По оси абсцисс – фактор формы ЛК,
по оси ординат – количество ЛК (%).

липидных гранул, вероятно, наблюдается в результате слияние нескольких гранул между собой, что приводит к увеличению показателя их средней площади.

Выводы.

На поздних стадиях гипотиреоза наблюдается массовая деструкция аденокортикоцитов при увеличении активности функционирующих клеток.

На фоне отсутствия признаков регенерационных процессов в КВНЖ компенсация протекает за счет полиплоидизации, которая приводит к увеличению ядерно-цитоплазматического индекса.

Наблюдаемая гипертрофия митохондрий аденокортикоцитов без признаков отека при уменьшении их количества и отсутствии признаков деструкции свидетельствует о слиянии органелл.

При гипотиреозе происходит перераспределение везикулярных и ламинарных крист с увеличением доли последних, что рассматривается как компенсаторная реакция, противодействующая развивающемуся энергодефициту.

Увеличение площади и количества липидных гранул за счет накопления и нарушения утилизации холестероловых эфиров-предшественников стероидных гормонов может быть признаком нарушения эндокринной функции аденокортикоцитов пучково-сетчатой зоны КВНЖ.

Перспективы дальнейших исследований: результаты работы могут быть использованы для оценки эффективности действия фармакологических препаратов.

Список литературы

1. Вербовой А.Л. Гипотиреоз /А.Л. Вербовой // Медицинская газета. – 2008. -№5. –С. 8-9.
2. Комиссаренко И.В. Нарушение функции надпочечников при эндокринных заболеваниях / И.В. Комиссаренко. – Киев.- 1984. -238с.
3. Окорочков А.Н. Диагностика болезней внутренних органов / А.Н. Окорочков. – М.: Медицинская литература, 2000.- Т.2. -576 с.
4. Стеченко Л.О. Патент №27821, Україна, МПК G09B23/28(2006.01) Спосіб моделювання гіпотиреозу у щурів / Л.О. Стеченко, В.А. Петренко, П.Л. Бик, В.Р. Кузян, Т.П. Куфтирева. - Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця-№u200708689; Заявл. 30.07.2007.
5. Балаболкин М.И. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний / М.И. Балаболкин, Е.М. Клебанова, В.М. Креминская. – Москва, 2008. -751 с.

УДК 611.453:576.31:616.441-008.64

МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ АДРЕНОКОРТИКОЦІТІВ ЩУРІВ В УМОВАХ СТІЙКОГО НЕКОМПЕНСОВАНОГО ГІПОТИРЕОЗУ

Рубінштейн А.М., Куфтирева Т.П., Довгань Р.С.

Резюме. У статті вивчаються ультраструктурні зміни аденокортикоцитів, що розвиваються на фоні стійкого некомпенсованого гіпотиреозу. Дослідження проводилися методом електронної мікроскопії з наступним морфометричним аналізом отриманих результатів.

На пізніх строках гіпотиреозу розвивається масова деструкція аденокортикоцитів при збільшенні активності функціонуючих клітин. На фоні відсутності ознак регенерації КВНЖ компенсация протікає за рахунок поліплоїдизації. Найбільших змін зазнають структури ендокринного та енергосинтезуючого апаратів.

Ключові слова: ультраструктура, аденокортикоцит, гіпотиреоз, електронна мікроскопія, морфометричний аналіз.

УДК 611.453:576.31:616.441-008.64

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АДРЕНОКОРТИКОЦИТОВ КРЫС В УСЛОВИЯХ СТОЙКОГО НЕКОМПЕНСИРОВАННОГО ГИПОТИРЕОЗА

Рубинштейн А.М., Куфтырева Т.П., Довгань Р.С.

Резюме. В статье рассматриваются ультраструктурные изменения аденокортикоцитов, развивающиеся на фоне стойкого некомпенсированного гипотиреоза. Исследования проводились методом электронной микроскопии с последующим морфометрическим анализом полученных результатов.

На поздних сроках гипотиреоза развивается массовая деструкция аденокортикоцитов при увеличении активности функционирующих клеток. На фоне отсутствия признаков регенерации КВНЖ компенсация протекает за счет полиплоидизации. Максимальных изменений претерпевают структуры эндокринного и энергосинтетического аппаратов.

Ключевые слова: ультраструктура, аденокортикоцит, гипотиреоз, электронная микроскопия, морфометрический анализ.

UDC 611.453:576.31:616.441-008.64

MORPHOMETRIC ANALYSIS ADRENOCORTICOTITSOV RATS IN THE STAND UNCOMPENSATED HYPOTHYROIDISM

Rubinstein A.M., Kuftyreva T.P., Dougan R.S.

Summary. Ultrastructural changes of the adrenocorticytes during the persistent uncompensated hypothyroidism were studied in the article. Researches were carried out on white female rats by a method of an electronic microscopy; the morphometric analysis of the received results was done.

Massive destruction of adrenocorticytes with the activity rise of the remaining was found on the late stages of the persistent uncompensated hypothyroidism. On the background of the absence regeneration features compensation develops by the polyplodisation. On the ultrastructural level the endocrine and energetic apparatus were affected.

Key words: ultrastructure, adrenocorticyte, hypothyroidism, electronic microscopy, morphometric analysis.

Стаття надійшла 15.03.2011 р.