

© Бойко В. В., Невзоров В. П., Невзорова О. Ф., Замятин П. Н., Омельченко В. Ф., Проценко Е. С., Ремнёва Н. А.

УДК 616.61/.63-018-575.344:616.001.17-089.11-092.9

Бойко В. В., Невзоров В. П., Невзорова О. Ф., Замятин П. Н.,

Омельченко В. Ф., Проценко Е. С., Ремнёва Н. А.

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ПЕРЕСТРОЙКИ КЛЕТОК ПОЧЕЧНОГО НЕФРОНА КРЫС С МОДЕЛИРОВАННЫМ ТЕРМИЧЕСКИМ ОЖОГОМ

ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева

НАМН Украины» (г. Харьков)

ivanova_tatiana@ukr.net

Работа выполнена в рамках НИР «Разработать критерии диагностики, методы профилактики и лечения общих и местных гнойно-септических осложнений ожоговой болезни» (№ государственной регистрации 0114U006574 П 04.15).

Вступление. Известно, что тяжёлые ожоги, как правило, постоянно сопровождаются существенными нарушениями функции почек. Интерес к выяснению сущности ожоговой болезни со временем возрастает, так как количество нерешенных проблем не сокращается. При этом имеет место значительные расстройства кровообращения, следствием которого является развитие дистрофических изменений в эпителиальных клетках почечного нефрона [3,4,11]. Рассмотрение патогенеза ожоговой болезни с позиций развития дистрофических и деструктивных нарушений на субклеточном уровне даёт возможность проводить целенаправленную коррекцию состояния обожжённых больных и существенно влиять на коррекцию самой сущности ожоговой болезни.

Тактика лечения обожжённых становится более эффективной, если используются знания процессов протекающих во всех органах на субклеточном уровне [9,11,12].

Анализ литературы позволяет констатировать, что достижения последних лет в комплексном лечении ожоговой болезни были достигнуты благодаря комплексному изучению всех нарушений органов и систем организма обожжённых. У этой категории больных осложнения встречаются часто, в том числе и опасные для жизни, что свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения их причин [6,10]. Необходима детализация и углубление представлений о процессах, протекающих на субмикроскопическом и макромолекулярном уровнях. Знание динамики развития перестроек ультраструктурной организации клеток почечного нефрона, больных

с ожоговой болезнью существенно дополнит тактику лечения и сделает само лечение более эффективным.

Цель исследования – изучить влияние тяжёлой ожоговой травмы на динамику перестроек ультраструктуры органелл эпителиальных клеток почечного нефрона, а также изменения их субмикроскопической архитектоники при введении экстракта обожжённой ткани.

Объект и методы исследования. В эксперименте использовали крыс-самцов линии Вистар, которым моделировали смертельный ожог. В дальнейшем животных забивали через три часа и через 3 суток, когда животные находились в предагональном состоянии и производили забор ткани почек для электронно-микроскопического исследования. Другой группе крыс ожог не наносился, а вводился экстракт обожжённой кожи. Контролем качества гистологической обработки служили кусочки ткани интактных экспериментальных животных.

Эксперименты на животных проведены в соответствии с Общими принципами работы на животных, одобренными 1-м Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, Украина, 2001) и согласованными с положением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, Франция, 1985).

Для электронно-микроскопических исследований кусочки ткани почек после предварительной фиксации в 2,5% растворе глутарового альдегида фиксировали в 1%-ном забуференном растворе четырёхокси осмия в течение 2-3 часов, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне. Пропитывали и заключали в смесь эпоксидных смол (эпон-аралдит) по общепринятым методикам. После полимеризации в желатиновых капсулах из блоков получали ультратонкие срезы на ультра-

микротоме УМТП-3, и после контрастирования их цитратом свинца, изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100 БР при ускоряющем напряжении 75 кв.

Результаты исследования и их обсуждение.

Электронно-микроскопическое исследование ультраструктурной организации эпителиальных клеток почечного нефрона intactных животных показало адекватность применяемых методов гистологической обработки ткани, так как эпителиальные клетки имели субмикроскопическую архитектуру соответствующую современным представлениям. Дефектов мембран и полимеризационных повреждений не выявлено.

Через 3 часа после нанесения ожоговой травмы наблюдались умеренно выраженные перестройки эпителиальных клеток проксимального отдела почечного нефрона. Субмикроскопическая организация этих клеток свидетельствовала о повышении активности метаболических процессов, вероятно, связанная с адаптационно-компенсаторными реакциями.

Ядра эпителиоцитов проксимального отдела нефрона располагались в базальном отделе цитоплазмы. Матрикс их содержал преимущественно гранулы деконденсированного хроматина. Перинуклеарные пространства местами были неравномерно расширены. Наблюдалось увеличение количества мелких деформаций ядерной мембраны (рис. 1).

Матрикс митохондрий мелкозернистый, обладает неравномерной электронной плотностью. Наблюдалось множественные деформации наружных мембран митохондрий. Умеренно расширены цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума, а на мембранах его присутствовало множество рибосом. В цитоплазме отдельных клеток присутствовали вторичные лизосомы и включения липидов.

Микроворсинки были набухшими. В области цитоплазмы, прилежащей к микроворсинкам, гиалоплазма была несколько просветлена и содержала мало органелл. Цитоплазматическая и базальная мембраны без существенных изменений. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи умеренно гипертрофирован.

Ультраструктура эпителиальных клеток дистального отдела нефрона существенных изменений через 3 часа после ожога не претерпевала. Все органеллы имели изменения, степень выраженности которых лежали в пределах физиологической компенсации. Существенно увеличилось количество деформаций внутриклеточных мембран.

Спустя 3 суток после нанесения смертельного ожога, когда животные находились в предагональном состоянии, в субмикроскопической организации эпителиальных клеток проксимального отдела нефрона развивались нарушения, глубина и степень выраженности которых варьировали в широких пределах.

Большая часть клеток имела электронно-прозрачную цитоплазму с небольшим количеством органелл (рис. 2). Кариоплазма эпителиоцитов была сильно просветлена и разрежена, глыбки конденса-

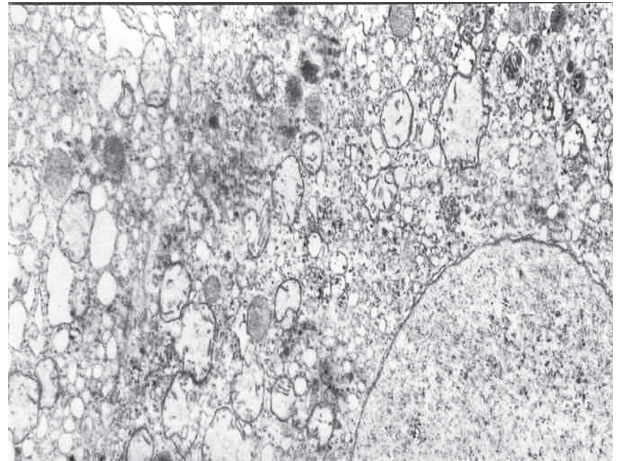


Рис. 1. Ультраструктура эпителиоцитов проксимального отдела нефрона крыс через 3 часа после моделирования ожоговой травмы. Гипертрофия пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. x 39 000.

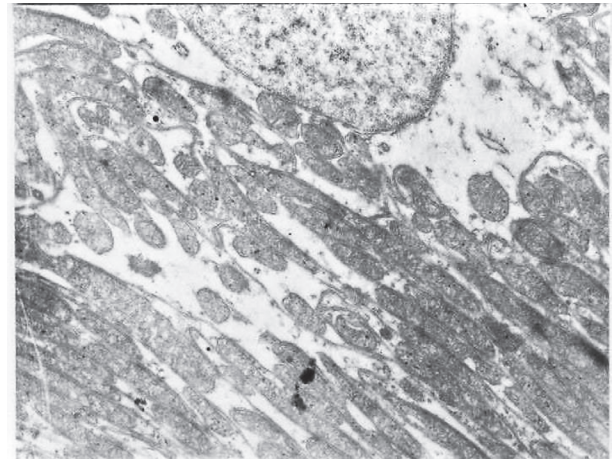


Рис. 2. Ультраструктура эпителиальных клеток проксимального отдела нефрона почек крыс через 3 суток после моделирования ожоговой травмы. Уменьшение количества органелл в перинуклеарной области цитоплазмы. x 37 000.

рованного хроматина располагались в виде небольших скоплений. Матрикс митохондрий приобретал высокую электронную плотность, кристы в них были большей частью разрушены. Довольно часто встречались митохондрии с тотально разрушенными наружными мембранами и кристами. Наружная мембрана митохондрий имела глубокие инвагинации (рис. 3).

Сильно расширенные цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума приобрели вид больших электронно-прозрачных вакуолей, свободно лежащих в цитоплазме. У значительного количества эпителиоцитов наблюдалась фрагментация мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума. Микроворсинки набухшие, разрыхленные, заполнены бесструктурной субстанцией, обладающей более высокой электронной плотностью, чем

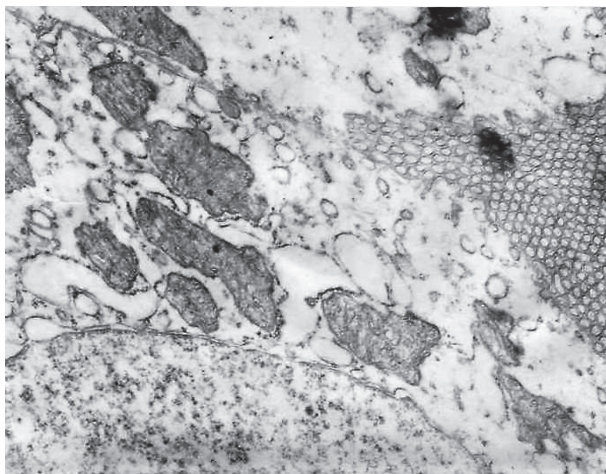


Рис. 3. Ультраструктура эпителиальных клеток проксимального отдела нефрона почек крыс через 3 суток после моделирования ожоговой травмы. Деформации наружных мембран митохондрий. x 39 000.

гиалоплазма клеток. Иногда обнаруживались разрушенные микроворсинки.

В области локализации пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи очень часто располагались вторичные лизосомы и включения липидов. Существенно снизилось количество деформаций ядерной мембраны, мембран гранулярной эндоплазматической сети и митохондрий.

Нарушения ультраструктуры эпителиальных клеток дистального отдела нефрона менее выражены. В них существенно меньше очагов лизиса мембранных структур.

У крыс, которым термическая травма не наносилась, а вводился экстракт термически пораженных тканей, ультраструктура клеток почечного нефрона приобретает ряд изменений сходных с нарушениями вызванными смертельной ожоговой травмой. Через 3 часа после введения экстракта обожженной кожи развивались дистрофические изменения органелл эпителиоцитов проксимального отдела нефрона, в виде разрыхления мембран ядра, митохондрий и гранулярного эндоплазматического ретикулума. Увеличивается число деформаций мембран. Часть клеток содержали очаги лизиса внутриклеточных мембран.

При электронно-микроскопическом исследовании эпителиоцитов проксимального отдела нефрона на 3 сутки после введения экстракта митохондрии в них были осмиофильны, с плохо различимыми укороченными кристами. Цистерны мембран гранулярной эндоплазматической сети представлены отдельными вакуолями, на них было небольшое число рибосом. Структуры других органелл и включений не отличались от таковых в предыдущих группах животных. Наблюдается общее просветление цитоплазмы (**рис. 4**).

Закключение. Спустя 3 часа после ожоговой травмы в эндотелиоцитах проксимальных и отделов нефрона наблюдались перестройки субмикроскопической архитектоники, характерные для функцио-

нального напряжения. Изменения в виде набухания митохондрий, расширения цистерн гранулярной эндоплазматической сети, увеличения количество деформаций мембран являются компенсаторными, вызванными включением резервных механизмов компенсации в ответ на негативные факторы внешней среды.

В предагональном состоянии крыс на 3 сутки после моделированного смертельного ожога изменения ультраструктуры эпителиальных клеток проксимального отдела нефрона носили более глубокий характер. Следует отметить полиморфизм поражения не только клеток, но и отдельных органелл внутри одной клетки.

Ультраструктура эпителиальных клеток дистального отдела нефрона на 3 сутки после введения экстракта обожженной кожи нарушена в меньшей степени, чем проксимального. В этих клетках отсутствовали тотальные разрушения митохондрий и фрагментация мембран гранулярной эндоплазматической сети. Тем не менее, митохондрии имели множественные очаги лизиса наружных мембран и крист. Очень часто встречались очаги лизиса и разрыхления мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума.

Изменения, обнаруженные в клетках, проксимальных канальцах почек крыс, погибших от смертельного ожога и воздействия экстракта обожженной кожи, в основном одинаковы.

Выявленные изменения в ультраструктурной архитектонике эпителиоцитов проксимального отдела нефрона через три часа после введения экстракта обожженной кожи носят не только компенсаторно-адаптационный характер, но и указывает на возрастание активности синтетических и метаболических процессов, что подтверждается увеличением числа деформаций внутриклеточных мембран.

Ультраструктурные нарушения органелл эпителиальных клеток дистального отдела нефрона существенно менее выражены, чем проксимального отдела.

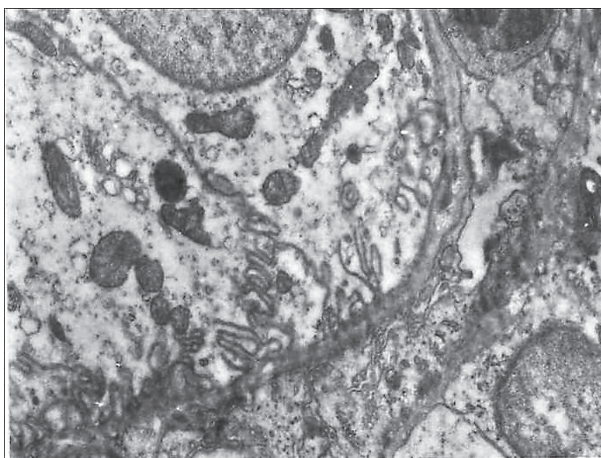


Рис. 4. Ультраструктура эпителиоцитов проксимального отдела нефрона почек крыс через 3 суток после введения экстракта обожженной ткани. x 39 000.

Выводы

1. Через три часа после ожоговой травмы в эндотелиоцитах проксимального и дистального отделов нефрона наблюдаются изменения компенсаторно-адаптационного характера, вызванные включением резервных внутриклеточных механизмов компенсации в ответ на негативные факторы внешней среды.

2. В предагональном состоянии у крыс в эпителиальных клетках проксимального и дистального отделов нефрона развиваются деструктивные процессы, связанные с активацией катаболических реакций, одним из подтверждений, которых является уменьшение числа деформаций мембран органелл.

3. Изменения, обнаруженные в клетках, проксимальных отделов нефрона у крыс, погибших от смертельного ожога и воздействия экстракта обожженной кожи, в основном, одинаковы.

4. Ультраструктурные нарушения органелл эпителиальных клеток дистального отдела нефрона существенно менее выражены, чем проксимального отдела.

Перспективы дальнейших исследований

В перспективе планируется исследование субмикроскопической перестройки клеток различных тканей и органов экспериментальных животных для определения наиболее значимых критериев развития общих осложнений ожоговой болезни.

Литература

1. Автандилов Г. Г. Системный стереометрический анализ ультраструктур клеток / Г. Г. Автандилов, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова. – Кишинёв: Штиинца, 1984. – 168 с. – С. 166.
2. Бойко В. В. Деформация внутриклеточных органелл, возникающая в процессе развития патологических состояний / В. В. Бойко, В. П. Невзоров // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2002. – № 4. – С. 49-54.
3. Григорьева Т. Г. Иммунологические аспекты ожоговой болезни / Т. Г. Григорьева, Л. С. Гончарова, В. П. Невзоров // Ожоговая болезнь: IV Республиканская конференция «Нарушения гемодинамики и их коррекция у обожженных», 25-26 сентября 1980, г. Одесса: тезисы докл. – Киев, 1980. – С. 33-34.
4. Зайцев В. Т. Острая ожоговая токсемия как центральная проблема современной комбустиологии / В. Т. Зайцев, Д. Е. Пекарский, П. В. Волошин и [др.] // Вторая Всесоюзная конференция по проблеме «Глубокие и обширные ожоги»: тезисы конф. – М., 1979.
5. Невзоров В. П. Метод интегральной оценки состояния гистоструктур, основанный на выводах теории информации / В. П. Невзоров // Депонированная рукопись № 1892-79. Деп. от 28 мая 1979. Реферат в биологическом указателе ВИНТИ «Депонированные рукописи». – 1979. – № 10. – б/0.41. – С. 17-18.
6. Невзоров В. П. Морфофункциональное состояние печени в условиях смертельного ожога / В. П. Невзоров // В сб. «Интенсивное лечение в комбустиологии и терапии». – Саранск, 1980. – С. 84-85.
7. Невзоров В. П. Информационное моделирование патологических процессов / В. П. Невзоров // В сб. «Моделирование медико-техническое обеспечение лечебно-диагностического процесса». – Харьков, 1983. – С. 77-78.
8. Невзоров В. П. Перспективы морфометрических исследований ультраструктур / В. П. Невзоров // В сб.: Применение электронной микроскопии в медицине: тезисы областной научной конференции. – Иваново-Франковск, 1989. – С. 95.
9. Невзоров В. П. Системный стереометрический анализ структурных компонентов печени. Новые приложения морфометрии и математического моделирования в медико-биологических исследованиях / В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова, Л. В. Яковлева // Тезисы докладов научно-практической конференции. – Харьков, 1990. – С. 148.
10. Невзорова О. Ф. Субмикроскопические аспекты патогенеза полиорганной недостаточности / О. Ф. Невзорова, И. А. Тарабан, В. П. Невзоров // Харківська хірургічна школа. – 2010. – № 4 (42). – С. 54-62.
11. Пекарский Д. Е. Клинико-морфологическая характеристика ожоговой токсемии / Д. Е. Пекарский, Л. С. Гончарова, О. М. Захаренко [и др.] // Клиническая хирургия. – № 3. – 1981. – С. 4-7.
12. Пекарский Д. Е. Результаты хирургического лечения раневых рубцовых и иных дефектов кожи методом дермотензии / Д. Е. Пекарский, Т. Г. Григорьева, Г. А. Олейник [и др.] // Восстановительная хирургия послеожоговых рубцовых деформаций. – М., 1990. – С. 91-92.

УДК 616.61/.63-018-575.344:616.001.17-089.11-092.9

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ПЕРЕБУДОВИ КЛІТИН НИРКОВОГО НЕФРОНА ЩУРІВ З МОДЕЛЬОВАНИМ ТЕРМІЧНИМ ОПІКОМ

Бойко В. В., Невзоров В. П., Невзорова О. Ф., Замятін П. М., Омельченко В. Ф., Проценко О. С., Ремньова Н. А.

Резюме. Електронно-мікроскопічними дослідженнями показано, що через 3 години після опікової травми в ендотеліоцитах проксимальних відділів нефрона спостерігалися перебудови субмікроскопічної архітектури, характерні для функціональної напруги. Виявлені набухання мітохондрій, розширення цистерн шорсткого ЕПР, збільшення кількості деформацій мембран, що свідчить про включення резервних механізмів компенсації у відповідь на негативні фактори зовнішнього середовища. У предагональному стані після модельованого смертельного опіку зміни ультраструктури епітеліальних клітин проксимального відділу нефрона носять більш глибокий характер. Зміни, виявлені в клітинах проксимальних каналців нирок щурів, загинувших від смертельного опіку і впливу екстракту обпаленої шкіри, в основному однакові. Ультраструктурні порушення органелл епітеліальних клітин дистального відділу нефрона істотно менш виражені, ніж проксимального відділу.

Ключові слова: опікова хвороба, ультраструктура нефрона, деформація мембран.

УДК 616.61/.63-018-575.344:616.001.17-089.11-092.9

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ПЕРЕСТРОЙКИ КЛЕТОК ПОЧЕЧНОГО НЕФРОНА КРЫС С МОДЕЛИРОВАННЫМ ТЕРМИЧЕСКИМ ОЖОГОМ

Бойко В. В., Невзоров В. П., Невзорова О. Ф., Замятин П. Н., Омельченко В. Ф., Проценко Е. С., Ремнёва Н. А.

Резюме. Электронно-микроскопическими исследованиями показано, что спустя 3 часа после ожоговой травмы в эндотелиоцитах проксимальных отделов нефрона наблюдались перестройки субмикроскопической архитектоники, характерные для функционального напряжения. Выявленные набухания митохондрий, расширения цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, увеличение количества деформаций мембран, что свидетельствует о включении резервных механизмов компенсации в ответ на негативные факторы внешней среды. В предагональном состоянии после моделированного смертельного ожога изменения ультраструктуры эпителиальных клеток проксимального отдела нефрона носят более глубокий характер. Изменения, обнаруженные в клетках проксимальных канальцах почек крыс, погибших от смертельного ожога и воздействия экстракта обожженной кожи, в основном одинаковы. Ультраструктурные нарушения органелл эпителиальных клеток дистального отдела нефрона существенно менее выражены, чем проксимального отдела.

Ключевые слова: ожоговая болезнь, ультраструктура нефрона, деформация мембран.

UDC 616.61/.63-018-575.344:616.001.17-089.11-092.9

SUBMICROSCOPIC RESTRUCTURING IN RENAL NEPHRON CELLS OF RATS WITH SIMULATED THERMAL BURNS

Boiko V. V., Nevzorov V. P., Nevzorova O. F., Zamyatin P. N., Omelchenko V. F., Protsenko E. S., Remnyova N. A.

Abstract. It is known that severe burns are usually accompanied by substantial impairment of renal function. Consideration of the pathogenesis of burn disease from the standpoint of dystrophic and destructive disorders at the subcellular level, makes it possible to carry out a targeted state correction burnt patients and significantly affect the very essence of the correction of burn disease.

Tactics of treatment of patients with burns becomes more effective if are used knowledges of the processes occurring in all organs at the subcellular level.

The aim of this study is to study the impact of severe burn injuries on the dynamics of rearrangements in organelle ultrastructure of epithelial cells in renal nephron, as well as changes in their submicroscopic architectonics while the introduction of extract of burned tissue.

In the experiment were used male rats of breed Wistar, in which was simulated fatal burns. Subsequently, the animals were sacrificed after three hours or after 3 days, when the animals were in preagonic state; after that we made sampling of kidney tissue for electron microscopic examination. The burns haven't been caused to another group of rats, while the extract of burnt skin was introduced. Quality control of the histological processing were pieces of tissue of intact experimental animals.

Electron microscopic study of the ultrastructural organization of epithelial cells of renal nephron of intact animals showed the adequacy of the used methods of histological processing of tissue, since epithelial cells had submicroscopic architecture relevant to the modern concepts. Degradation of membranes and polymerization damages are not identified.

3 hours after burn injury in the epithelial cells of the proximal parts of the nephron observed reorganization of submicroscopic architectonic typical for functional tension. The changes in the form of swelling of mitochondria, expansion of cisterns in granular endoplasmic reticulum, increasing the number of membrane deformations are compensatory, caused by the inclusion of reserve compensation mechanisms in response to adverse environmental factors.

In the preagonal state of rats on the third day after the simulated fatal burns changes in the ultrastructure of the epithelial cells of the proximal part of nephron were deeper. It should be noted the polymorphism of destruction not only of the cells, but also of certain organelles inside a single cell.

Ultrastructure of epithelial cells of distal part of nephron 3 hours after introduction of extract of burned skin was disturbed in a less degree than the proximal. Total destruction and fragmentation of mitochondria membranes of the granular endoplasmic reticulum were absent in these cells. However, the mitochondria had multiple foci of lysis in outer membranes and cristae. Very often there are foci of lysis and loosening of granular endoplasmic reticulum membranes.

The changes detected in the cells of the proximal tubules of the kidney of rats died from fatal burns and from the impact of the burnt skin extract, are essentially the same.

The revealed changes in the ultrastructural architectonics of epithelial cells of proximal part of nephron three hours after the introduction of the extract of burned skin are not only compensatory and adaptive character, but also points to an increase in activity of synthetic and metabolic processes, as evidenced by the increasing number of intracellular membrane deformations.

The ultrastructural organelles disturbances of epithelial cells in distal part of nephron are much less pronounced than in the proximal part.

Conclusions

1. Three hours after burn injury in the epithelial cells of the proximal and distal parts of nephron observed changes of compensatory and adaptive nature, caused by the inclusion of reserve intracellular compensation mechanisms in response to adverse environmental factors.

2. In preagonal state in epithelial cells of the proximal and distal parts of the nephron of rats developed destructive processes associated with activation of catabolic reactions, one of evidence is reduction of the number of deformations in organelle membranes.

3. The changes detected in the cells of the proximal nephrons of rats died from fatal burns and from the impact of the burned skin extract were substantially identical.

4. The ultrastructural organelles disturbances of epithelial cells in distal part of nephron are much less pronounced than in the proximal part.

Keywords: submicroscopic restructuring, nephron cells, simulated thermal burns.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 04.01.2016 року