

Н.Н. Бондаренко, Т.В. Звягина, Е.В. Черешнева

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ИЗМЕНЕНИЙ NOS ПОЧКИ КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ РЕАКТИВНОСТЬЮ ОРГАНИЗМА В ДИНАМИКЕ ПОСТОБСТРУКТИВНОГО ПЕРИОДА

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького

Ключевые слова: почка, метаболизм NO, обструкция мочеточника

В эксперименте моделировали одностороннюю 48-часовую обструкцию мочеточника 33 белым крысам. На криостатных срезах почек гистохимически исследовали активность НАДФ H₂-диафоразы, *in vitro* оценивали чувствительность адренорецепторов. Через 7 дней обструкции установили максимальную активность фермента в почечных канальцах у крыс с повышенной и минимальную - у крыс со сниженной адренореактивностью. На 30-е сутки восстановительного периода изменения метаболизма NO сохранились у крыс с измененной реактивностью организма.

В настоящее время достаточно хорошо исследована локализация различных изоформ NOS в структурах почки, известна роль NO в регуляции почечной гемодинамики, развитии воспаления и иммунных реакций в органе, формировании гломерулопатий различного генеза [4, 7]. Тем не менее, изучение влияния активации iNOS на метаболизм канальцев нефронов так и не позволило однозначной трактовки – повышенную продукцию NO расценивают либо как защитный либо повреждающий механизм [3, 5, 8]. Что касается обструкции экстраренального генеза, то проблема изменений NOS в формировании постобструктивной нефропатии не получила дальнейшего развития, хотя очевидно, что степень альтеративных изменений нефронов, эффективность адаптивных и/или компенсаторных восстановительных реакций паренхимы органа определяются рядом факторов нейрогуморальной регуляции, обусловленных реактивностью организма [9].

Цель работы – оценка изменений активности NOS и состояния нефронов почки после устранения обструкции мочеточника (ОМ) у крыс с нормальной и измененной адренореактивностью организма.

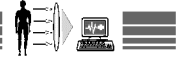
МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 33 белых крысах-самцах массой 220±15 г. Контрольную группу составили 5 интактных крыс. 28 крысам моделировали 48-часовую одностороннюю обструкцию мочеточника в условиях тиопенталового наркоза (40 мг/кг массы). Морфологию почек изучали через 7, 14 и 30 суток после обструкции на парафиновых срезах. С помощью морфометрического метода [1] исследовали удельные объемы канальцев нефронов с признаками альтерации и репарации в 4-х зонах органа по J.Pfaller. На криостатных срезах почек гистохимически (тетразолиевым методом) исследовали активность маркерного фермента NOS – НАДФ H₂-диафоразы. Реактивность организма оценивали по изменениям чувствительности β2-адренорецепторов тромбоцитов в тестах *in vitro* с помощью спектрофотометрического метода путем инкубации с агонистами [2]. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета компьютерных прикладных программ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам тестов *in vitro* крысы были распределены на 3 группы с нормальной (1-я группа, n=10), повышенной (2-я группа, n=8) и сниженной чувствительностью

адренорецепторов (3-я группа, n=10). При морфометрическом исследовании почек крыс 2-й группы через 7 суток после ОМ обращала на себя внимание большая распространенность проксимальных канальцев (ПК) с признаками альтерации (десквамация клеток) в корковом веществе по сравнению с 1-й группой (их удельный объем составил соответственно 4,23±0,10% и 1,69±0,08%, p<0,05), тогда как в канальцах наружного мозгового вещества (преимущественно толстые восходящие петли, ТВЧПГ, юкстамедуллярных нефронов) доминировали гидропические изменения в виде вакуолизации клеток, которые у крыс 2-й группы встречались в 4,25 раза чаще, чем в 1-й группе (p<0,01). К 30-м суткам восстановительного периода у крыс 1-й группы значительно снижался удельный вес деструктивно и гидропически измененных канальцев (соответственно до 1,08±0,05% и 2,94±0,11%, p<0,05) тогда как во 2-й группе в корковом веществе удельный объем канальцев с признаками альтерации сохранялся на более высоких значениях (3,17±0,10%), кроме того, часть почечных телец суперфициальных и корковых нефронов (22,1±0,08%) носила признаки гломерулосклероза. Распределение гранул диформаза в срезах почек крыс 2-й группы продемонстрировало их количественное преобладание в приносящих артериолах и мезангиуме клубочков суперфициальных и кортикальных нефронов, а также в вакуолизованных ТВЧПГ наружной медуллы, принадлежащих юкстамедуллярным нефронам, тогда как в 1-й группе гранулы продукта гистохимической реакции в умеренном количестве имели место в почечных тельцах и канальцах суперфициальных нефронов и дистальных канальцах корковых нефронов (нормального строения и вакуолизованных). Активация выработки NO в приносящих артериолах клубочков ведет к уменьшению ренального кровотока и экскреции натрия за счет сосудорасширяющих свойств NO, что в условиях нарушения пассажа мочи может явиться компенсаторной реакцией для сохранения функциональной полноценности органа. Принимая во внимание накапливающиеся литературные данные, которые позволяют предполагать существенную роль NO в модуляции парасимпатического и симпатического эффекторного контроля [6, 9], эффект NO можно расценивать как угнетающий симпатическую активность на периферическом уровне. Тем не менее, если на ранних сроках восстановительного периода данная реакция носила компенсаторный характер, то к концу периода наблюдения паракринный эффект NO проявился в скле-



розировании почечных телец, что является неблагоприятным прогностическим признаком. Причиной данного явления может быть прямой нефротоксический эффект NO, заключающийся в его способности ингибировать тканевое дыхание, провоцировать ишемическое повреждение и нефросклероз [4,8]. NO, продуцируемый эпителиоцитами канальцев с высокой активностью NOS, вероятно, изменяет тубулярную реабсорбцию веществ. Судя по колокализации НАДФ H₂-диафоразы и вакуолизованных канальцев нефронов можно предположить адаптивную роль NO в форме снижения базолатерального транспорта ионов и внутриклеточной задержки реабсорбируемой воды, призванных сохранить энергетические ресурсы клеток.

У животных со сниженной адренореактивностью организма (3-я группа) в почечных канальцах всех изученных зон на 7-е, 14-е и 30-е сутки доминировали гидропические изменения. Канальцы с признаками альтерации имели место в корковом веществе (1-2-я зоны), причем их удельный объем был высоким на 7-е сутки по сравнению с 1-й группой (соответственно $3,77 \pm 0,09\%$ и $2,26 \pm 0,03\%$), однако в динамике восстановительного периода показатель достоверно снижался, составив на 30-е сутки $1,32 \pm 0,04\%$). Почечные тельца нефронов 1-2-й зон в течение первых 7 дней после ОМ носили признаки гипопилотриации, а с 14-х суток не отличались по строению от контрольных. У крыс данной группы на 7-е сутки после ОМ обнаружили минимальное количество продукта гистохимической реакции по сравнению с другими группами во все сроки эксперимента. При этом активность фермента обнаруживалась преимущественно в почечных тельцах и дистальных канальцах корковых нефронов (1-я и 2-я зоны) и медуллярных прямых сосудах (5-7-я зоны). Однако, в дальнейшем количественная динамика активности фермента носила волнообразный характер – уже на 14-е сутки количество гранул диформаза в данных структурах значимо возрастало, а к 30-м суткам снижалось, но не достигало значений показателя в начале эксперимента. Бондаренко Т.В., Звягина Т.В., Черешнева С.В.

Гетерогенність змін NOS нирки щурів з різною реактивністю організму в динаміці постобструктивного періоду
В експерименті моделювали однобічну 48-годинну обструкцію сечівника 33 білими щурами. На криостатних зрізах нирок гістохімічно досліджували активність НАДФ H₂-діафрази, *in vitro* оцінювали чутливість адренорецепторів. Через 7 днів після обструкції встановили максимальну активність ферменту в ниркових канальцях у щурів з підвищеною і мінімальну - у щурів із зниженою адренореактивністю. На 30-у добу відновного періоду зміни метаболізму NO зберігались у щурів із зміненою реактивністю організму.

Ключові слова: нирка, метаболізм NO, обструкція сечівника

N.N.Bondarenko, T.V.Zvyagyna, E.V.Chereshneva

Heterogeneous of NOS changes in a rat kidney with different reactivity of the organism in the dynamics of a postobstructive period

On the experiment one-fold 48-hours ureter obstruction in 33 white rats has been exposed. The activity of NADPH₂-diaphorase has been investigated histochemically on a frozen sections, sensitivity of adrenoreceptors has been estimated *in vitro*. After 7 day of obstruction a maximal activity of enzyme was determined in renal tubules in rats with increased adrenoreactivity and a minimal one - in rats with decreased adrenoreactivity. The 30th day of restoration demonstrated NO metabolism changes preserved in rats with modified reactivity of the organism.

Key words: kidney, NO metabolism, ureter obstruction

Сведения об авторах:

Бондаренко Н.Н., доцент, д.мед.н., профессор кафедры гистологии ДНМУ;
Звягина Т.В., профессор, д.мед.н., профессор кафедры госпитальной терапии ДНМУ;
Черешнева Е.В., ассистент кафедры гистологии ДНМУ.

Адрес для переписки:

Звягина Татьяна Витальевна, 83003, г.Донецк, пр.Ильича, 16, ДНМУ.

перимента. Реакция NOS спустя 2 недели после ОМ может трактоваться как адаптивная в ответ на гипоксию, формирующуюся при восстановлении пассажа мочи в органе [5,7,8].

ВЫВОДЫ

Таким образом, в восстановительном периоде после ОМ у крыс с повышенной и сниженной адренореактивностью организма изменения ферментативной активности NOS гетерогенны в количественном отношении, проявляются в разных отделах и группах нефронов, а также проявляют себя как полифункциональный паракринный фактор.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия.-М.: Медицина, 1990.-384с.
2. Баринов Э.Ф., Романенко В.Н., Бондаренко Н.Н. и др. Использование теста агрегации тромбоцитов *in vitro* для оценки адренореактивности организма // Лабораторная диагностика.-1999.-№4.-С.39-42.
3. Мойбенко А.А., Павлюченко В.Б., Даценко В.В., Майский В.А. Роль оксида азота в механизмах формирования рефлекторных вазомоторных реакций // Успехи физиологических наук.-2005.-Т.36, №4.-С.3-12.
4. Мухин И.В., Николенко В.Ю., Игнатенко Г.А. Роль оксида азота в патогенезе хронического гломерулонефрита // Нефрология.-2003.-Т.7, №1.-С.41-45.
5. Покровский В.И., Виноградов Н.А. Оксид азота, его физиологические и патофизиологические свойства // Терапевтический архив.-2005.-№1.-С.82-87.
6. Пшеничкова М.Г., Попкова Е.В., Бондаренко Н.А. и др. Катехоламины, оксид азота и устойчивость к стрессорным повреждениям: влияние адаптации к гипоксии // Рос. физиол. журнал.-2002.-Т.88, №4.-С.485-493.
7. Синяченко О.В., Звягина Т.В. Оксид азота в терапевтической практике.-Донецк: ООО "Юго-Восток, Лтд", 2001.-258с.
8. Chevalier R.L. Pathogenesis of renal injury in obstructive uropathy // Curr. Opin. Pediatr.-2006.-Vol.18, №2.-P.154-160.
9. Salivon I., Polina N. Constitution and reactivity of the organism // J. Physiol. Antropol. Appl. Human Sci.-2005.-Vol.24, №4.-P.497-502.

Поступила 12.02.2008г.