

УДК 612.465.084.1:616-002.1

*Т.М. Юрченко, Т.П. Говоруха, Л.М. Марченко, І.І. Кондаков, М.В. Рєпін  
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків*

## **УЛЬТРАСТРУКТУРА І ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ НИРОК ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ТОКСИЧНОЇ ГОСТРОЇ НИРКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ**

Морфофункціональне дослідження нирок щурів при моделюванні токсичної гострої ниркової недостатності однократним введенням 50%-вого гліцеролу показало глибокі канальцеві пошкодження нефрону з розвитком осередкового гідропічного і коліквацийного некрозу, які супроводжувались анурією, олігурією та двократним зменшенням швидкості гломерулярної фільтрації протягом двох тижнів.

**Ключові слова:** *гостра ниркова недостатність, гліцєролова модель, ультраструктура.*

Гостра ниркова недостатність (ГНН), незважаючи на суттєві досягнення у вивченні етіології та патогенезу, профілактики та лікування, залишається актуальною медичною проблемою [1, 2]. Більшість дослідників вважають, що основною ланкою в патогенезі ГНН, яка розвинулася в результаті гострих отруєнь, є порушення ниркового кровообігу і гемодинаміки при дії речовин, що викликають стан токсичного шоку і супроводжуються змінами тканинного метаболізму [3]. Ураження нирок багатоатомними спиртами досить поширене і має характерні клінічні прояви і морфологічну картину. Нефротоксичність спиртів пов'язана з утворенням продуктів їх метаболізму, зокрема щавлевої кислоти, гліоксалу та гліколевого альдегіду, яким притаманна активна протоплазматична і судинна дія. Продукти розщеплювання спиртів, проникаючи в ниркові клітини, підвищують осмотичну концентрацію рідини, що супроводжується їх гідропічною дистрофією [4]. Одним із головних факторів розвитку ГНН є окиснення і деструкція ліпідної основи клітинних мембран, які призводять до ушкодження клітин паренхіми нирки і порушення їх функцій. Дослідження тонких структурних основ дисфункції клітин нирки за умов ГНН дозволить розробити нові підходи до лікування цієї гострої патології та запобігти подальшому розвитку хронічної ниркової недостатності.

Метою даної роботи було морфофункціональне дослідження нирок щурів при моделюванні токсичної ГНН однократним введенням гліцеролу.

**Матеріал і методи.** Дослідження виконано на 40 білих безпородних щурах масою 200–300 г, віком 4 міс. Групу контролю склали 10 тварин. Для моделювання ГНН щурів витримували 24 год без їжі, після чого внутрішньом'язово вводили 50%-вий водний розчин гліцеролу в дозі 10 мл/кг маси тіла одноразово [2]. Тварин поміщали в обмінні клітки й збирали сечу в умовах спонтанного діурезу протягом доби, в пробах сечі і крові визначали рівень креатиніну. Розраховували швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) і канальцеву реабсорбцію [5]. Для електронно-мікроскопічних досліджень фрагменти нирок фіксували глутаровим альдегідом і тетроксидом осмію, поміщали в епон-аралдит. Напівтонкі зрізи забарвлювали метиленовим синім і основним фуксином. Ультратонкі зрізи контрастували ураніацетатом і цитратом свинцю. Ультраструктуру клітин вивчали за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К при прискорювальній напрузі 75 кВ.

Через 1, 7 та 14 діб після введення гліцеролу тварин контрольної і експериментальної груп піддавали евтаназії [6]. Усі експерименти проводилися відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів над тваринами», схвалених Першим національним

© Т.М. Юрченко, Т.П. Говоруха, Л.М. Марченко та ін., 2012

конгресом з біоетики (Київ, 2001). Отримані дані статистично обробили.

**Результати.** Дослідження функцій нирок через одну добу моделювання гліцеролової ГНН показали, що у щурів сформувалося гостре порушення видільної функції нирок (таблиця), яке характеризувалося анурією і високими показниками креатиніну крові – (286,0±20,0) мкмоль/л, що в сім разів перевищувало нормальні показники. Отримані дані свідчать про стан «шокової» нирки у експериментальних тварин. На тлі прямої токсичної дії гліцеролу і порушення кровообігу в нирці виживаність склала 50 % в першу добу.

При дослідженні напівтонких зрізів нирок щурів з експериментальною моделлю ГНН через сім днів після ін'єкції гліцеролу в структурі коркової речовини спостерігалися явища осередкової ішемії, що супроводжувалися лімфостазом і набряком інтерстицію.

Епітелій проксимальних і дистальних каналців був у стані гідропічної дистрофії (рис. 1, а). Просвіти каналців були нерівномірно розширені, деякі з них містили клітинний детрит і циліндри (рис. 1, б).

Цілісність базальних мембран у більшості випадків не була порушена. У мозковій речовині нирки також спостерігалися осередки

*Показники функціонального стану нирок при гліцероловій моделі гострої ниркової недостатності (ГНН) у щурів*

Показник	Контроль (n=5)	ГНН 1 доба (n=35)	ГНН 1 тиждень (n=17)	ГНН 2 тижні (n=10)
Виживаність, %	100	50*	50	100*
Добовий діурез, мл	30,12±0,3	–	11,04±0,1*	5,7±1,1*#
ШКФ, мл/хв	0,63±0,05	–	0,33±0,03*	0,38±0,02*
Креатинін крові, мкмоль/л	38,75±4,3	286,0±20,0*#	59,83±6,10*#	62,5±0,5*
Креатинін сечі, ммоль/л	1,27±0,01	–	7,83±6,10*	9,8±0,9*

*Примітка.* p<0,05; \* вірогідно в порівнянні з групою контролю; # в порівнянні з попереднім терміном спостереження.

Через один тиждень після введення гліцеролу стан гострого порушення видільної функції нирок зберігався. Про це свідчили олігурія, значне (майже двократне) зниження ШКФ, гіперкреатинінемія (концентрація креатиніну перевищувала показник інтактних тварин у середньому в 1,6 раза, p<0,05), показник концентрації креатиніну в сечі склав (7,83±6,10) ммоль/л, що у шість разів перевищувало норму (таблиця). Виживаність експериментальних тварин залишалася невисокою – 50 %.

Через два тижні після введення гліцеролу стан гострого порушення видільної функції нирок залишався стабільним. Про це свідчили олігурія, значне (майже двократне) зниження ШКФ, гіперкреатинінемія (концентрація креатиніну перевищувала показник інтактних тварин у середньому в 1,6 раза, p<0,05), показники концентрації креатиніну в сечі склали (9,8±0,9) ммоль/л, що семикратно перевищувало норму (таблиця).

дистрофічних змін в клітинах ниркових каналців, зокрема збиральних трубок. На 14-ту добу розвитку ГНН спостерігалися осередкові некротичні зміни епітелію каналців головних відділів, які посилювалися деструкцією базальних мембран, переважно дистальних каналців (рис. 2, а).

На різних рівнях нефрони були перекриті циліндрами і кристалами оксалату кальцію. У порожнині капсули клубочка спостерігався застій клубочкового ультрафільтрату, що супроводжувалося збільшенням набряку інтерстицію, де з'являлися лейкоцитарні інфільтрати (рис. 2, б).

Зрідка в інтерстиції спостерігалися геморагії. Такі зміни були характерні і для мозкової речовини нирки, вони також носили осередковий характер і відповідали за морфологічними критеріями олігоануричної стадії ГНН. Проте при експериментальній нефротоксичній ГНН ураження тканини нирки і, зокрема, тубулярний некроз, що розвивався

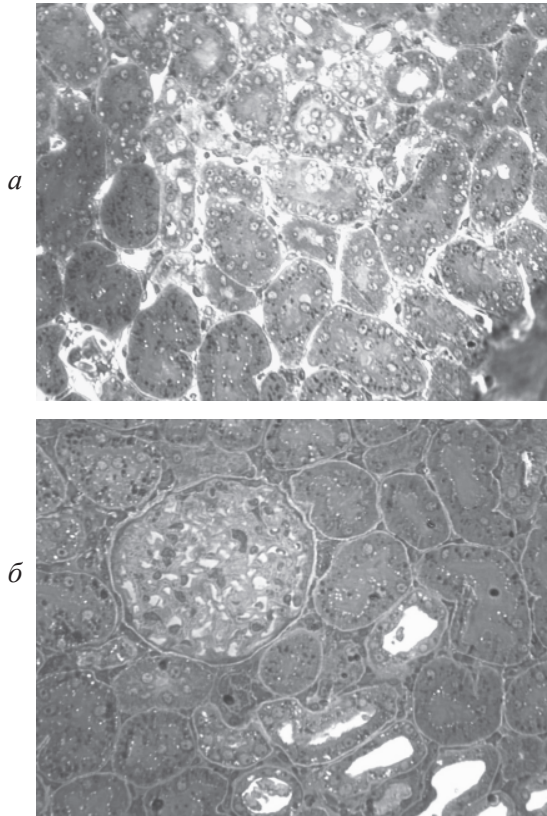


Рис. 1. Структура кори нирки щура з гострою нирковою недостатністю (1 тиждень після введення гліцеролу):  
*a* – осередок дистрофії канальцевого епітелію; *б* – розширення просвітів канальців з вмістом клітинного детриту і циліндрів. Напівтонкі зрізи. Забарвлення метиленовим синім і основним фуксином,  $\times 400$

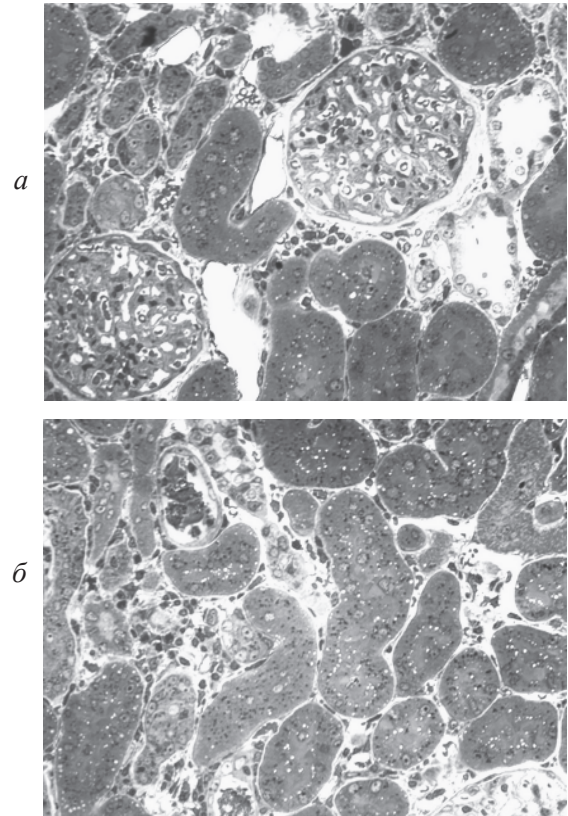


Рис. 2. Кора нирки щура з гострою нирковою недостатністю (2 тижні після введення гліцеролу):  
*a* – некроз епітелію канальців і лімфостаз; *б* – лейкоцитарна інфільтрація інтерстицію, обструкція канальців циліндрами. Напівтонкі зрізи. Забарвлення метиленовим синім і основним фуксином,  $\times 400$

у тварин, функціонально і морфологічно мали певні особливості [7].

Електронно-мікроскопічні дослідження свідчили про те, що на 14-ту добу розвитку ГНН спостерігалася значне розширення капілярів петель клубочків, які були заповнені еритроцитами і лімфоїдними клітинами (рис. 3). Ендотеліальні клітини сплющувалися, число органел в цитоплазмі значно зменшувалося. Базальні мембрани в основному були тонкими. В деяких петлях клубочків спостерігалася сегментарне відшаровування подоцитів від базальної мембрани. У мезангіальній ділянці деяких клубочків відбувалося збільшення мезангіального матриксу, виявлялися скупчення ліпофусцинових гранул. У клітинах проксимальних канальців спостерігалася зникнення і розрідження щіткової облямівки,

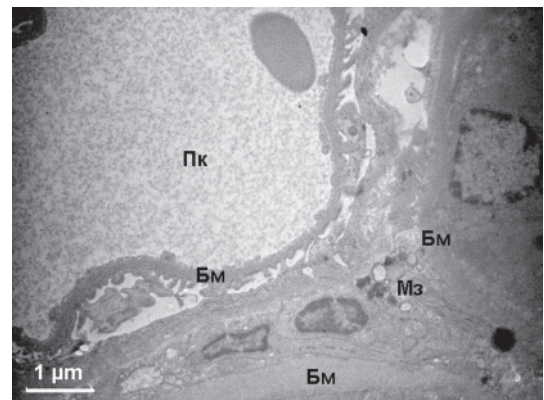


Рис. 3. Фрагмент капіляра клубочка щура з гострою нирковою недостатністю (2 тижні після введення гліцеролу). Пк – просвіт капіляра розширений; Бм – базальна мембрана капіляра стоншена; Мз – у відростках мезангіоцитів скупчення ліпофусцинових гранул



щільних контактів між клітинами, а також апікальне руйнування плазмолемі з виходом вмісту клітин у просвіт канальця (рис. 4, а).

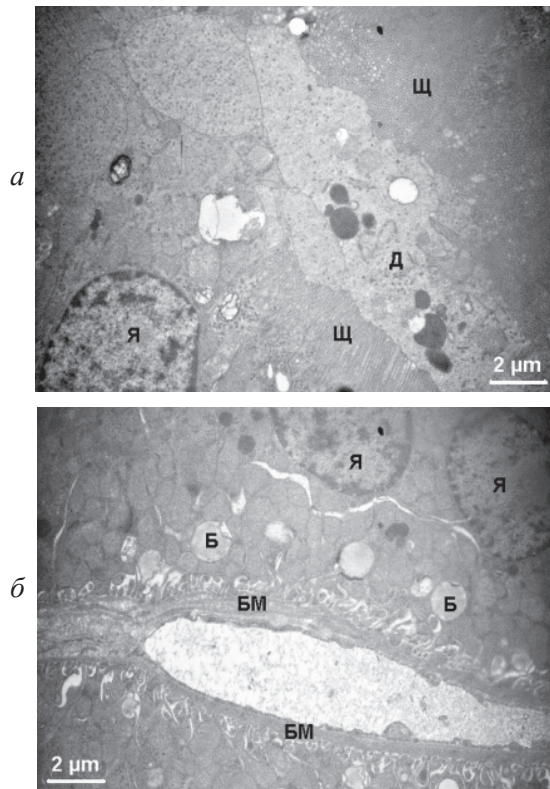


Рис. 4. Ультраструктура епітеліоцитів прямої частини проксимального відділу нефрону (гостра ниркова недостатність, 2 тижні після введення гліцеролу):

а – руйнування апікальної плазмолемі з виходом вмісту клітини в просвіт канальця; б – білкові краплини в базальній частині епітеліоцитів; Д – клітинний детрит в просвіті канальця; Щ – щіткова облямівка; Я – ядро епітеліоцита; Б – білкові краплі; БМ – базальна мембрана; Л – лімфотичний капіляр

У більшості епітеліоцитів проксимальних канальців число органел зменшувалося з утворенням електронно-світливих ділянок. У той же час в інших клітинах спостерігалось тільки деяке розширення ендоплазматичного ретикулуму, порушення орієнтації мітохондрій, гомогенізація матриксу і деструкція крист, що супроводжувалося їх набряканням. Зустрічалися також клітини з ознаками коліквацийного некрозу: підвищеною електронною щільністю і відсутністю чіткого малюнка ультраструктур. В апікальній частині клітин були відсутні вакуолі і везикули. Базальні мембрани проксимальних канальців тонкі, з

осередковими потовщеннями і локальним розшаруванням базальної мембрани в ділянці гідропічного некрозу. Разом з цим в клітинах з'являлися білкові краплі середньої електронної щільності, спостерігалось локальне розширення цистерн ендоплазматичного ретикулуму, а також розширення міжклітинних стиків (рис. 4, б).

В ділянці гідропічного некрозу базальні мембрани стоншувалися. Виявлялися вогнища лейкоцитарної інфільтрації інтерстицію в біляканальцевій зоні (рис. 5). У деяких клітинах прямої висхідної частини дистальних канальців спостерігалось розриви апікальної плазмолемі з виходом вмісту цитоплазми в просвіт. У ряді клітин виявлялися електронно-щільні ділянки з органелами, що не диференціювалися (коліквацийний некроз), а також відшаровування клітин від базальної мембрани. У клітинах з гідропічною дистрофією ядра характеризувалися зміною форми і маргінальним розташуванням гетерохроматину. Гідропічний і коліквацийний некроз виявлявся і в збиральних трубках.

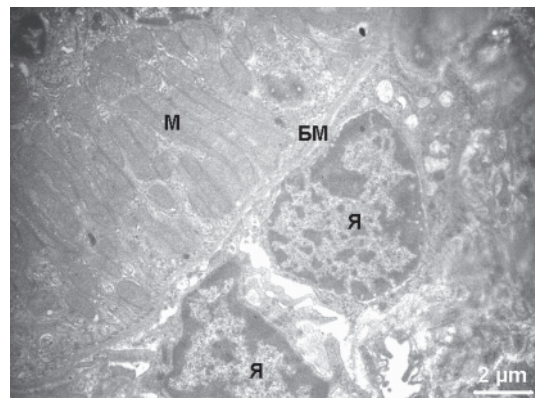


Рис. 5. Лейкоцитарна інфільтрація інтерстицію і стоншування базальної мембрани проксимального відділу нефрону щура з гострою нирковою недостатністю (2 тижні після введення гліцеролу). М – мітохондрії епітеліоцита; БМ – базальна мембрана; Я – ядра лейкоцитів

### Висновки

Однократне введення 50%-вого гліцеролу експериментальним тваринам призводить до порушення функціональних показників нирок: на стадії гострої ниркової недостатності виникали анурія та олігурія, удвічі зменшувалася швидкість гломерулярної фільтрації. Електронно-мікроскопічний аналіз тканини нирок при моделюванні нефротоксичної

гострої ниркової недостатності (1–2 тижні) показав глибокі, переважно каналцеві пошкодження нефрону з розвитком осередкового гідропічного і коліквацийного некрозу

в клітинах епітелію проксимальних і дистальних каналців. Через 14 діб після введення гліцеролу в тканині нирки спостерігалися ознаки розвитку інтерстиціального нефриту.

### Список літератури

1. *Казаченко А. В.* Протекторная и регенерационная терапия при остром и хроническом повреждении почки : автореф. дис. ... докт. мед. наук / А. В. Казаченко. – М., 2009. – 41 с.
2. Экспериментальная оценка новых технологий профилактики и лечения почечной недостаточности / В. И. Кирпатовский, А. В. Казаченко, Е. Ю. Плотников [и др.] // Эксперим. и клин. урология. – 2011. – № 2–3. – С. 33–39.
3. *Тареев Е. М.* Клиническая нефрология / Е. М. Тареев. – М. : Медицина, 1993. Т. 1. – 688 с.
4. Принципы и методы оценки нефротоксичности, связанной с воздействием химических веществ. – ВОЗ, Женева, 1994. – 284 с.
5. *Берхин Е. Б.* Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена / Е. Б. Берхин, Ю. И. Иванов. – Барнаул: Алтайск. кн. изд-во, 1972. – 199 с.
6. The European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Eur. Treaty Series. – 1986. – Vol. 123. – P. 1–48.
7. Метиларгенины у крыс в глицериновой модели острой почечной недостаточности / М. А. Гишинский, Р. И. Айзман, Г. А. Корощенко [и др.] // Бюл. СО РАМН. – 2100. – Т. 30, № 4. – С. 82–86.

***Т.Н. Юрченко, Т.П. Говоруха, Л.Н. Марченко, И.И. Кондаков, Н.В. Репин***

#### **УЛЬТРАСТРУКТУРА И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЧЕК КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ТОКСИЧЕСКОЙ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

Морфофункциональное исследование почек крыс при моделировании токсической острой почечной недостаточности однократным введением 50%-ного глицерола показало глубокие канальцевые повреждения нефрона с развитием очагового гидропического и колликвационного некроза, которые сопровождались анурией, олигурией и двукратным уменьшением скорости гломерулярной фильтрации в течение двух недель.

**Ключевые слова:** острая почечная недостаточность, глицероловая модель, ультраструктура.

***T.N. Yurchenko, T.P. Govorukha, L.N. Marchenko, I.I. Kondakov, N.V. Repin***

#### **ULTRASTRUCTURE AND FUNCTIONAL PECULIARITIES OF RAT KIDNEY DURING MODELLING OF TOXIC ACUTE NEPHRATONIA**

Morphofunctional investigation of rat kidney during modelling of toxic acute nephratonia with one-fold administration of 50 % glycerol showed deep nephron tubular damages with the development of focal hydropic and colliquative necrosis which were accompanied by anuria, oliguria and two-fold decrease of glomerular filtration rate during two weeks.

**Key words:** acute nephratonia, glycerol model, ultrastructure.

*Поступила 22.03.12*