

УДК 612.465.084.1:616-002.1

*Л.М. Марченко, Т.П. Говоруха, І.І. Кондаков, М.В. Рєпін, Т.М. Юрченко,
В.І. Строна, О.Ф. Брусенцов*

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

ВПЛИВ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ НИРОК ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ НИРКОВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ

Введення кріоконсервованого аlogenного екстракту плаценти на ранніх термінах токсичної ниркової недостатності поліпшує функціональні показники та стан ультраструктури тканин нирки до 8-го тижня після введення гліцерину, запобігає розвитку хронічної ниркової недостатності.

Ключові слова: *гліциринова модель ниркової недостатності, кріоконсервований екстракт плаценти, ультраструктура.*

Зважаючи на актуальність проблеми гострої та хронічної ниркової недостатності (ГНН і ХНН), зростаючи потребу в розробці рекомендацій щодо профілактики та лікування цих хвороб, дослідники приділяють значну увагу новим підходам до корекції функціональних і морфологічних змін тканини нирки [1, 2]. Експериментальні дані свідчать, що аlogenна кріоконсервована плацента, яка введена тваринам при експериментально викликаному запаленні, атеросклерозі та гіпотиреозі, здатна в терміни від одного до трьох тижнів коригувати ці патологічні стани, впливаючи на головні ланки патогенезу модельних захворювань [3].

Метою даної роботи було дослідження ультраструктури нирок щурів після введення аlogenного кріоекстракту плаценти на тлі експериментальної токсичної ниркової недостатності.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на 25 нелінійних білих щурах-самцях 4-місячного віку. Ниркову недостатність викликали шляхом одноразового внутрішньом'язового введення 50%-вого розчину гліцерину в дозі 10 мл на 1 кг маси тіла [2]. Тварин поділили на три групи: 1-ша група – інтактні щури (n=5); 2-га група – тварини з моделлю ниркової недостатності (n=10); 3-тя – щури з моделлю ниркової недостатності, яким через один тиждень після введення гліцерину (стадія шокової нирки) три рази (з перервою один день) внутрішньом'язово вводили 0,5 мл аlogenного кріоекстракту плаценти (n=10). Тварин 2-ї та 3-ї груп виводили з експерименту через три

тижні (олігоурична стадія розвитку ГНН) і вісім тижнів (стадія формування інтерстиціального нефриту, який є основою ХНН) [4]. Кріоконсервований екстракт плаценти виготовляли за методом [5]. Тварин усіх груп містили в обмінні клітки і збирали сечу в умовах спонтанного діурезу протягом доби, в пробах сечі і крові визначали рівень креатиніну. Розраховували швидкість клубочкової фільтрації і канальцеву реабсорбцію [6]. Для електронно-мікроскопічних досліджень фрагменти нирок фіксували глутаровим альдегідом і тетроксидом осмію, містили в епон-аралдит. Напівтонкі зрізи забарвлювали метиленовим синім і основним фуксином. Ультратонкі зрізи контрастували уранілацетатом і цитратом свинцю. Ультраструктуру клітин вивчали за допомогою електронного мікроскопа AT SELi (м. Суми) при прискорювальній напрузі 75 кВ. Всі експерименти проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів над тваринами», схвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) Отримані результати статистично обробили.

Результати. Відомо, що гліцерин – це осмотичний діуретик, який знижує реабсорбцію іонів натрію в дистальних відділах нефрону. При інтоксикації гліцирином спостерігається швидкий розвиток симптоматики ГНН, в основі патогенезу якої лежить здатність високих концентрацій осмотично активних речовин викликати вазоконстрикцію ниркових артеріол з розвитком ішемії мозкової речовини [7].

© Л.М. Марченко, Т.П. Говоруха, І.І. Кондаков та ін., 2015

Аналіз напівтонких зрізів кори нирки щурів через три тижні після введення гліцерину свідчив про розвиток тубулярної нефропатії з мінімальними змінами клубочків, що характерні для олігоуричної стадії ГНН. Некроз епітелію каналців з розпадом клітин, зморщуванням ядер носив фокальний характер. Довкола вогнищ некрозу спостерігалася запальна реакція інтерстицію з лімфоцитарно-гістіоцитарною інфільтрацією. У щурів, що піддавалися лікуванню алогенним кріоекстрактом плаценти, через один тиждень після його введення на тлі ГНН також спостерігалася осередковий некротичні зміни каналцевого епітелію.

При електронно-мікроскопічному дослідженні виявлялися сегментарні пошкодження капілярних петель клубочків у вигляді колапсу (рис. 1, а), збільшення мезангіального матриксу, реактивного стану ендотеліоцитів, які облітерували просвіт капіляра (рис. 1, б).

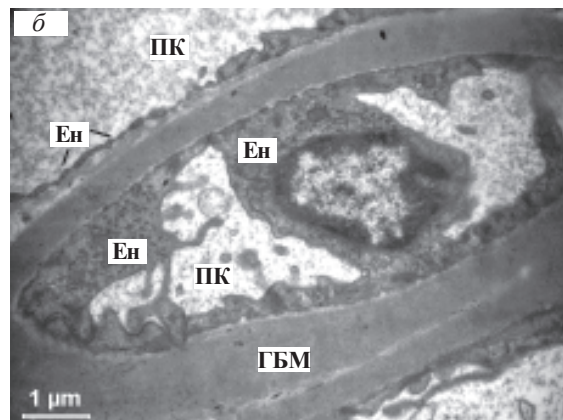
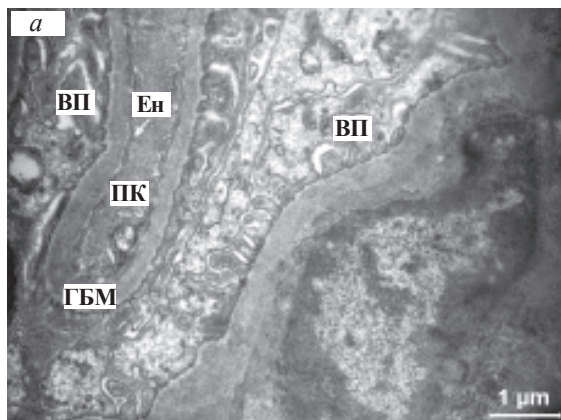


Рис. 1. Ультраструктура фрагментів ниркових клубочків щура через 3 тижні після введення гліцерину: а – колапс капілярних петель у нирковому клубочку; б – реактивний стан ендотелію кровоносного капіляра. ПК – просвіт капіляра; Ен – ендотелій; ВП – відросток подоциту; ГБМ – гломерулярна базальна мембрана

Базальні мембрани капілярів були нерегулярно потовщені. Мезангіальні клітини містили набряклі мітохондрії з електронно-світлим матриксом. Спостерігалася інтерпозиція мезангію. Зміни подоцитів виявлялися в осередковій втраті педикул і оголенні гломерулярної базальної мембрани. Крім того, тіла і відростки подоцитів також містили набряклі мітохондрії, вакуолі, мієліноподібні структури.

Епітелій ниркових каналців поза зонами повного некрозу і запалення характеризувався структурними ознаками різного ступеня дистрофічних і регенераторних процесів. Так,

епітеліоцити проксимального відділу нефрону, найбільш схильні до прямої дії нефротоксичних речовин, містили білкові, гіалінові і ліпідні краплі, вакуолі з пластинчастим вмістом (рис. 2).

Спостерігалася також розширення цистерн агранулярного ендоплазматичного ретикулула. Ультраструктура мітохондрій свідчила про напружене функціонування цих органел: прояснення матриксу, дисоціацію і навіть локальну деструкцію крист. У деяких дистальних каналцях спостерігалася розширення міжклітинних стиків з утворенням великих вакуолей в базальній частині клітин. До компенсаторно-регенераторних змін можна віднести появу двоядерних епітеліоцитів проксимальних каналців (рис. 3, а), агрегацію мітохондрій в клітинах дистального відділу, наявність химерних форм мітохондрій (рис. 3, б), утворення гігантських лізосом в епітеліоцитах проксимальних каналців (рис. 3, в). У міжканалцевому інтерстиції спостерігалася лімфоцитарно-гістіоцитарна інфільтрація.

У мозковій речовині нирки епітелій деяких збиральних трубочок характеризувався гіпертрофією комплексу Гольджі, розширенням цистерн гладкого ендоплазматичного ретикулула, локальною дисоціацією крист мітохондрій, розширенням міжклітинних контактів. Необхідно відзначити, що і тут виявлялися двоядерні епітеліоцити після введення алогенного кріоекстракту плаценти.

Аналіз напівтонких зрізів нирок щурів через вісім тижнів після введення гліцерину і шести тижнів після курсу лікування алогенним кріоекстрактом плаценти свідчив про

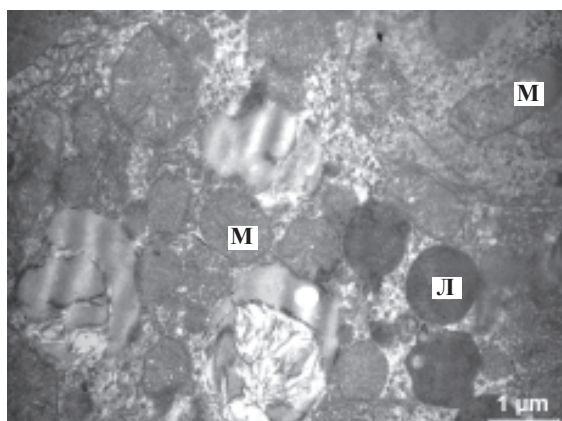


Рис. 2. Ліпідні і білкові включення в цитоплазмі епітеліоцита проксимального каналця кори нирки щура через 3 тижні після введення гліцерину.
М – мітохондрії; Л – лізосоми

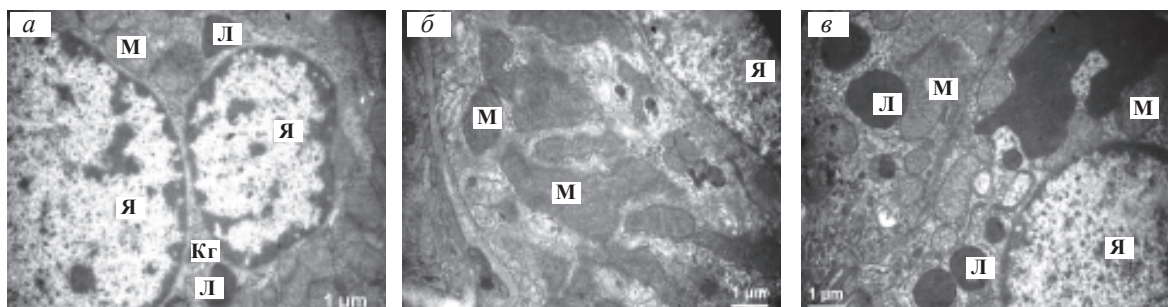


Рис. 3. Компенсаторно-регенераторні зміни епітеліоцитів головних відділів нефронів щура через 3 тижні після введення гліцерину і 1 тиждень після лікування КЕП:
а – двужадерний епітеліоцит проксимального відділу; б – агрегація мітохондрій епітеліоцита дистального відділу; в – гігантські лізосоми в епітеліоциті проксимального каналця.
Я – ядро; М – мітохондрії; Л – лізосоми; КГ – комплекс Гольджі

нормалізацію структури більшої частини каналців і клубочків кори нирки за наявності одиничних вогнищ дистрофічних змін і некрозу епітелію, лімфоцитарно-гістіоцитарної інфільтрації інтерстицію, повнокров'я, розширення міжканалцевих кровоносних і лімфатичних капілярів.

Електронно-мікроскопічним дослідженням клітин і гломерулярних базальних мембран клубочків кори нирки не виявлено дистрофічних уражень. Капілярний ендотелій відповідав нормі. Ультраструктура відростків подоцитів характеризувалася наявністю педикул, що прилягали до базальної мембрани капілярів з типовою будовою. Цитоплазма їх була електронно-світлою, містила дрібні мітохондрії, короткі цистерни ендоплазматичного ретикулула, фібрилярні структури. Зустрічалися одиничні випадки гіпертрофії і гіперплазії мезангія, що приводило до його інтерпозиції, яку можна інтерпретувати і як залишкові явища

при хронізації ниркової недостатності і як регуляторний момент у репаративній регенерації клітин [7].

Канальцевий епітелій головних відділів демонстрував в основному ознаки гіпертрофії і напруженого функціонування, зрідка спостерігалися явища дистрофічного характеру. Так, епітеліоцити більшості проксимальних каналців містили ядра, заповнені еухроматином, з ядерцями глобулярно-фібрилярної природи примембранної локалізації. Мікроворсинки на апікальному полюсі клітин утворювали щільну щіткову облямівку. Цитоплазма клітин була багата крупними лізосомами, електронно-щільними гранулами, вакуолями (рис. 4, а).

В базальній частині клітин спостерігалося розширення базальних складок плазмолем-

ми і міжклітинних проміжків. У частини клітин проксимальних відділів спостерігалося значне прояснення цитоплазми і ущільнення матриксу мітохондрій. В багатьох клітинах виявлена гіпертрофія мітохондрій з везикулярними кристами і розширення цистерн гладкого ендоплазматичного ретикулула (рис. 4, б).

Епітеліоцити дистального відділу нефрону містили крупні вакуолі як ознаку білкової дистрофії і результат гіпоксії цих клітин (рис. 5, а). Необхідно відзначити виявлене розширення каналцевих базальних мембран, їх розпушування (рис. 5, б).

Отже, на етапі олігоурічної стадії ГНН через 3 тижні після введення гліцерину розвивалася тубулярна нефропатія з мінімальними ультраструктурними змінами клубочків і запаленням інтерстицію. Введення алогенного кріоекстракту плаценти на 2-му тижні нефротоксичної ГНН покращує стан ультраструк-

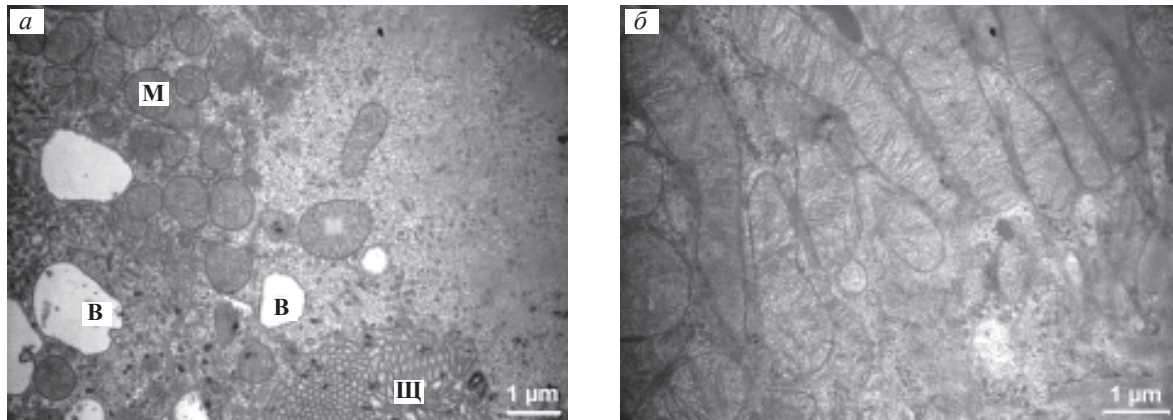


Рис. 4. Ультраструктура епітеліоцитів проксимальних каналців кори нирки щура через 8 тижнів після введення гліцерину і 6 тижнів після лікування КЕП:
a – апікальний полюс; *б* – гіпертрофія мітохондрій в базальній частині клітини.
 М – мітохондрії; Щ – щіткова облямівка; В – вакуолі

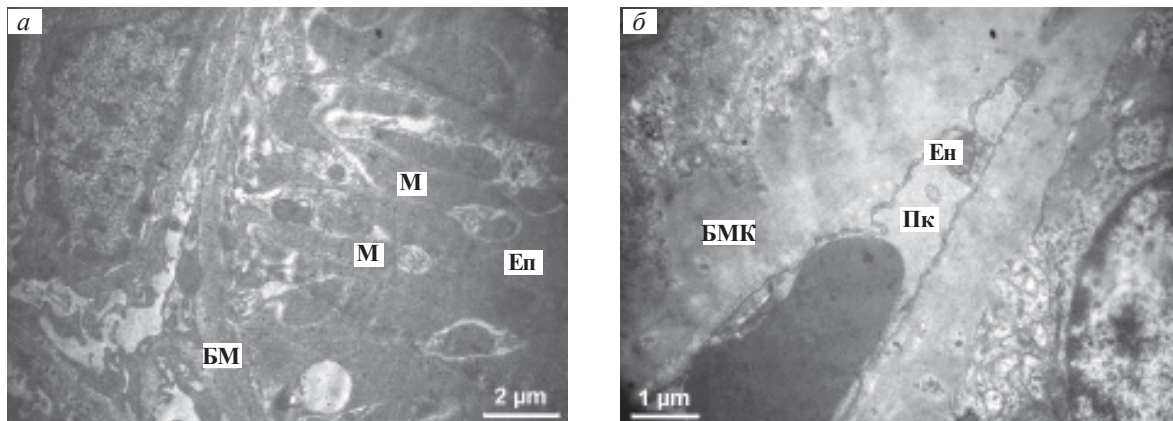


Рис. 5. Фрагмент епітеліоцита дистального відділу нефрону (*a*) та розширення каналцевих базальних мембран (*б*) кори нирки щура через 8 тижнів після введення гліцерину і 6 тижнів після лікування КЕП.

Пк – просвіт кровоносного капіляра; БМ – базальна мембрана каналця.
 М – мітохондрії; Ен – ендотелій; Еп – епітеліоцит

тури нирки через вісім тижнів після введення гліцерину, затримує розвиток інтерстиціального нефриту, який є основою ХНН.

Дослідження функціонального стану нирок показали, що введення алогенного кріоекстракту плаценти покращувало показники вже на 3-й тиждень експерименту: зниження рівня креатиніну крові, підвищення рівня креатиніну сечі, швидкість клубочкової фільтрації [8]. На 8-му тижні показники добового діурезу та

швидкості клубочкової фільтрації були вище, ніж у попередньому терміні, але нижче рівня інтактного контролю.

Таким чином, введення кріоконсервованого екстракту алогенної плаценти в ранні терміни розвитку ниркової недостатності (на стадії «шокової нирки») поліпшує функціональні показники нирок, попереджує зміни ультраструктури тканин, затримує перехід до хронічної ниркової недостатності.

Література

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. // Экспериментальная и клиническая урология. – 2011. – № 2–3. – С. 33–39.

3. Грищенко В.И. Новые криобиологические технологии получения клеточных и тканевых фетоплацентарных трансплантатов и их использование в медицине / В.И. Грищенко, Т.Н. Юрченко, О.С. Прокопюк // Трансплантология. – 2004. – Т. 7, № 3. – С. 123–129.

4. Ультроструктура і функціональні особливості нирок шурів при моделюванні токсичної гострої ниркової недостатності / Т.М. Юрченко, Т.П. Говоруха, Л.М. Марченко та ін. // Експериментальна і клінічна медицина. – 2012. – № 3 (56). – С. 49–53.

5. Грищенко В.И. Заготівля, криоконсервування плацентарної тканини і її клінічне застосування: Метод. рекомендації / В.И. Грищенко, О.С. Прокопюк, І.Ю. Кузьміна. – Харків, 1996. – 15 с.

6. Берхин Е.Б. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена / Е.Б. Берхин, Ю.И. Иванов. – Барнаул: Алтайск. книжн. изд-во, 1972. – 199 с.

7. Тареев Е.М. Клиническая нефрология / Е.М. Тареев. – М.: Медицина. – 1993. – Т. 1. – 688 с.

8. Юрченко Т.Н. Ренальные эффекты при введении криоэкстракта плаценты на фоне экспериментальной почечной недостаточности / Т.Н. Юрченко, И.И. Кондаков, В.И. Строна // Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2014. – Т. 24, № 1. – С. 75–78.

Л.Н. Марченко, Т.П. Говоруха, И.И. Кондаков, Н.В. Репин, Т.Н. Юрченко, В.И. Строна, А.Ф. Брусенцов

ВЛИЯНИЕ КРИОЭКСТРАКТА ПЛАЦЕНТЫ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ПОЧЕК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Введение криоконсервированного аллогенного экстракта плаценты на ранних сроках токсической почечной недостаточности улучшает функциональные показатели и состояние ультраструктуры тканей почки к 8-й неделе после введения глицерина, препятствует развитию хронической почечной недостаточности.

Ключевые слова: глицериновая модель почечной недостаточности, криоконсервированный экстракт плаценты, ультраструктура.

L.N. Marchenko, T.P. Govorukha, I.I. Kondakov, N.V. Repin, T.N. Yurchenko, V.I. Strona, A.F. Brusentsov

EFFECT OF PLACENTA CRYOEXTRACT ON ULTRASTRUCTURE OF KIDNEYS IN EXPERIMENTAL RENAL INSUFFICIENCY

Effect of cryopreserved allogeneic placenta extract at early terms of toxic renal insufficiency improves functional indices and state of ultrastructure of kidneys' tissues to the 8th week after glycerol introduction, prevents the development of chronic renal insufficiency.

Key words: glycerol model of renal insufficiency, cryopreserved placenta extract, ultrastructure.

Поступила 20.10.14