

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ НИРОК ПРИ ГІПОКСИЧНІЙ ГІПОКСІЇ

В. С. Білокриницький, О. М. Гринь

Київський інститут загальної та комунальної гігієни

Як відомо, тканина нирок складається з нефронів, що мають високу морфо-функціональну спеціалізацію. Ця спеціалізація визначається тонкою будовою і фізіологічними особливостями кожного з його відділів. Структурно-функціональні особливості елементів нефрону забезпечують і його анатомо-фізіологічну єдність, завдяки чому нирки регулюють гомеостаз.

Ланкою, яка зв'язує систему кровообігу і нирки, є початковий відділ нефрону — тільця Мальпігі. Від них бере початок важливий відділ нефрону — система канальців. Саме в канальцях здійснюється найбільш складний процес сечоутворення і кінцеве формування кількості і складу сечі [1, 2]. Неабияку роль у цьому відіграють ферменти, за допомогою яких відбуваються біофізико-хімічні реакції, направлені на забезпечення метаболізму і збереження функції і структури як окремих клітин, так і нефронів у цілому, навіть при значних змінах в організмі.

Однією з причин, яка викликає зрушення в організмі, в тому числі і в нирках, є зміна в оточуючому середовищі барометричного тиску, складу повітря і, зокрема, зниження парціального тиску кисню, що призводить до гіпоксичної гіпоксії. Такий стан організму буває і при деяких серцево-судинних та інших захворюваннях. Однак питання про структурно-функціональні зміни нирок, які настають під впливом гіпоксичної гіпоксії, на наш погляд, далеко не до кінця розв'язане. Результати аналогічних досліджень, а тим більше їх інтерпретація, часто розрізнені і суперечні.

Доказом такої суперечності можуть служити результати експериментів на щурах, собаках, а також спостереження на людях, в яких вивчали вплив гіпоксії на діурез. Одні автори [5, 9, 11] відзначали при кисневому голодуванні поліурію, інші ж [6—8, 10] олігурію і навіть анурію. Такий самий різнобій існує і щодо інших показників водно-солевого обміну і функцій нирок.

В зв'язку з цим нами проведено дослідження діурезу, а також вивчення метаболізму клітин нефрону і зв'язаних з ним функцій при кисневому голодуванні.

Методика досліджень

Досліди проводилися на статевозрілих білих щурах-самках, вагою від 110 до 200 г. Щури перебували на постійному змішаному харчовому режимі з точним обліком випитої рідини (водно-молочна суміш — 10:2) в обмінній клітці. Після 2—3-денного при звичаювання тварин до умов експерименту, у них починали збирати добову сечу з наступним визначенням у ній деяких фізико-хімічних інгредієнтів. Встановивши так званий «фон» діяльності нирок, щурів піддавали дії кисневого голодування, після чого їх знову поміщали в обмінну клітку для продовження вивчення функції нирок.

Кисневе голодування у тварин викликали вміщенням їх у спеціальну барокамеру. Щурів підіймали на «висоту» 8000 м з швидкістю 1000 м/30 сек і залишали на цій «висоті» протягом 20 хв, після чого вони «спускалися» на протязі 5 хв до вихідного рівня. Тварини, підняті на вказану висоту один раз, складали групу, яку ми умовно називаємо «гостра гіпоксія», а підняті на цю «висоту» кілька разів (5 раз по 20 хв) «хронічна гіпоксія». Третя група піддослідних тварин, які не зазнавали гіпоксії, була контрольною. Всього в експерименті використано 120 щурів. Для визначення функції нирок і деяких показників гідро-електролітного балансу крім величини добового діурезу, в сечі визначали: 1) питому вагу, 2) рН, 3) наявність цукру, 4) концентрацію білка, 5) концентрацію та абсолютну кількість хлоридів. Для стандартизації даних такі величини як кількість сечі і валова кількість хлоридів розраховували на 100 г ваги тварин.

Для вивчення структури та деяких показників метаболізму клітин нефрону наприкінці досліду тварин декапітували і проводили гістологічні та гістохімічні дослідження. Визначали структуру клітин і активність ферментів аеробного і гліколітичного циклів (сукцинатдегідрогенази — СДГ, малатдегідрогенази — МДГ, лактатдегідрогенази — ЛДГ, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази — ГЛ-6-ФДГ). Для загальних гістологічних методик матеріал заливали в парафін. Для гістологічних реакцій шматочки нирки поміщали в кріостат, де робили зрізи товщиною 9 мк і монтували їх на предметні скельця. Зрізи підсихали на повітрі кімнатної температури, потім на їх поверхню наносили свіжовиготовлені спеціальні інкубаційні середовища, які крім інших реактивів, містили необхідні субстрати для кожного ферменту і барвник. Реакцію з інкубаційним середовищем проводили в термостаті при 37° С. Після проводки зрізів через ванночки з спеціальними розчинами (фізіологічний, формаліновий, етаноловий) їх закривали в гліцерин-желатину і мікрокопували. Активність ферментів та їх топографічне розташування в клітинах різних відділів нефрону визначали за випавшим в осадок кінцевим продуктом реакцій — забарвленням формазаном. Гістологічні та гістохімічні дані порівнювали з фізіологічними показниками.

Результати досліджень

В цьому дослідженні основна увага була приділена клубочково-канальцевій системі і в меншій мірі проміжній, сполучній тканині, судинній та нервовій системі нирок. В зв'язку з цим становить інтерес аналіз функціональної морфології нефрону, який дозволяє дати оцінку найбільш тонким і раннім ураженням нирки і більш правильно судити про функціональний та морфологічний сано- і патогенез при кисневому голодуванні.

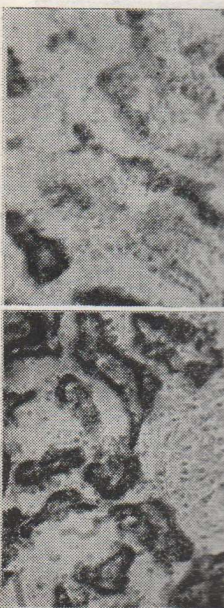
В структурі епітеліальних клітин нефрону тварин при «гострій гіпоксії» настають деякі зміни, що призводять до значного зниження активності сукцинатдегідрогенази в проксимальному відділі канальця, в порівнянні з активністю цього ж ферменту у контрольних тварин (рис. 1, а, в).

У тварин, що зазнали п'ятиразової гіпоксії, в структурі епітеліальних клітин як системи канальців, так і клубочків активність сукцинатдегідрогенази значно підвищується в порівнянні з її активністю у тварин, що зазнали одноразової гіпоксії (рис. 1, в, г). Вона також підвищена в порівнянні з інтактними тваринами, що наочно виражено в клітинах канальців і в ендотелії капілярів клубочка (рис. 1, а, г). Це свідчить про те, що в клітинах нефрону при повторних впливах нестачі кисню настають більш значні структурні та фізико-хімічні зміни, ніж при одноразовому.

Активність іншого окисно-відновного ферменту — малатдегідрогенази змінюється інакше. Про це свідчить деяке підвищення активності малатдегідрогенази в ендотелії капілярів клубочка при одноразовому впливі кисневого голодування (рис. 2, б) і зниження активності цього ферменту в структурних елементах гломерулярного фільтра і системі канальців при п'ятиразовому впливі, в порівнянні з інтактними тваринами (рис. 2, а, б, в, г). Як видно з наведених даних, однакові ступені гіпоксії впливають неоднаково на згадані ферменти, які включаються на

Рис. 1. Зміни активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) в нирках щурів при гіпоксичній гіпоксії.

а — активність СДГ в структурних елементах клубочка і канальців нефрону (корковий шар нирки), контроль; б — активність СДГ в структурах канальців (мозковий шар нирки), контроль; в — зниження активності СДГ в структурах канальців мозкового шару нирки при гострій гіпоксії (8000 м на протязі 20 хв); г — підвищення активності



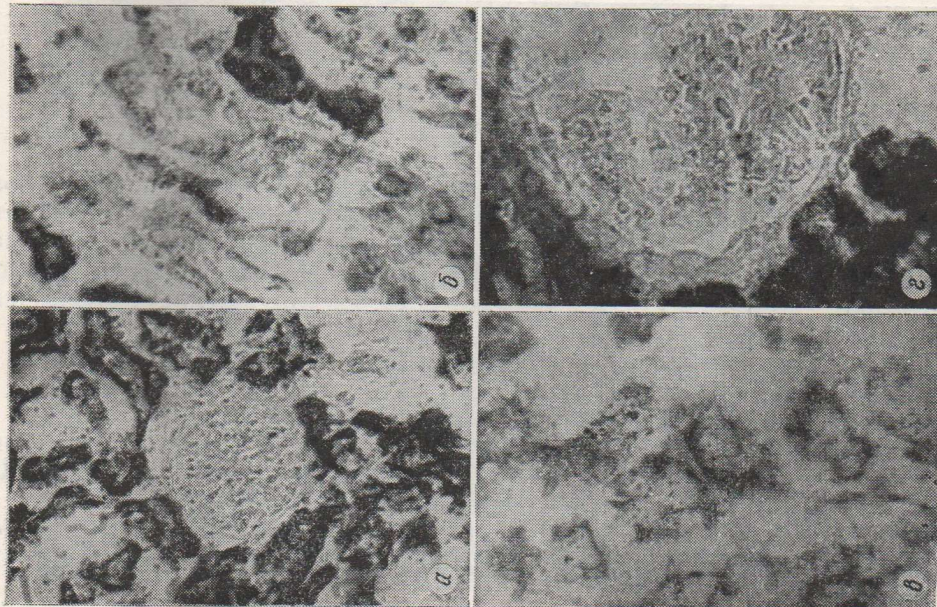
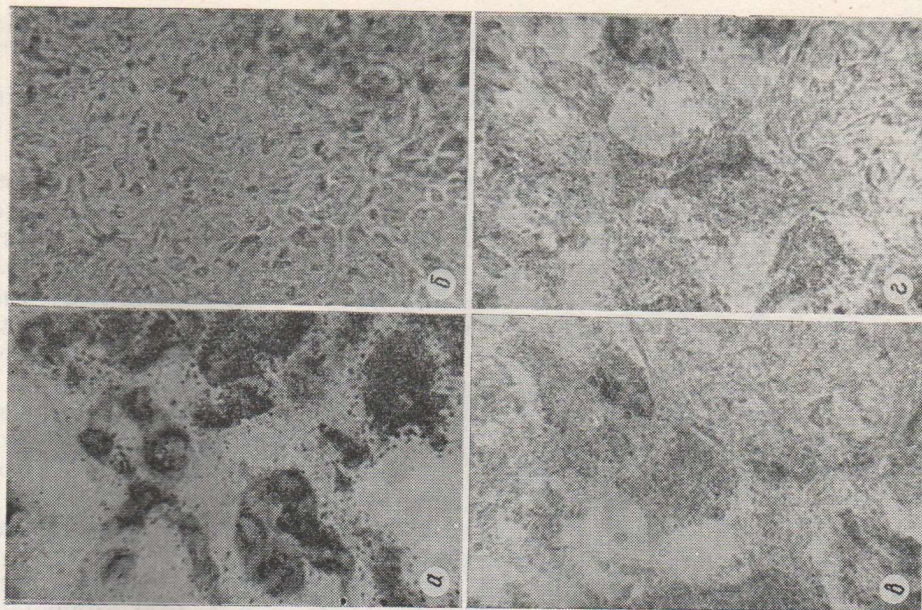


Рис. 1. Зміни активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) в нирках шурів при гіпоксичній гіпоксії.

а — активність СДГ в структурних елементах клубочка і канальців нефрону (корковий шар нирки), контроль; б — активність СДГ в структурах канальців (мозковий шар нирки), контроль; в — зниження активності СДГ в структурах канальців мозкового шару нирки при гострій гіпоксії (8000 м на протязі 20 хв); г — підвищення активності СДГ в структурах клубочка і канальців нефрону при хронічній гіпоксії (п'ятиразове перебування на висоті 8000 м по 20 хв). Метод Нахласа. Мікрофото. 36.: а, б, в — 20×10 , г — 40×10 .

Рис. 2. Зміни активності малагдегідрогенази (МДГ) в нирках шурів при гіпоксичній гіпоксії.

а — активність МДГ в структурах нефрону, контроль; б — підвищення активності МДГ в структурах клубочка і прилеглих до нього ділянках канальців при гострій гіпоксії; в — зміни активності МДГ в структурах клубочка і системи канальців при гострій гіпоксії; г — зміни активності МДГ в структурах клубочка і канальців при хронічній гіпоксії. Метод Пірса. Мікрофото. 36. а, в, г — 20×10 , б — 40×10 .



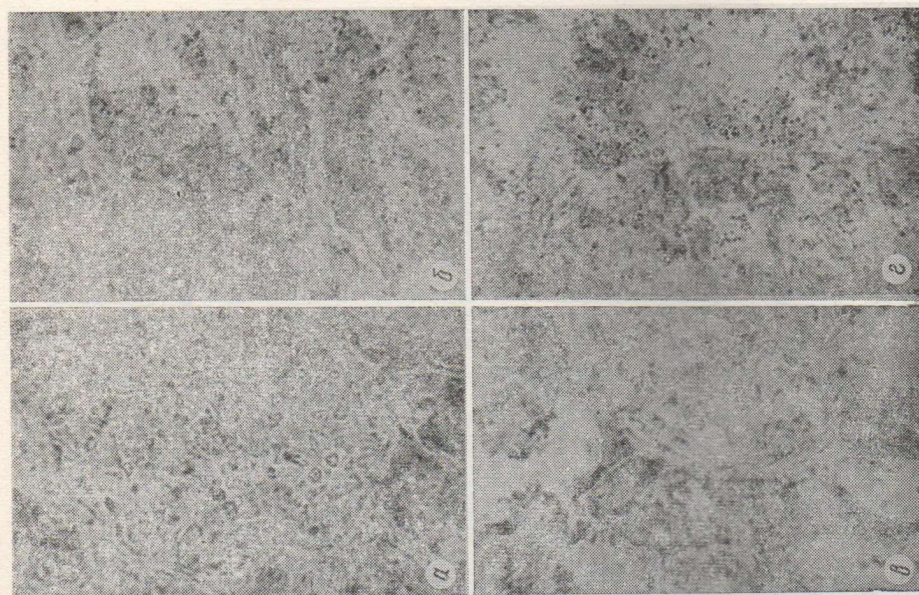


Рис. 3. Зміни активності лактатдегідрогенази (ЛДГ) в нирках щурів при гіпоксичній гіпоксії.

а — активність ЛДГ в структурних елементах гломерулярного фільтра і системи каналців нефрону; контроль; б — підвищення активності ЛДГ в структурах клубочка і системи каналців при гострій гіпоксії; в — збільшення числа гранул формазану в структурах мозкового шару нирки при хронічній гіпоксії; г — активність ЛДГ в структурах каналців коркового шару нирки при хронічній гіпоксії. Метод Пірса. Мікрофото. 36.; а, б, в, г — 20×10 .

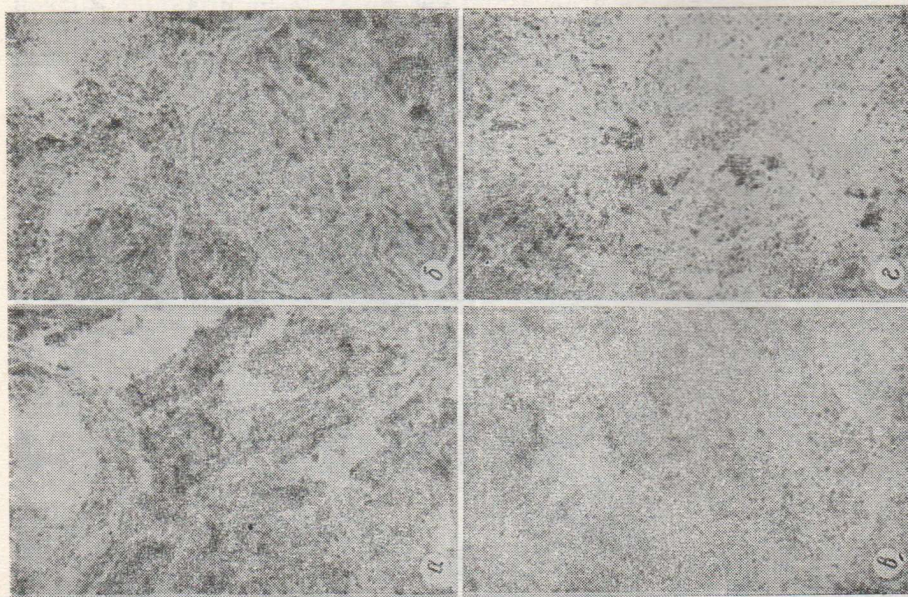


Рис. 4. Зміни активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (ГЛ-6-ФДГ) в структурах нирок щурів при гіпоксичній гіпоксії.

а — активність ГЛ-6-ФДГ в структурах гломерулярного фільтра і каналців нефрону; контроль; б — активність ферменту в окремих клітинах каналців нефрону мозкового шару нирок; контроль; в — зниження активності ГЛ-6-ФДГ в структурах гломерулярного фільтра і каналців у корковому шарі нирок при гострій гіпоксії; г — підвищення активності ферменту у багатьох клітинах і каналців нефрону мозкового шару нирок при хронічній гіпоксії. Метод Пірса. Мікрофото. 36.; а, б, в, г — 40×10 .

різних етапах біологичних функцій цих органів.

Активність лактатдегідрогенази в інтактних тваринах не відрізняється від активності в тваринах, що були під впливом п'ятиразового голодування (рис. 3, в).

Визначення глікогену в інтактних тваринах показало, що його вміст в ендотелії капілярів і в проксимальних частинах канальців становить 1,5-2,0 мг/г (рис. 4, а) і в дистальних канальцях становить 0,5-1,0 мг/г (рис. 4, б). Ці дані свідчать про те, що в умовах гіпоксії (див. та

Зміни показників

Досліджувані показники

Діурез на 100 г тіла (мл)
Питома вага сечі
pH
Цукор (%)
Білок (%)
Концентрація хлоридів (%)
Абсолютна кількість хлоридів на 100 г сечі (г)

На гістологічному рівні впливу нестачі структури мало відразовому — спостерігали кож зерниста та гід частинах нефрону.

Аналіз одержаних щурів дуже чутливих до змін біохімічних та морфологічних показників добовий діурез знизився.

різних етапах біологічного окислення і до певного часу все ж забезпечують функції цих клітин.

Активність лактатдегідрогенази в структурних елементах нефрону інтактних тварин менш виражена, в порівнянні з сукцинат- і малатдегідрогеназами. Зміни цього ферменту в клітинах нефронів як при однократному, так і при п'ятиразовому впливі кисневого голодування однонаправлені. Активність його значно збільшується в порівнянні з інтактними щурами як у клітинах ендотелію капілярів клубочків (рис. 3, а, б), так і в усіх елементах інших відділів нефрону при п'ятиразовому впливі кисневого голодування (рис. 3, в, г).

Визначення глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в клітинах нирки інтактних тварин показало також наявність цього ферменту в їх структурних елементах. Причому, активність її дещо вища в структурах мозкового шару (рис. 4, а, б). Активність цього ферменту значно знижується в ендотелії капілярів клубочка і структурних елементів скрученої частини проксимальних каналців нирок при одноразовому впливі нестачі кисню (рис. 4, а) і дещо підвищується в цих та інших структурах дистальних каналців при п'ятиразовому впливі, в порівнянні з інтактними тваринами (рис. 4, б, в, г). Ці дані корелюють з фізіологічними і дуже наочно свідчать про єдність структури і функції клітин нефрону, що виражається в змінах активності цього ферменту і наявності цукру в сечі при гіпоксії (див. таблицю).

Зміни показників функції нирок при гострій і хронічній гіпоксичній гіпоксії

Досліджувані показники	Контроль	Гостра гіпоксія	Хронічна гіпоксія
Діурез на 100 г ваги (мл)	5,16±0,23	3,38	0,05
Питома вага сечі, в г	1024±1,4	—	—
pH	6,9±0,19	6,5	9,0
Цукор (%)	нема	2,5	нема
Білок (‰)	0,013±0,008 (нема)	0,132	0,528
Концентрація хлоридів (%)	1,05±0,09	0,40	0,6
Абсолютна кількість хлоридів на 100 г ваги (г)	0,05±0,009	0,01	0,003

На гістологічних препаратах нирок тварин, які зазнали одноразового впливу нестачі кисню в оточуючому середовищі, виявлені зміни структури мало відрізнялись від структур інтактних тварин. При п'ятиразовому — спостерігались деякі розлади гемо- і лімфодинаміки, а також зерниста та гідропічна дистрофія деяких клітин епітелію в різних частинах нефрону.

Обговорення результатів досліджень

Аналіз одержаних даних свідчить про те, що клітини нефронів білих щурів дуже чутливі до нестачі кисню в зовнішньому середовищі. Ця чутливість клітин нефрону до гіпоксії виражається в структурних і функціональних змінах, виявлених нами за допомогою фізіологічних, біохімічних та морфо-гістохімічних методів. Так, при «гострій гіпоксії» добовий діурез знизився більш як на половину (на 53%), знизилось

також рН, концентрація і абсолютна кількість хлоридів. Водночас підвищилась концентрація цукру і білка в сечі.

Якщо розглядати ці зміни, викликані «гострою гіпоксією», в аспекті результатів морфо-гістохімічного дослідження, то їх можна певною мірою пояснити значними змінами структури клітин і активності ферментів.

Особливо піддаються зміні сукцинат- і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, які впливають на рівень каналцевої реабсорбції електролітів, особливо натрію, глюкози, амінокислот, білка та інших інгредієнтів ультрафільтрату. Як показали наші досліди, активність цих ферментів при «гострій гіпоксії» значно знижена в клітинах проксимального відділу каналців, де відбувається повне зворотне всмоктування в кров глюкози і близько 4/5 профільтованого натрію, хлоридів та сульфатів. Незважаючи на те, що за допомогою гістологічних методів нам не вдалось виявити значних змін структури клітин нефрону при «гострій гіпоксії», вони встановлені електронномікроскопічними дослідженнями інших авторів [3], які вказують, що під впливом гіпоксії змінюється структура мітохондрій, їх матрикс і кристи частково фрагментуються, руйнуються, а на їх місці з'являються маленькі пластинчасті фігурки. Саме такі зміни, мабуть, і відзначалися у наших піддослідних тварин при «гострій гіпоксії».

При «хронічній гіпоксії» добовий діурез знижується ще більше, ніж при «гострій», різко зрушується рН у лужний бік, зростає концентрація білка в сечі, концентрація хлоридів знижується, цукор не виявляється. Ці функціональні зміни підтверджуються значною мірою результатами морфо-гістохімічних досліджень нирок тварин, які зазнали п'ятиразового впливу нестачі кисню в оточуючому середовищі, у яких спостерігались розлад гемо- і лімфодинаміки, зерниста та гідропічна дистрофія, гіпертрофія і гіперплазія клітин та їх елементів. У цих же тварин виявлено значне підвищення активності сукцинатдегідрогенази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, лактатдегідрогенази в структурних елементах нефрону в корковому і мозковому шарах.

Це добре корелює з сучасним уявленням про ультраструктуру і функції клітини і, зокрема, мітохондрій, які особливо чутливі до гіпоксії і осмотичного стану клітини, а також про білкову дистрофію каналців, яка певною мірою відбиває їх реабсорбційну здатність, зв'язану з активністю ферментних систем.

Виявлені деякі морфологічні зміни структури каналців (гіпертрофія клітин і гіперплазія органел), а також підвищена активність ферментів, тісно зв'язаних не тільки з мітохондріями, але, мабуть, і з ядерними субстанціями. Все це свідчить про перебудову метаболізму в бік його підвищення, що частково деякий час забезпечує компенсацію втрачених функцій нефрону. Однак, поряд з процесами гіпертрофії і гіперплазії, на базі яких реалізуються компенсаторно-приспосувальні реакції, в клітинах, можливо, збільшується і лізосомний апарат, який не стільки підвищує життєздатність клітин, скільки дистрофічні процеси.

Таке припущення значною мірою може бути обгрунтоване тим, що при «хронічній гіпоксії», де, здавалося б, функції нефрону в результаті певної адаптації, — значного підвищення активності ферментів, повинні були б нормалізуватися, в порівнянні з його функціями при «гострій гіпоксії», все таки кількість білка в сечі не зменшується, а, навпаки, збільшується. Виділення білка з сечею в кінцевому результаті визначається різницею між кількістю білка, профільтованого в клубочках і реабсорбованого в каналцях. Отже, значна протеїнурія при «хроніч-

ній гіпоксії» може бачитись в бочкового фільтра, синтезу білка, який пошкоджених струку

Кількість білка не тільки внаслідок хунок тканин інших мічні зміни, спостер

1. Киснев голо При одноразовому кількість сечі змен їх перебуванні на ті 103 рази.

2. Гіпоксична г новаги, значно змін ляється глікозурія хлоридів. При «хро протеїнурія збільшу кості хлоридів.

3. При киснев активність фермент функцій. Зміни уль калізованих в них ф джуються з хімічним

4. Перерозподіл впливом гіпоксично до певного часу від ції, а також гомеоста

1. Гинецинский А. Л., 1964.
2. Кравчинский Б.
3. Киселева А. Ф., ках при гидронефрозе
4. Серов В. В. — Архив
5. Alexander J. — U
6. Currie I., Ullman
7. Fergusson F., Sm
8. Hoy P., Adolph E.
9. Silvette H. — Proc.
10. Swann H., Collin
11. Van Middleswo

ній гіпоксії» може бути наслідком (крім підвищення проникності клубочкового фільтра, і порушення каналцевої реабсорбції) підвищеного синтезу білка, який, не встигаючи використовуватися на відновлення пошкоджених структур виділяється з сечею.

Кількість білка в сечі при «хронічній гіпоксії» може збільшуватися не тільки внаслідок процесів, які здійснюються в нирках, але і за рахунок тканин інших органів, де теж відбуваються значні морфогістохімічні зміни, спостережувані нами при гіпоксії.

Висновки

1. Киснєве голодування значно впливає на діурез білих щурів. При одноразовому перебуванні їх на «висоті» 8000 м на протязі 20 хв кількість сечі зменшується більш як на половину. При п'ятиразовому їх перебуванні на тій же висоті по 20 хв діурез знижується більш як у 103 рази.

2. Гіпоксична гіпоксія призводить до зміни лужно-кислотної рівноваги, значно змінює хімічний склад сечі. При «гострій гіпоксії» з'являється глікозурія та протеїнурія при значному зниженні кількості хлоридів. При «хронічній гіпоксії» глікозурія зникає, тим часом як протеїнурія збільшується в кілька разів при значному зменшенні кількості хлоридів.

3. При кисневому голодуванні значно змінюються структура і активність ферментів клітин нефрону, які обумовлюють зміни його функцій. Зміни ультраструктури мітохондрій, а також активності локалізованих в них ферментів при «гострій» і «хронічній гіпоксії» узгоджуються з хімічним складом сечі.

4. Перерозподіл активності ферментів у клітинах нефронів під впливом гіпоксичної гіпоксії підвищує метаболізм, що забезпечує до певного часу відновлення структури елементів нефрону, його функції, а також гомеостаз у цілому.

Література

1. Гинецинский А. Г.— Физиологические механизмы водно-солевого равновесия, Л., 1964.
2. Кравчинский Б. Д.— Физиология водно-солевого обмена, Л., 1963.
3. Киселева А. Ф., Журнаджи Ю. В.— Ультраструктурные изменения в почках при гидронефрозе, Киев, 1974.
4. Серов В. В.— Архив патологии, 1962, 24, 10, 3.
5. Alexander J.— USAF Sch. Aviat. Med. Project, 1953, 21, 1201, 0001, Report, 1.
6. Currie I., Ullman E.— J. Physiol., 1961, 155, 438.
7. Fergusson F., Smith D.— Am. J. Physiol., 1953, 173, 503.
8. Hoy P., Adolph E.— Am. J. Physiol., 1956, 187, 32.
9. Silvette H.— Proc. Soc. exp. Biol., Med., 1942, 51, 199.
10. Swann H., Collings W.— J. Aviat. Med., 1943, 14, 114.
11. Van Middlesworth et al.— Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1948, 69, 288.

Надійшла до редакції
13.IX 1974 р.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGE IN KIDNEYS UNDER HYPOXIC HYPOXIA

V. S. Belokrinitsky, A. N. Grin'

Institute of General and Municipal Hygiene, Kiev

Summary

The indexes of electrolytical balance of urine as well as morphological and histochemical characteristics of the kidneys are determined on albino female rats under acute and chronic hypoxia. It is found that under acute hypoxia there occurs a 53% decrease in the twenty-four-hours diuresis, decrease in pH, concentration and absolute amount of chlorides, an increase in concentration of sugar and protein in urine as well as a certain redistribution in the activity of the enzymes (SDG, MDG, GL-6-FDG, LDG) without pronounced morphological changes in the kidneys. Under chronic hypoxia the twenty-four-hours diuresis was 103 times as low, pH shifted sharply towards alkaline direction, concentration of protein increased and that of chlorides decreased. Sugar was not found in urine. The activity in the studied enzymes with respect to neuphrons showed an unequal increase.

Certain disturbances in hemo- and lymphodynamics, as well as dystrophy in a part of cells of the renal convoluted tubule epithelium were observed.

ВПЛИВ ЕТИ
ОРГАНІ
ЩО ПЕРЕНЕС

М. Л. Тарах

Експериментальний в

Беручи до ува
ної перебуває в у
ливість вивчення в
го [4, 6, 7]. Після
них відсутні реакції
авторів, характери
10, 11].

Межі пристосу
ції нижча, ніж у бі
можливих шляхів
да та новонародже

Літературні да
етимізол, крім сти
впливає на систем
нинне дихання, ае
кози в крові [1, 3].

Ми досліджува
ликів, що розвива
можливість посилю
суванні етимізолу.

Досліди проведен
ного розвитку, яких по
проведено лапаротомік
утробна гіпоксія плода
утробна гіпоксія плода

Хронічну внутріш
понованим нами метод
в. в. *uterinae* у вагітні
певного діаметра, з на
чання здійснювали чер
під внутрішнім гекс
вводили внутрішньо, д

Оскільки підтрим
станом центральної не
реакцію на механічне
допомогою електростим
подразнення 10 сек). І
могою спеціального пр
дразнення. Показника
мозку та серця і харак
вих електродів від фр