

УДК 616—089.814:616.61—076.4

В. А. Пирогов, А. Т. Носов, Л. И. Номирович

БИОЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОЧЕК В УСЛОВИЯХ ПЕРВИЧНОЙ ИШЕМИИ

Оценка жизнеспособности трансплантированного органа, особенно взятого от трупа, является одной из важных проблем трансплантологии. Современные методы оценки жизнеспособности органов и тканей (клинические, биохимические, морфологические) обладают тем недостатком, что не позволяют определить жизнеспособность в короткий срок после изъятия органа от трупа, непосредственно перед трансплантацией.

Мы изучали возможности применения регистрации биоэлектрической активности почки — электронефрографии (ЭНГ) для оценки жизнеспособности трупной почки в период первичной тепловой ишемии на основе сопоставления с ее структурными изменениями, выявленными методом световой и электронной микроскопии.

Литературными [1, 3, 6, 9], а также нашими [2] данными установлено, что биоэлектрическая активность почки отражает ее функцию. Эти показатели могут быть использованы для объективного контроля уровня обменных процессов органа при различных его функциональных состояниях. В литературе нет сведений о применении регистрации биоэлектрической активности почки для оценки ее жизнеспособности в период предтрансплантационной тепловой ишемии.

Методика исследований

Исследования проводились в условиях острого опыта на 30 кроликах под гексеналовым наркозом. С помощью серебряных электродов, которые помещались под собственную капсулу почки на расстоянии 15 мм друг от друга в области верхнего ее края, отводили разность биопотенциалов коркового вещества почки. Регистрацию биоэлектрической активности почки осуществляли на электроэнцефалографе 4ЭЭГ-1 в полосе пропускания частот 0,3—150 Гц. Максимальная чувствительность каждого канала—0,5 мВ/мм. Площадь контакта электрода с тканью составляла 4 мм². Кровенаполнение почки изучали методом реографии с применением реографа 4РГ-01 и электроэнцефалографа в качестве регистрирующего прибора.

Первичную тепловую ишемию вызывали наложением зажима на почечные сосуды. Показателем функции кровообращения служили реограммы. Биоэлектрическую активность регистрировали на протяжении 120 мин после выключения кровотока с интервалом 5, 15, 30, 45, 60, 120 мин. Контролем служили почки интактных животных. В эти же сроки брали биопсию коркового вещества почки для гистологического и электронномикроскопического исследований. Электронномикроскопические исследования проводили по общепринятой методике Паладе с заливкой срезов в эпоксидные смолы. Полученный материал просматривался в электронном микроскопе УЭМБ-100 К.

Результаты исследований и их обсуждение

Анализ проведенных исследований показал, что биоэлектрическая активность интактной почки при нормальном ее кровообращении характеризуется периодически повторяющейся через $13,6 \pm 0,9$ с высокоамплитудной (0,56—0,04 мВ) спонтанной электрической активностью, продолжительность которой колеблется от 3 до 6 с. Эти «пачки» сиг-

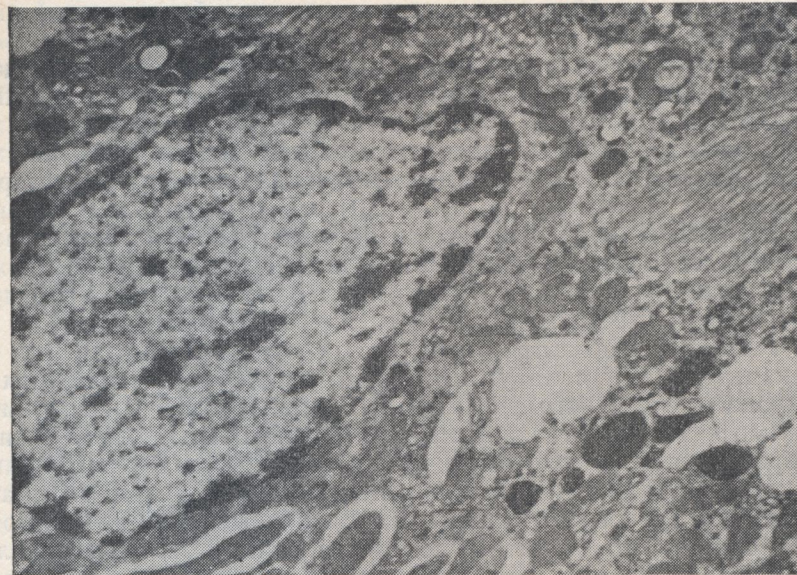


Рис. 1. Тепловая ишемия 15 мин. Эпителиальная клетка извитого отдела проксимального канальца. Явления умеренно выраженной гидропической дистрофии с очаговым расширением цистерн эндоплазматического ретикулума, аппарата Гольджи, набуханием микроворсинок щеточной каемки.

Электроннограмма. $\times 10\,000$.

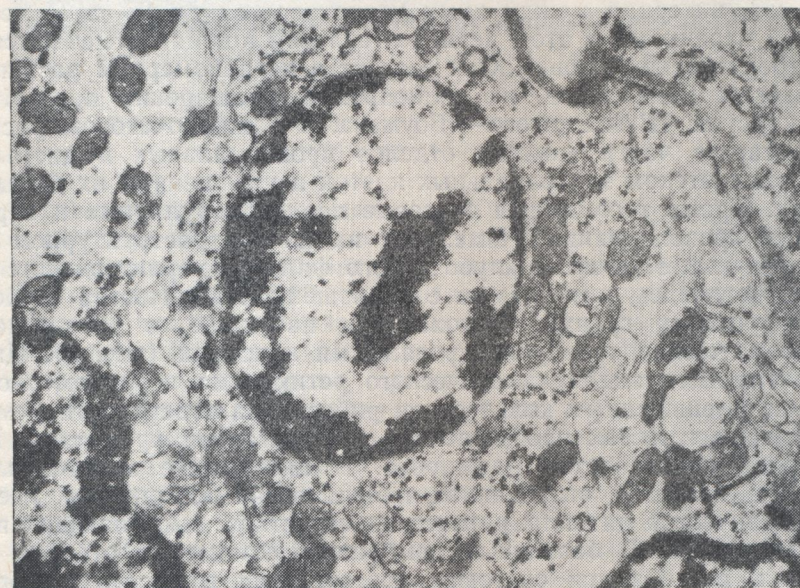


Рис. 2. Тепловая ишемия 30 мин. Подоцит. Умеренно выраженный отек цитоплазмы. Набухание митохондрий с очаговыми деструктивными изменениями. Расширение цистерн эндоплазматической сети. Уменьшение количества свободных и фиксированных рибонуклеиновых гранул.

Электроннограмма. $\times 10\,000$.

налов возникают на фоне постоянных сигналов с более низкой амплитудой ($0,2 \pm 0,018$ мВ).

Через 5 мин после выключения почки из кровотока наблюдалось снижение амплитуды токов действия до $0,46 \pm 0,05$ мВ и удлинение интервалов между ними до 20 с. В этом промежутке времени не было отмечено никаких морфологических изменений почечной паренхимы.

После 15 мин тепловой ишемии амплитуда спонтанной электрической активности снижалась до $0,4 \pm 0,01$ мВ с удлинением интервала между отдельными «пачками» активности до 24 с. Морфологически в этот промежуток времени изменения почечной паренхимы прослеживались, в основном, на ультраструктурном уровне и состояли в гидропической дистрофии клеточных элементов клубочков и канальцев. В клетках гломерулярного фильтра (подоцитах и эндотелиоцитах) был отмечен отек цитоплазмы с набуханием митохондрий и расширением цистерн эндоплазматического ретикулума. Кроме того, в цитоплазме эндотелиальных клеток наблюдалось повышение пиноцитозной активности с образованием цитоплазматических выростов в просвет капилляров. В ядрах видны участки разряжения кариоплазмы, глыбчатость хроматина и краевой гиперхроматоз. Базальные мембраны неравномерно утолщены и умеренно гомогенизированы. В эпителиальных клетках извитых отделов проксимальных и дистальных канальцев наряду с описанными ультраструктурными изменениями в митохондриях и цистернах эндоплазматического ретикулума отмечался отек микроворсинок щеточной каемки с очаговой их вакуолизацией и расширением (рис. 1).

30 мин тепловая ишемия характеризуется дальнейшим снижением амплитуды спонтанной электрической активности и составляет $0,34 \pm 0,01$ мВ, интервал между ними увеличивается до 28 с. Изменения почечной паренхимы в этом периоде тепловой ишемии отмечаются уже на светооптическом уровне. Они состоят в неравномерном расширении клубочковых капилляров, их полнокровии, расширении просвета полости капсулы Шумлянско-Боумана, а также очаговом расширении просветов части извитых отделов проксимальных и дистальных канальцев с отеком эпителиальных клеток и утолщением их базальных мембран. Кроме того, видны очаговые перигломерулярные и периваскулярные кровоизлияния. Изменения их на ультраструктурном уровне в клеточных элементах клубочкового фильтра характеризуется резким просветлением цитоплазмы с уменьшением количества свободных рибонуклеиновых гранул. Митохондрии набухшие, с просветленным матриксом, частично вакуолизированными кристами (рис. 2). Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума неравномерно расширены с уменьшенным количеством рибосом на поверхности мембран. Кариоплазма в ядрах просветлена с дезагрегацией хроматина. Перинуклеарное пространство расширено. В цитоплазме эндотелиальных клеток наблюдается выраженная пиноцитозная активность. Увеличивается количество цитоплазматических отростков, выступающих в просвет капилляров. В базальных мембранах, помимо их отека и гомогенизации, встречаются очаговые просветления вещества мембран и появление в нем электронноплотных включений. Появляются изменения и в мезангиальных клетках, в которых до этого не обнаруживалось деструктивных изменений. В эпителиальных клетках канальцев изменения на ультраструктурном уровне характеризуются выраженной гипертрофией митохондрий за счет их отека, очаговой дископлексацией и разрушением крист, чрезмерным расширением цистерн эндоплазматического ретикулума с очаговой деструкцией их мембран и

резким уменьшением количества связанных рибосом. Очагово в цитоплазме этих клеток появляются липидные включения. Микроворсинки щеточной каемки резко расширены, очагово фрагментированы.

После 50—60 мин тепловой ишемии амплитуда спонтанной электрической активности составляет $0,31 \pm 0,01$ мВ, а интервал между кривыми увеличивается до 31 с. Изменения почечной паренхимы уже отчетливо определяются на светооптическом уровне. Большинство клубоч-

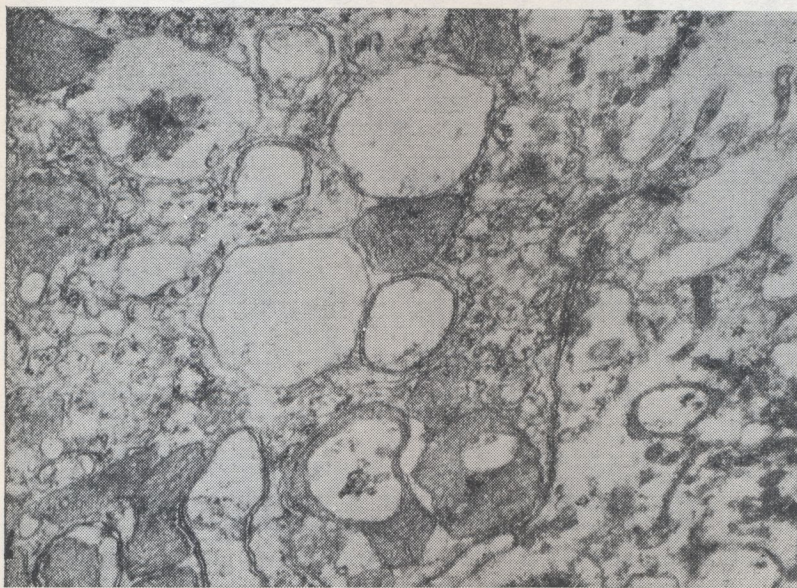


Рис. 3. Тепловая ишемия 45 мин. Эпителиальная клетка извитого отдела дистального канальца. Выраженные деструктивные изменения митохондрий, цистерн эндоплазматического ретикулума, а также микроворсинок на фоне выраженной гидропической дистрофии.

Электроннограмма. $\times 26\ 000$.

ков с расширенной полостью капсулы Шумлянського — Боумена, встречаются частично или полностью запустевшие клубочки. Резко расширена и полнокровна капиллярная клубочковая сеть. Видны внутриклубочковые кровоизлияния. Извитые отделы проксимальных и дистальных канальцев повсеместно расширены. Эпителиальные клетки деструктивно изменены. Электронномикроскопически определяются выраженные деструктивные изменения, прежде всего, эпителиальных клеток извитых отделов проксимальных и дистальных канальцев, а также структурных элементов клубочка. В большинстве эпителиальных клеток выраженные деструктивные изменения органов, особенно митохондрий, в которых наблюдаются очаговые разрушения крист и оболочек на фоне резко просветленного матрикса. Видны также очаговые разрушения оболочек цистерн эндоплазматического ретикулума, резкое уменьшение количества фиксированных рибонуклеиновых гранул и свободных рибосом (рис. 3). Очагово в цитоплазме можно наблюдать небольшие скопления внутриклеточного детрита. После 60 мин тепловой ишемии в цитоплазме появляются миелиноподобные образования и липидные включения. Микроворсинки щеточной каемки большей частью фрагментированы и очагово разрушены.

В клетках гломерулярного фильтра наиболее выражены изменения подоцитов. Цитоплазма подоцитов резко просветлена, отечна, тра-

бекулы сглажены. Большая часть педикул оторвана от базальной мембраны, уплощена и деструктивно изменена. В цитоплазме как подоцитов, так и эндотелиальных клеток внутриклеточные органеллы в состоянии выраженных деструктивных изменений. Наблюдается разрушение ряда органелл, преимущественно митохондрий, хотя в боль-

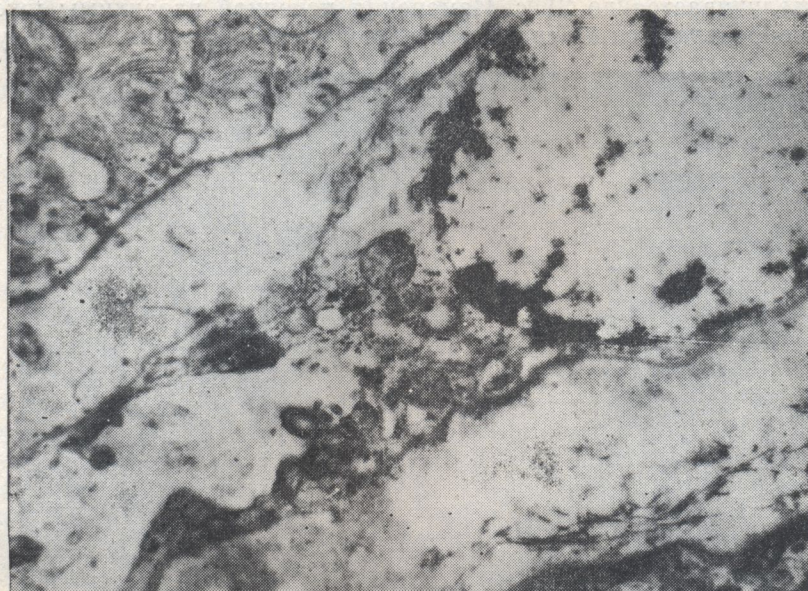


Рис. 4. Тепловая ишемия 60 мин. Эндотелиальная клетка клубочкового капилляра. Выраженные деструктивные изменения эндотелиоцита. Разрывы ядерной и клеточной оболочек. Отхождение клетки от измененной базальной мембраны. Электроннограмма. $\times 10\,000$.

шинстве цистерн эндоплазматического ретикулума разрушены оболочки (рис. 4). Отмечены участки, где измененные эндотелиальные клетки отходят от набухшей и деструктивно измененной базальной мембраны. В ядрах таких клеток наблюдается довольно резкое уменьшение

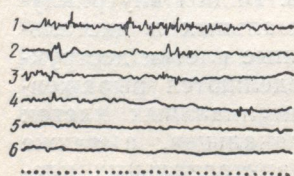


Рис. 5. Электронефрограммы почки в различные сроки циркуляторной ишемии. 1 — исходный уровень, 2, 3, 4, 5, 6 — через 5, 15, 30, 45, 60 и 120 мин после ишемии.

количества ядерного хроматина, его выраженная дезагрегация. В резко расширенных участках перинуклеарного пространства видны разрывы наружной ядерной оболочки.

120 мин ишемия характеризуется выраженным снижением амплитуды спонтанной электрической активности до $0,22 \pm 0,03$ мВ, а интервал между «пачками» токов действия возрастает до 40 с. Динамика изменения ЭНГ за все время исследования представлена на рис. 5. Морфологическое исследование после 2 ч тепловой ишемии показало, что во всех звеньях нефрона наблюдаются выраженные диффузные, в основном, необратимые изменения клеток почечной паренхимы, выяв-

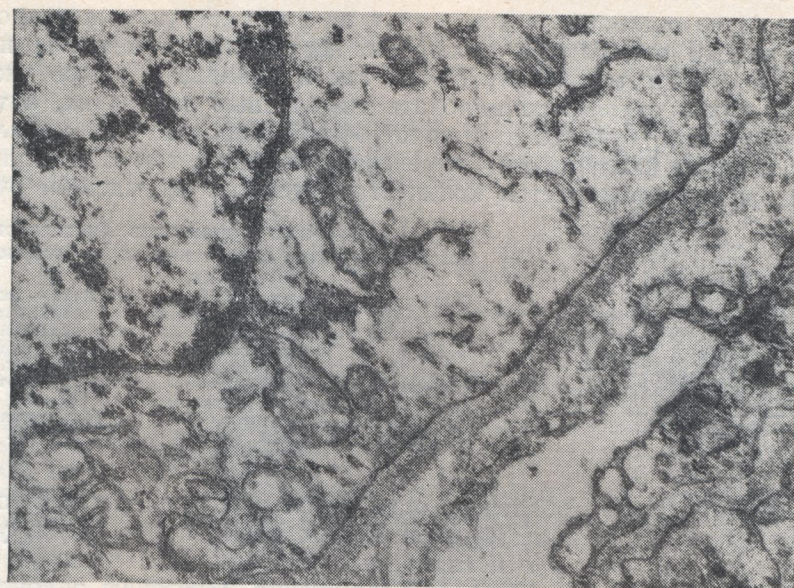


Рис. 6. Тепловая ишемия 120 мин. Гломерулярный фильтр. Выраженные деструктивные изменения в цитоплазме подоцита, эндотелиальной клетки и базальной мембраны.
Электроннограмма. $\times 20\,000$.

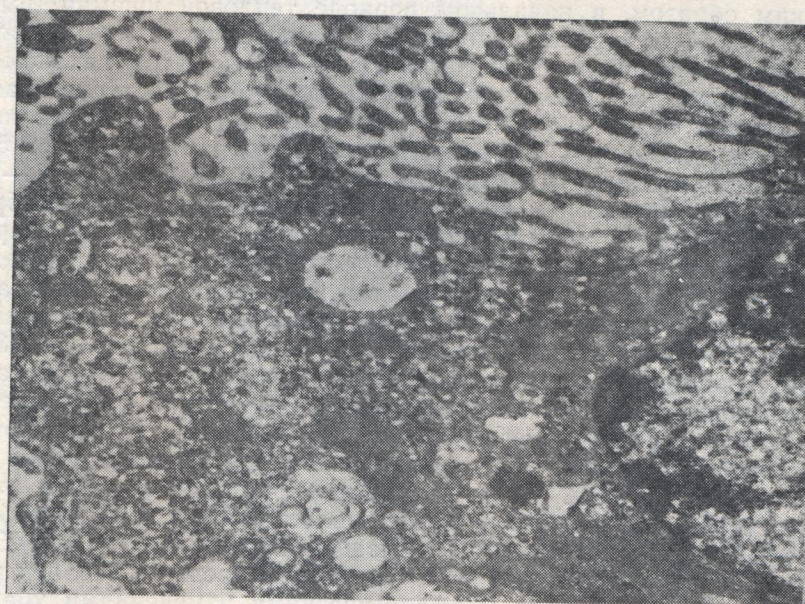


Рис. 7. Тепловая ишемия 120 мин. Эпителиальная клетка извитого отдела проксимального канальца. Цитоплазма забита клеточным детритом. Разрушение микроворсинок щеточной каемки.
Электроннограмма. $\times 19\,000$.

ляемые как на светооптическом, так и на ультраструктурных уровнях. Светооптически отмечаются обширные кортикальные некрозы паренхимы с разрушением как клубочков, так и канальцев. Здесь уже невозможно тонко дифференцировать выявленные изменения, а также их выраженность, будь то клетки клубочков или эпителий канальцев. Во всех клетках наблюдаются изменения как ядра, так и цитоплазмы. В ядрах резко уменьшается количество ядерного хроматина, очагово

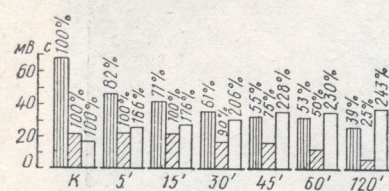


Рис. 8. Динамика параметров биоэлектрической активности почки в условиях циркуляторной ишемии.

Вертикально заштрихованные столбики — амплитуда спонтанной электрической активности, в мВ. Наискосок заштрихованные столбики — амплитуда фоновой активности в мВ, белые столбики — интервал между «пачками» спонтанной электрической активности в с. Цифры над столбиками — процентное соотношение соответствующих параметров по отношению к исходному уровню. По вертикали — показатели ЭНГ, по горизонтали — продолжительно тепловой ишемии (ПТИ), в мин. К — интактная почка.

разрушаются ядерные оболочки, отмечается выход ядерного хроматина в цитоплазму. Цитоплазма всех клеток резко просветлена, уменьшено количество органелл и свободных рибосом. Большинство митохондрий разрушены или в стадии разрушения. Цистерны эндоплазматического ретикулума и пластинчатого аппарата Гольджи резко расширены, очагово или полностью фрагментированы. В цитоплазме всех клеток появляется большое количество липидных включений и миелиноподобных образований (рис. 6, 7).

Таким образом, в начальном периоде тепловой ишемии, вызванной прекращением кровообращения, наблюдается выраженное прогрессирование деструктивных процессов и связанное с этим закономерное изменение биоэлектрической активности почки. Биоэлектрическая активность почки на протяжении 120 мин ишемии (рис. 8) резко падает и составляет (по результатам статистической обработки) через 5 мин 82% относительно нормы, через 15 мин — 71%, через 30 мин — 61%, через 45–60 мин — 53% и через 2 ч после отключения кровообращения уровень биоэлектрической активности составляет 39%. Интервалы между «пачками» спонтанной электрической активности увеличиваются почти в три раза. Такое резкое снижение биоэлектрической активности связано в первую очередь с деструктивными изменениями митохондрий, так как, согласно исследованиям ряда авторов [8, 13] изменение спонтанной электрической активности осуществляется за счет энергии, вырабатываемой митохондриями. Это также доказывается и данными биохимических исследований [4, 5, 7, 12], авторы которых изучали ферментативную основу энергетического обмена в почке в период тепловой ишемии. Другим фактором, подтверждающим угнетение энергетического обмена в почке, является снижение потребления кислорода при увеличении его утилизации клетками [10, 11]. Следовательно, коррелятивная зависимость между уровнем биоэлектрической активности почки и ее морфологическими изменениями убеждает в возможности применения электронефрографии для контроля за функцией почки в период циркуляторной тепловой ишемии.

Выводы

1. Уровень биоэлектрической активности паренхимы почки отражает ее функцию в норме и в условиях первичной тепловой ишемии.
2. Установлена прямая корреляционная зависимость между сни-

жением биоэлектрической активности паренхимы почки и ее морфологическими изменениями в динамике развития первичной тепловой ишемии.

3. Регистрация биоэлектрической активности паренхимы почки может быть применена для экспресс-диагностики функции почки в период развития первичной тепловой ишемии.

Литература

1. Гзиришвили А. З. Исследование функции почек при помощи биоэлектрических токов.—Сообщение АН ГССР, 1956, 8, № 9—10, с. 667—674.
2. Колесников Г. Ф., Пирогов В. А., Номирович Л. И., Дранник Г. Н. Кровенаполнение, импеданс и биоэлектрическая активность почек при трансплантации.—Респ. сб. Урология, 1974, вып. 8, с. 24—27.
3. Назаришвили Г. И. Изменение энергетической активности почки при нагрузке водой и действии некоторых фармакологических веществ.—Труды Ин-та урологии АН ГССР, 1963, 2, с. 163—180.
4. Петрунь Н. М., Носов А. Т., Никулина Г. Г., Цыбуляк Е. И. Данные окислительно-восстановительных процессов и электронной микроскопии при консервации почек по методу ВНИИК и Эх.—В кн.: Трансплантация органов и тканей, Ростов-на-Дону, 1976, с. 129.
5. Петрунь Н. М., Мацуй В. И., Никулина Г. Г., Носов А. Т., Цыбуляк Е. И. Сопоставление морфологических и биохимических показателей жизнеспособности почки до и после в различные сроки первичной тепловой ишемии.—Ж. Урология и нефрология, 1974, № 4, с. 63—67.
6. Трофимов Л. Г. От отображения в электронефрограмме основных мочеобразовательных процессов.—Сб. докладов II научн. конф. физиол., биохим. и фармакол. Зап.-Сибирск. объедин. Томск, 1961, с. 151—152.
7. Danielli S. Morphological and muscular aspects of active transport.—Sumpos. Soc. Biol., 1954, 8, p. 502—516.
8. Gilbisch G. Measurements of electrical differences on single nephrons of the perfused Necturus kidney.—J. Cell. Physiol., 1961, 44, N 4, p. 654—678.
9. Kuenker A. The electrourogram. Experimental work on dogs.—J. Urol., 1957, 77, N 3, p. 537—542.
10. Linagowitz E., Hoper J., Krumme B., Kessler M. Postischemic responses of oxygen in the renal cortex.—Recent. Adv. Basis Microcirc. Res. Part 1. Basel., 1977, p. 399—401.
11. Mongsaingson A., Schirar M. Variation du potentiel electroque du parenchyma renal du fait de l'ischemie.—Rev. frans. etud. clin. et biol., 1968, 13, N 6, p. 605—615.
12. Taggart T. Mechanisms of renal tubular transport.—Amer. J. Med., 1958, 24, N 5, p. 774—784.
13. Wittembury G., Windhager E. Electrical potential difference measurement in perfused single proximal tubules of Necturus kidney.—J. Gen. Physiol., 1961, 44, N 4, p. 679—687.

Киевский институт урологии

Поступила в редакцию
30.I 1979 г.

V. A. Pirogov, A. T. Nosov, L. I. Nomirovich

BIOELECTRIC ACTIVITY AND STRUCTURAL CHANGES IN KIDNEYS UNDER CONDITIONS OF PRIMARY ISCHEMIA

Summary

Bioelectric activity was studied in 30 rabbits at different times of primary heat ischemia. Simultaneously the kidney cortical substance was analysed histologically. It is shown that in the initial period of heat ischemia due to cessation of blood circulation, there occur pronounced progressing morphological changes and the resulting variations in the kidney biopotentials. A 120 min ischemia lowers sharply the kidney bioelectric activity: relative to the normal level the latter being equal to 82% after 5 min, 70% after 15 min, 61% after 30 min, 53% after 45-60 min and 39% after 2 h. Thus, the data obtained evidence for a possible application of electronephrography for controlling the kidney function during primary heat ischemia.