

УДК 616.61—005.4—018

Н. М. Петрунь, Е. И. Кримкевич

СОДЕРЖАНИЕ ОДНОВАЛЕНТНЫХ КАТИОНОВ В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ КОРКОВОГО СЛОЯ ПОЧЕК В НОРМЕ И ПРИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ

С внедрением в клинику алло- и аутотрансплантации почек большое значение приобрела проблема борьбы с последствиями острой ишемии в изолированном органе. Характер происходящих в условиях ишемии сдвигов, их обратимость определяют жизнеспособность трансплантата.

Вопрос о влиянии острой ишемии на электролитный состав клеточных структур, до настоящего времени мало изученный, представляется актуальным. Строгая функциональная дифференцировка субклеточных структур обуславливает, с одной стороны, различия в их катионном составе в физиологических условиях [2, 7], с другой — возможность неравнозначного ответа на экстремальные воздействия.

Мы изучали содержание натрия и калия в субклеточных фракциях коркового слоя почек в норме, а также под влиянием острой ишемии.

Методика исследований

Опыты проведены на 34 кроликах-самцах массой 2800—3200 г. Острую циркуляторную ишемию почки вызывали пережатием сосудистой ножки на 15; 30; 60 и 120 мин (наркоз гексеналовый). По истечении указанного времени почки извлекали на холоду (4°C), отделяли ткань коркового слоя, измельчали ее ножницами и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе Поттера с девятикратным объемом сахарозы. Гомогенат фильтровали через четыре слоя марли. Субклеточные фракции получали методом дифференциального центрифугирования в рефрижераторной центрифуге ЦВР [5, 13]. Выделяли ядерную (600 g, 10 мин), митохондриальную (16 000 g, 20 мин), микросомальную (45 000 g, 60 мин) и растворимую (оставшуюся после осаждения перечисленных компонентов клетки) фракции. Чистоту фракций контролировали под электронным микроскопом марки УЭМВ-100К (при увеличении 10 000). Препараты фиксировали в растворе Колфильда, обезвоживали в спиртах восходящей крепости с последующим заключением в эпоксидные смолы. Ультратонкие срезы толщиной 400—500 Å изготавливали на ультрамикротоме УМПТ-3. Экстракцию катионов из клеточных органелл проводили кипячением в течение 30 мин [3]. Содержание натрия и калия определяли методом пламенной фотометрии.

Результаты исследований обработаны с применением критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение

Как показали наши исследования, во всех субклеточных фракциях коркового слоя почек кролика уровень натрия выше, чем калия (см. таблицу).

Между отдельными фракциями (в ядрах, митохондриях, микросомах) в норме различий в содержании каждого из электролитов не обнаружено. В цитоплазме (растворимая фракция) натрия и калия достоверно больше ($p < 0,05$), а соотношение Na/K ниже ($2,2 \pm 0,28$), чем в ядрах ($3,8 \pm 0,80$), митохондриях ($3,8 \pm 0,52$) и микросомах ($3,9 \pm 0,50$).

Уже 15 мин острая ишемия приводит к резкому уменьшению содержания натрия и калия в органеллах (см. таблицу). Наибольшие потери натрия отмечены в митохондриях (65 % от исходного количества), калия — в микросомах (75 %). В растворимой фракции наблю-

Содержание натрия и калия в субклеточных фракциях коркового слоя почек кролика при острой ишемии

Длительность ишемии, мин	Натрий (ммоль/г белка)			
	Ядро	Митохондрии	Микросомы	Растворимая фракция
Норма	1,25±0,32	1,32±0,32	1,32±0,36	2,21±0,22
15	0,53±0,07*	0,46±0,08*	0,59±0,10	3,96±0,34*
30	0,52±0,11*	0,47±0,09*	0,67±0,13	3,74±0,40*
60	0,41±0,09*	0,35±0,07*	0,37±0,06*	1,97±0,08**, ***
120	0,65±0,14	0,65±0,15	1,44±0,34****	2,41±0,38***

Длительность ишемии, мин	Калий (ммоль/г белка)			
	Ядро	Митохондрии	Микросомы	Растворимая фракция
Норма	0,31±0,03	0,31±0,05	0,46±0,08	0,93±0,10
15	0,15±0,01*	0,11±0,01*	0,12±0,01*	1,04±0,22
30	0,18±0,01*	0,12±0,02*	0,20±0,04*	0,92±0,10
60	0,18±0,03*	0,14±0,01*	0,20±0,03*	0,96±0,11
120	0,29±0,08	0,15±0,05	0,27±0,04**, ***	0,69±0,13

*—статистически достоверное различие по сравнению с нормой, **—с 15 мин ишемией, ***—с 30 мин ишемией, ****—с 60 мин ишемией.

дали значительное увеличение уровня натрия ($p < 0,05$), а содержание калия практически не менялось.

После 30 мин пережатия содержание изученных катионов во всех фракциях оставалось на уровне 15 мин ишемического воздействия. Часовая ишемия приводила к еще большему снижению содержания натрия в ядрах, митохондриях и микросомах как по сравнению с контролем, так и более короткими сроками ишемии. Уровень натрия в растворимой фракции, повышенный после 15 и 30 мин ишемического воздействия, резко падал, опускаясь ниже контрольных величин. Содержание калия удерживалось на неизменном уровне по сравнению с 30 мин ишемией.

После 120 мин ишемии уровень натрия во всех фракциях вновь увеличивался, достигая в микросомах и растворимой фракции величин нормы. Содержание калия также имело тенденцию к увеличению в микросомальной, растворимой и особенно ядерной фракциях. После 120 мин ишемии уровень натрия в микросомах был выше, чем в ядрах и митохондриях.

Различия в степени обнаруженных изменений для калия и натрия нашли отражение в динамике колебаний коэффициента натрий/калий. Так, рост этого показателя в растворимой фракции при 15 и 30 мин ишемии (до $4,8 \pm 0,65$ и $4,5 \pm 1,0$ соответственно) связан в основном с увеличением содержания натрия при отсутствии изменений уровня калия. Уменьшение коэффициента в митохондриях и микросомах при 60 мин ишемии ($2,4 \pm 0,27$ и $2,1 \pm 0,13$ соответственно) также обусловлено более интенсивным снижением уровня натрия, чем калия.

Изменения коэффициента натрий/калий при различных сроках ишемии не только неравнозначны по степени в различных фракциях, но и подчас разнонаправленны. Например, при 30 мин ишемии величина Na/K в ядрах ниже контрольной, а в митохондриях — выше. При 120 мин коэффициент Na/K снижался в ядрах и митохондриях, но был увеличен в микросомальной и растворимой фракциях.

Таким образом, наши исследования выявили, что во всех субклеточных фракциях почек доминирующим электролитом является натрий. Аналогичные данные в гомогенатах коркового слоя почек получены у людей [6] и собак [4]. Обнаруженное высокое содержание натрия вну-

три клетки, ингибцией м...
 водились при...
 тов концентр...
 ностями расп...
 что натриевы...
 вию, чем в м...
 Эти наши...
 норская труп...
 вытекающими...
 Острая и...
 почечной кле...
 заборе донор...
 рована от ор...
 снижению сод...
 митохондриях...
 и аноксии в...
 Высвободивш...
 что зафиксир...
 фракции.

При длит...
 ваются [9], ч...
 как вслед за...
 процессы destru...
 литами (фосф...
 уровень натри...
 ко увеличивае...
 Сдвиги в...
 чек, как прав...
 содержании и...
 динамике коэф...
 ний, возможно...
 результаты пе...
 ние Na/K в поч...
 Итак, про...
 ческом воздей...
 нии катионов...
 порциональна...
 гов даже при...
 в экстракорпо...

THE C...
 FRACTION...

It is shown...
 ctions of rabbit...
 content of univale...
 supernatant fractio...
 to cytoplasm. Duri...
 the normal level...
 organelle destructio...

Institute of Urology

три клетки, по-видимому, в определенной мере связано с холодной ингибцией мембранных транспортных систем (выделение фракций проводилось при 4°C), в результате чего происходит нарушение градиентов концентраций электролитов [10, 12 и др.], а, возможно, и с особенностями распределения катионов именно в почках, так как известно, что натриевый насос в почке более резистентен к холодовому воздействию, чем в миокарде и печени [11].

Эти наши данные представляют интерес для клиники, так как донорская трупная почка переживает многочасовую гипотермию со всеми вытекающими перестройками катионного состава.

Острая ишемия существенно меняет распределение катионов в почечной клетке. Уже короткие сроки ишемического воздействия (при заборе донорской почки или аутотрансплантации, когда почка изолирована от организма в течение 10—30 мин) приводят к значительному снижению содержания натрия и калия во всех органеллах, особенно в митохондриях. Это находит свое объяснение в том, что при гипоксии и аноксии в первую очередь нарушается структура митохондрий [8]. Высвободившиеся катионы свободно диффундируют в цитоплазму, что зафиксировано в повышении их содержания в растворимой фракции.

При длительных сроках ишемии деструктивные процессы усиливаются [9], чему способствует и дегидратация клеточных органелл, так как вслед за натрием движется вода, приводя к отеку клетки [1]. Процессы деструкции ведут к высвобождению связанных с полиэлектролитами (фосфолипидами, нуклеопротеидами и т. д.) катионов, поэтому уровень натрия и калия в ядрах, митохондриях и микросомах несколько увеличивается по сравнению с менее длительной ишемией.

Сдвиги в содержании натрия и калия в клеточных органеллах почек, как правило, однонаправленны, но неравнозначны. Изменения в содержании натрия более выражены, что нашло свое отражение и в динамике коэффициента натрий/калий. Эта неравнозначность изменений, возможно, влияет на жизнеспособность органа, так как хорошие результаты пересадки отмечены [14] лишь в случаях, когда соотношение Na/K в почках (по данным биопсии) было выше 0,2.

Итак, проведенное исследование показало, что в почке при ишемическом воздействии наступают значительные изменения в распределении катионов внутри клетки. Степень обнаруженных изменений пропорциональна продолжительности ишемии. Наличие указанных сдвигов даже при коротком ишемическом воздействии должно учитываться в экстракорпоральной хирургии.

N. M. Petrun, E. I. Krimkevich

THE CONTENT OF UNIVALENT CATIONS IN SUBCELLULAR FRACTIONS OF RENAL CORTEX IN NORM AND IN ACUTE ISCHEMIA

Summary

It is shown that sodium content is higher than potassium one in subcellular fractions of rabbit renal cortex isolated at 4°C. During 15-30 minute acute ischemia the content of univalent ions in nuclei, mitochondria and microsomes decreases and in the supernatant fraction increases due to release of free electrolytes from cell organelles to cytoplasm. During 120 minute ischemia the content of univalent cations reaches almost the normal level because of release of the combined electrolytes in the process of cell organelle destruction.

Institute of Urology, Kiev

Список литературы

1. Авцын А. П., Шахламов В. А. Ультраструктурные основы патологии клетки.— М.: Медицина, 1979.—320 с.
2. Антонов В. Ф., Афанасьев А. Л. О транспорте и распределении ионов калия и натрия в изолированных ядрах печени крыс.— Биофизика, 1969, 14, № 6. с. 1055—1059.
3. Берхин Е. Б., Иванов Ю. И. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена.— Барнаул: Б. и., 1972.—199 с.
4. Биленко М. В., Угрюмов А. И., Габауэр И. и др. Сравнительная оценка модифицированных солевых растворов Коллинза и Бретшнейдера для 24-часовой холодной консервации почек и сердца.— Вестн. АМН СССР, 1980, № 9, с. 82—90.
5. Карузина И. И., Арчаков А. И. Выделение микросомной фракции печени и характеристика ее окислительных систем.— В кн.: Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977, с. 49—62.
6. Славский И. П. Определение электролитов в почках лиц, умерших от гипертонической болезни, пламеннофотометрическим методом.— В кн.: Судебно-медицинская экспертиза и криминалистика на службе следствия. Ставрополь, 1971, вып. 6, с. 92—93.
7. Сорокина З. А. Состояние калия, натрия и воды в цитоплазме клеток.— Киев: Наук. думка, 1978.—214 с.
8. Сороковой В. И., Владимиров Ю. А. Повреждение митохондрий при аноксии.— В кн.: Молекулярная патология мембранных структур. М., 1975, с. 3—25.
9. Петрунь Н. М., Мацуй В. И., Носов А. Т. и др. Сопоставление морфологических и биохимических показателей жизнеспособности почки донора в различные сроки первичной тепловой ишемии.— Урология и нефрология, 1977, № 4, с. 63—67.
10. Шумаков В. И., Онищенко Н. А., Штенгольд Е. Ш. и др. Бесперфузионный метод консервации почек в клинике с помощью специального раствора.— Хирургия, 1974, № 9, с. 114—118.
11. Collins G. M. Hypothermic kidney storage.— Transpl. Proc., 1977, 9, N 3, p. 1529—1534.
12. Collins G. M., Jones A. C., Halasz N. A. Influence of preservation method on early transplant failure.— Ibid., p. 1523—1528.
13. Schneider W. C. Intracellular distribution of enzymes. The oxidation of octanoic acid by rat liver fractions.— Biol. Chem., 1948, 176, N 1, p. 259—266.
14. Sells R. A., Bore P. G., Mc Laughlin G. A. et al. A predictive test of renal viability.— Transpl. Proc., 1977, 9, N 3, p. 1557—1560.

Киевский институт урологии

Поступила в редакцию
02.08.81

УДК 611.161:612.261

Фундаментальные исследования гомеостаза и особенностей описательных связей между гемоглобином и кислородом. Особое внимание уделяется (наряду с диссоциацией оксигемоглобина) условиям Граничные условия деления кислородных показателей с учетом их единичности диаметрами.

В данной работе рассматриваются капилляры в обеспечении скелетных мышц, что по крайней мере рассматривать как один из параметров. Сравнительный анализ пропорционального потребления им, чем в скелетных мышцах по сравнению с другими образованиями. И это позволяет сопоставить.

Среди анализируемых капилляров скелетных мышц удельной роли в гемогенетическом отношении, но отдаленно мышцах и мышечных нагрузках [9, 10]. Капиллярная сеть в основном на у физически активных людей характерно снижением респираторного коэффициента $0,95 \div 0,97$ и $0,82 \div 0,92$ [38].

Увеличение потребления кислорода физическими нагрузками и температурой и гипоксией.

Новообразованием отстает от роста и постепенно уменьшается [10, 11].

Величина кислородной емкости рассчитывается