

11. Shaw R. C. A communication between the vagus and cervical sympathetic with its clinical aspects // Lancet.— 1924.— 1.— P. 640—643.
12. Tripathi O. N., Ray C. Intermingling of efferent fibres in right vagus and sympathetic nerves supplying the sino-auricular node and adjacent tissues of cat as evident from a study vagal tachycardia // Indian J. Exp. Biol.— 1984.— 22, N 5.— P. 255—259.
13. Weiss G., Priola D. V. The central origin of the cardioaccelerateur fibres of the vagus nerve // Fed. Proc.— 1971.— 30.— P. 214.

Кубан. мед. ин-т им. Красной Армии Материал поступил в редакцию 27.02.89
М-ва здравоохранения РСФСР, Краснодар

УДК 612.463.4+612.461.238:616.612

Э. Ф. Баринов, А. Г. Кот, Н. А. Онищенко

Влияние хронической денервации на кровоснабжение и ультраструктурно-функциональное состояние канальцевой системы единственной почки

Актуальной проблемой трансплантологии в последние годы стал нейродистрофический процесс, признанный ведущей причиной прогрессирующего снижения функциональной полноценности корректно гистотипированных пересаженных органов и возникновения в них поздних кризов отторжения [10]. Поэтому исследование нейротрофических нарушений в почке представляется чрезвычайно важным в плане создания теоретических предпосылок для разработки мероприятий по предупреждению и коррекции денервационного повреждения почечного трансплантата. В настоящее время последствия нервной децентрализации почки изучены в основном в морфологических работах и клиренсовых опытах, в которых производили хирургическое выключение нервных влияний на одну из почек при наличии второй интактной или билатеральную денервацию с последующим исследованием парциальных процессов экскреторной функции. Так, после различного рода нарушений иннервации почки отмечены увеличение диуреза и снижение транспорта натрия [13, 19], а также дисциркуляторно-дистрофические изменения ее паренхимы [4]. Результаты этих исследований вряд ли правомочно экстраполировать на почечный трансплантат, который является единственной функционирующей в организме реципиента почкой, пребывающей даже после самой корректной пересадки в условиях по меньшей мере двух неспецифических факторов пролонгированного действия — абсолютной децентрализации и компенсаторной гипертрофии [4]. В доступной литературе нет сведений об изменениях после денервации почкипитающего ее паренхиму перитубулярного кровотока как основного фактора реализации трофических влияний в этих условиях, о роли этих изменений (в сочетании с медиаторным дефицитом ткани хронически «перегруженного» органа) в нарушениях энергозависимого канальцевого транспорта, а также характере ультраструктурных изменений митохондриальных аппаратов (МА) различных сегментов канальцевой системы и механизмах внутриорганной адаптации оставшейся почки к последствиям денервации. Поэтому цель нашей работы — динамическое исследование влияния абсолютной нервной децентрализации единственной почки на кровоснабжение и ультраструктурно-функциональное состояние ее тубулярной системы.

Методика

Эксперименты выполнены на 88 крысах массой 160 г, находившихся в условиях свободного доступа к воде и стандартном рационе со стабильным содержанием натрия. Использовано 35 животных с единственной денервированной почкой (ЕДП) — I серия

экспериментов (опыт), 35 крыс с компенсаторно-гипертрофирующейся почкой (КГП) — II серия (контроль) и 18 двупочечных животных спустя различные сроки после ложной операции. Воспроизведение моделей осуществляли под внутрибрюшинным гексеналовым (30—40 мг/кг) наркозом. Правостороннюю нефрэктомию выполняли в стерильных условиях через срединную лапаротомию. Абсолютной нервной децентрализации оставшейся левой почки достигали с помощью микрохирургической техники под 20-кратным увеличением бинокулярного микроскопа пересечением всех видимых почечных нервов вдоль компонентов почечной ножки, денудацией сосудов и мочеточника на протяжении 3—4 мм с последующим электрофорезом 5 %-го раствора азотокислого серебра на их скарицированные участки гибкими окантовывающими электродами при плотности гальванического тока 0,1 мА/см² и экспозиции 5 мин [3]. Эффективность денервации почки оценивали по внутритканевому содержанию норадреналина (НА) в корковом веществе. Динамику локального кровотока (ЛК) в корковом и мозговом веществах левой почки опытных, контрольных и ложнооперированных двупочечных животных изучали на 7-, 15-, 30-, 60-, 90- и 120-е сутки после создания моделей. Реабсорбцию натрия определяли с помощью общепринятых клиренсовых методов [1, 5] в балансовых клетках на спонтанном режиме. Перитубулярное кровообращение левой почки во всех сериях исследовали на фоне стандартизированной нембуталовой анестезии (50 мг/кг) с помощью метода клиренса ингалированного водорода [12]. Для регистрации потенциалов различных зон почечной ткани после насыщения организма газом использовали датчик, содержащий два игольчатых застекленных концевых платиновых электрода длиной 1 и 4 мм, задавая на них напряжение 500 мВ. Запись экспонент «насыщения — вымывания» газа из ткани осуществляли на самописце Н338-6П. По кривой выведения водорода, используя формулу $LK = 0,693/T_{1/2}$ (мл·мин⁻¹·г⁻¹ ткани), где $T_{1/2}$ — период полувыведения, рассчитывали абсолютные значения кортикального и медуллярного локальных кровотоков.

Ультраструктурно-функциональное состояние кортикальных канальцевых сегментов оценивали по изменениям их митохондрий (Мх) на основании морфометрического анализа электронограмм ультратонких срезов коры опытных, контрольных и интактных почек, изъятых на 15-, 30- и 90-е сутки после их предварительной изоосмотической глютарово-параформальдегидной перфузии [8]. Измеряли объем Мх (V_{v^m}), площади наружной поверхности Мх (S_{v^m}) и их крист ($S_{v^{kp}}$), на основе которых рассчитывали коэффициент морфологической организации K_m [11] и коэффициент энергетической эффективности Мх K_e [6] для клеток проксимальных извитых канальцев (КПК), клеток дистальных извитых канальцев (КДК) и клеток собирательных трубок (КСТ). Результаты обрабатывали статистически с использованием критерия t Стьюдента, за достоверную принимая разность средних значений при $P < 0,05$.

Результаты

После денервации единственной почки по вышеизложенной методике внутритканевое содержание НА в коре уменьшилось на 96 %, составив к 7-м суткам эксперимента ($4,75 \pm 0,69$) нг/г, что указывало на высокую эффективность экспериментального воздействия. О стабильности эффекта денервации и отсутствии спонтанной структурной реиннервации коркового вещества свидетельствовали результаты нейрогистологических исследований и повышенная чувствительность почечных сосудов к вводимой внутрибрюшинно микродозе солянокислого адреналина (10 мкг/кг), проявлявшаяся в часовой анурии на фоне 5 %-ной пероральной водной нагрузки. Последнее указывало на развитие стойкой гиперсенсибилизации рецепторов околоклубочковых артериол к экзогенному медиатору и их неадекватной констрикторной реакции в ответ на его минимальное воздействие, несмотря на стимуляцию диуреза.

Для оценки транспорта натрия опытными и контрольными почками определяли его суточную экскрецию при спонтанном режиме (E_{Na}) и относительную реабсорбцию (R_{Na} , %). Результаты исследования показали, что обе вместе интактные почки ложнооперированных животных при стабильном потреблении натрия за сутки выводят (210 ± 24) мкмоль/100 г этого иона. К 15-м суткам после нефрэктомии выделение натрия оставшейся почкой с сохраненной иннервацией возросло до (296 ± 11) мкмоль·100 г⁻¹·сут⁻¹, а к концу эксперимента экскреция

катиона возвратилась к значениям, близким к таковым параметров двух почек ложнооперированных животных (табл. 1). Иная динамика этого показателя отмечена в опытной серии с нервной децентрализацией оставшейся почки: натрийурез ЕДП к концу второй недели опыта резко превысил не только соответствующие значения параметров двух почек ложнооперированных животных, а и соответствующие значения показателей единственной иннервированной почки. Так, в этот период экскреция натрия составила (902 ± 64) мкмоль·100 г⁻¹·сут⁻¹, постепенно снижаясь в последующем лишь до (378 ± 65) мкмоль·100 г⁻¹·сут⁻¹. Показательными оказались и значения R_{Na} : на всем протяжении эксперимента значение этого параметра ЕДП было ниже таковых интактной почки ложнооперированных двупочекных животных и единственной контрольной почки (см. табл. 1).

Изучение топологических особенностей локальных питающих кровотоков в корковом и мозговом веществах интактной левой почки у ложнооперированных животных показало, что их значения составляют $(1,8 \pm 0,33)$ и $(0,45 \pm 0,11)$ мл·мин⁻¹·г⁻¹ ткани соответственно, что близко к известным данным [2]. Динамика питающих канальцевую систему перитубулярных кровотоков в левой почке всех серий животных представлена на рисунке. Показано, что корковое вещество КГП на протяжении всего эксперимента пребывает в условиях постнефрэктомической гиперперфузии, так как значения локального кортикального кровотока единственной контрольной почки превышают таковые интактной почки ложнооперированных двупочекных животных. Существенно при этом отличаются сдвиги, происходящие в ЕДП: первоначальное значительное усиление перитубулярного кровообращения коры сменяется после 15-х суток его прогрессирующим снижением до значений ниже контрольных, составляющих $(1,46 \pm 0,07)$ мл·мин⁻¹·г⁻¹, т. е. кора в поздние сроки эксперимента находится в условиях гипоперфузии. Повышенные значения интрамедулярного кровотока при сниженных значениях кортикального в период с 60-х по 120-е сутки свидетельствуют о его внутриорганном перераспределении.

Наконец, представляло наибольший интерес выявить внутринефронные сегментарные нарушения энергозависимых транспортных процессов, в частности реабсорбции натрия единственной почкой в условиях ее компенсаторной гипертрофии и денервации. С этой целью морфометри-

Таблица 1. Динамика суточной экскреции и относительной реабсорбции натрия единственной почкой при сохраненной (КГП) и выключенной (ЕДП) интервации ($M \pm m$)

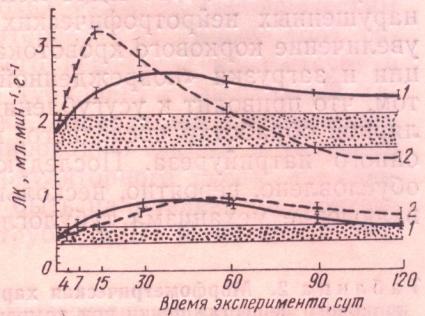
Параметр	Интактная почка	После нефрэктомии			
		15-е сутки		30-е сутки	
		КГП	ЕДП	КГП	ЕДП
E_{Na} , мкмоль·100 г ⁻¹ ·сут ⁻¹		105±12	297±11	902±64*	253±22
R_{Na} , %		99,86±0,01	99,77±0,02	99,24±0,03*	—
					99,42±0,05
Параметр	Интактная почка	После нефрэктомии			
		60-е сутки		120-е сутки	
		КГП	ЕДП	КГП	ЕДП
E_{Na} , мкмоль·100 г ⁻¹ ·сут ⁻¹		105±12	227±21	399±88*	230±17
R_{Na} , %		99,86±0,01	99,83±0,01	99,59±0,04	99,85±0,02
					99,61±0,05

Примечание. Здесь и далее в таблицах расшифровка аббревиатур в тексте.
* Достоверные изменения значений параметров ($P < 0,05$) по сравнению с контрольными.

чески были изучены Мх кортикальных канальцев КГП и ЕДП. Корковые сегменты нефронов были выбраны для исследования в связи с тем, что в них осуществляются наиболее энергоемкие процессы транспорта [18], а структурное состояние их Мх является своеобразным «зеркалом» состояния реабсорбции катионов. Расчет K_m и K_e по параметрам электронограмм срезов контрольных почек, изъятых на 15-, 30- и 90-е сутки после «включения» модели показал, что в течение всего эксперимента в Мх эпителия корковых канальцев КГП происходили эволютивные изменения, проявившиеся в усложнении их морфологической орга-

ны лакотипе канальца, ви-линике
-сити, оно идет вниз
-стали фильтруют и неизменен
-дует канальца от интенсивности

Динамика локальных кровотоков (ЛК) коры (вверху) и медуллы (внизу) единственной почки в условиях сохранной (1) и выключенной (2) иннервации. Заштрихованные полосы соответствуют диапазонам параметров интактной почки двупочечных ложнооперируемых животных.



низации и энергоэффективности, наиболее выраженные в КПК и КСТ при относительной стабильности параметров КДК (табл. 2).

При хронической нервной децентрализации единственной почки максимальные альтеративные изменения МА были зарегистрированы в эпителии проксимальных канальцев — клетках, находящихся в оставшейся почке на высоте своей специфической деятельности и являющихся основным звеном внутринефронтальной компенсации тубулярных функций КГП [15] (см. табл. 2). K_m и K_e в дистальных канальцах к 90-м суткам были ниже лишь на 2 %, в то время как МА эпителия собирательных трубок в этих условиях проявил неожиданно высокую «пластичность», что выразилось повышением энергоэффективности его Мх на 35 % по сравнению с таковой интактной почки и превысило соответствующие параметры Мх КГП (табл. 3).

Обсуждение

Оставшаяся в организме единственная почка подвергается постоянной функциональной нагрузке, поскольку вследствие усиления притока к ней крови после контроллеральной нефрэктомии увеличивается загрузка канальцевой системы ультрафильтратом, что нарушает режим «перемежающегося функционирования» нефронов, лишая их «пауз отдыха» [4]. Компенсация транспортных процессов, обеспечивающих постоянство водно-электролитного баланса, происходит в оставшейся почке за счет гипертрофии канальцевых клеток, усиления активности их специфических переносчиков и транслоказ [15], что больше всего проявляется в проксимальных канальцах и находит отражение в увеличении реабсорбции натрия до значений этого показателя для обеих почек. Последнее созвучно с полученными нами ультраморфометрическими результатами и согласуется с известными данными [8].

Почки получают преимущественно адренергическую иннервацию, что подтверждено наличием прямых контактов нейротерминалей с их сосудами и канальцевыми клетками, в то время как морфологических доказательств иннервации структур гломерулы на сегодня не обнаружено [13]. Механизм влияния адренергических медиаторов на почку сложен и не сводится лишь к пусковым вазомоторно-тубулярным эффектам, а имеет и трофико-метаболические проявления. Последние реализуются прямым медиаторным путем и опосредуются изменением доставки субстратов и кислорода по сосудистой системе к канальцевым клеткам, осуществляющим в почке многогранные транспортные процессы. С од-

ной стороны, хроническая функциональная перегрузка и выключение нервных влияний на почку ставят ее в экстремальные условия, при которых орган остро нуждается в катехоламинах. С другой,— денервация приводит к резко выраженному тканевому дефициту медиаторов, что обусловливает снижение индуцирующего влияния НА на аденилатциклазную систему, являющуюся триггером транспорта натрия в канальцах и адекватного энергообеспечения этого процесса [16, 18]. Поскольку денервационный синдром в почке имеет преимущественно канальцевые проявления, то первичное усиление перитубулярного ЛК в корковом веществе ЕДП можно трактовать как фактор компенсации нарушенных нейротрофических влияний на тубулярный эпителий. Но увеличение коркового кровотока способствует также усилиению фильтрации и загрузки «поврежденной» канальцевой системы ультрафильтратом, что приводит к усугублению постденервационного нарушения тубулярной обработки последнего, проявляющемуся в синдроме денервационного натрийуреза. Последующее ухудшение кровоснабжения коры обусловлено, вероятно, несколькими причинами. Одной из них является включение механизма тубулогломеруллярной обратной связи в ответ на

Таблица 2. Морфометрическая характеристика митохондрий канальцевого эпителия коркового вещества почки при компенсаторной гипертрофии ($M \pm m$)

Параметр M_x	КПК			
	Интактная почка	15-е сутки	30-е сутки	90-е сутки
V_v^M , %	30,0±0,6	29,7±2,2	31,4±1,6	33,8±0,7*
S_v^M , $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	2,3±0,4	2,5±0,1	2,4±0,3	2,5±0,2
S_v^{kp} , $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	3,9±0,1	4,1±0,1	4,8±0,3*	5,1±0,1*
K_m	29,9±2,1	33,7±0,5*	36,8±0,5*	37,7±0,2
K_g , %	100	130	147	151

Параметр M_x	КДК			
	Интактная почка	15-е сутки	30-е сутки	90-е сутки
V_v^M , %	33,3±0,2	34,2±0,2*	34,7±0,3*	35,1±0,1*
S_v^M , $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	2,5±0,2	2,3±0,8	2,4±0,8	2,4±0,2
S_v^{kp} , $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	4,2±0,3	4,6±0,2	4,2±0,2	4,3±0,3
K_m	31,5±1,3	31,5±0,8	30,9±1,2	29,1±1,2
K_g , %	100	98	96	103

Параметр M_x	КСТ			
	Интактная почка	15-е сутки	30-е сутки	90-е сутки
V_v^M , %	3,2±0,4	4,1±0,7*	4,2±0,1*	4,3±0,3*
S_v^M , $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	0,43±0,1	0,47±0,3	0,49±0,3	0,52±0,1
S_v^{kp} , $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	0,49±0,1	0,6±0,09	0,72±0,1*	0,76±0,05
K_m	6,7±0,3	6,9±0,7	8,4±0,5*	9,2±0,3*
K_g , %	100	109	111	121

* Достоверные ($P < 0,05$) изменения значений показателей по сравнению с таковыми интактной почки.

избыточное поступление в область плотного пятна дистального канальца ионов натрия из-за снижения их проксимальной реабсорбции. Это приводит к сужению околоклубочковых артериол, вызванному включением ренин-ангиотензинного механизма. Последний, как известно, вызывает активацию альдостеронового звена, способствующего выравниванию канальцевого транспорта натрия гуморальным путем. Причиной кортикальной гипоперфузии ЕДП после 60-х суток может быть также развивающееся энергодефицитное состояние перегруженной денервированной ткани почки [9], сопровождающееся повышенным гидролизом АТФ. Образующийся при этом в избытке аденоzin является специфическим почечным вазоконстриктором корковых артериол [20]. Кроме того, гипоперфузия канальцевой системы коркового вещества способствует и констатированный нами преимущественно тубулоинтерстициальный характер денервационного повреждения почки, приводящий к постепенному периваскулярно-стромальному склерозированию органа и редукции питающего канальцевые клетки микроциркуляторного русла. Увеличение при этом мозгового кровотока может быть направлено на повышенное роли петель Генле и собирательных трубок ЕДП в обработке ультрафильтрата.

Таблица 3. Морфометрическая характеристика митохондрий канальцевого эпителия коркового вещества единственной почки при хронической денервации ($M \pm m$)

Параметр M_x	КПК			
	Интактная почка	15-е сутки	30-е сутки	90-е сутки
V_v^M , %	30,0 \pm 0,6	34,1 \pm 0,3*	33,6 \pm 0,1*	29,1 \pm 0,1*
S_v^M , $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	2,3 \pm 0,4	2,8 \pm 0,9	2,7 \pm 0,2*	2,4 \pm 0,1
S_v^{kp} , $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	3,9 \pm 0,1	—	3,0 \pm 0,3*	3,2 \pm 0,2*
K_M	29,9 \pm 2,1	—	23,9 \pm 0,2*	26,3 \pm 0,6*
K_g , %	100	73	79	84

Параметр M_x	КДК			
	Интактная почка	15-е сутки	30-е сутки	90-е сутки
V_v^M , %	33,3 \pm 0,2	30,2 \pm 0,4*	29,3 \pm 0,6*	32,2 \pm 0,2*
S_v^M , $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	2,5 \pm 0,2	2,2 \pm 0,6	1,8 \pm 0,2	2,2 \pm 0,6
S_v^{kp} , $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	4,2 \pm 0,3	4,0 \pm 0,7	4,7 \pm 0,1	4,4 \pm 0,6
K_M	31,5 \pm 1,3	29,1 \pm 0,4	28,2 \pm 0,8*	30,1 \pm 0,2
K_g , %	100	94	94	98

Параметр M_x	КСТ			
	Интактная почка	15-е сутки	30-е сутки	90-е сутки
V_v^M , %	3,2 \pm 0,4	3,6 \pm 0,4	3,8 \pm 0,3	4,5 \pm 0,3
S_v^M , $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	0,43 \pm 0,1	0,44 \pm 0,3	0,41 \pm 0,05	0,58 \pm 0,07
S_v^{kp} , $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	0,49 \pm 0,1	0,51 \pm 0,1	0,73 \pm 0,1	0,83 \pm 0,1
K_M	6,7 \pm 0,3	6,2 \pm 0,3	7,8 \pm 1,4	10,6 \pm 0,1*
K_g , %	100	97	114	135

* Достоверные ($P < 0,05$) изменения значений показателей по сравнению с таковыми контрольной группы животных (см. табл. 2).

Последнее находит отклик в результатах сравнительного исследования Мх канальцевой системы КГП и ЕДП, выявившего в конечном итоге наряду с нейрогенным повреждением извитых канальцев активацию МА собираательных трубок. Этот факт укладывается в известный феномен «перераспределения функций вдоль нефрона» [7], развивающийся в данной ситуации в ответ на альтеративные изменения проксимальных канальцев. Можно предположить, что отмеченная в наших исследованиях тенденция к восстановлению транспорта натрия в ЕДП отчасти связана с включением этого механизма, что, возможно, обусловлено наименьшей плотностью иннервации собираательных трубок [13], малой энергозависимостью выполняемых ими в норме транспортных процессов и большим сродством к влиянию гуморальных факторов [15, 17].

Таким образом, в условиях сочетания хронической нервной дезцентрализации и перманентной функциональной нагрузки на почку на фоне ее тканевого нейромедиаторного дефицита нарушается тубулярная обработка натрия, одной из причин которой в поздние сроки является ухудшение кровоснабжения кортикальных канальцев, что приводит к динамической адаптивной перестройке их МА, обеспечивающего энергией активный чрезканальный транспорт. Выявленные гемодинамические и ультраструктурно-функциональные сдвиги в канальцевой системе ЕДП убедительно показывают небезразличную роль денервации в работе оставшейся в организме почки как модели трансплантата [3]. Отмеченные альтеративно-адаптивные сдвиги в опытной почке в целом отражают процесс перестройки органа с нервно-канальцевого на филогетически более древний — гуморально-клубочковый тип регуляции ее многофункциональных функций.

E. F. Barinov, A. G. Kot, N. A. Onishchenko

THE INFLUENCE OF CHRONIC DENERVATION ON BLOOD FLOW AND ULTRASTRUCTURAL AND FUNCTIONAL STATE OF DUCT SYSTEM OF SINGLE KIDNEY

The sodium kidney treatment, local blood flow in the cortex and medulla as well as ultrametric parameters of mitochondria of different regions of the rat kidney duct system were studied under compensatory hypertrophy of kidneys (CHK) and against a background of aftereffects of single kidney decentralization (SKD). In all 120 experiments have been conducted. In the course of the first two weeks of the experiment the local blood flows in the cortex of SKD increased by 30 % as compared to those under CHK and sodium uresis was thrice as high (due to a decrease in proximal reabsorption). In this case coefficients of structural organization K_m and of energy efficiency (K_e) of mitochondria lowered in cells of proximal ducts. Later on the intensity of local blood flows in the cortex of SKC was not only lower progressively than that under CHK but also of the control, simultaneously local blood flows in medulla being increased. The complete equalization of the sodium transport parameters of SKD up to their values under CHK did not occur. The rise of ultrametric parameters of the medullary ducts of SKD segments is associated with the intensification of their hemoperfusion.

M. Gogky Medical Institute of the
Ministry of Public Health, Ukrainian SSR, Donetsk

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баринов Э. Ф., Кот А. Г., Якубенко Е. Д., Буряк Л. А. Оптимизация условий исследования функций почек в хронических экспериментах // Физиол. журн.— 1987.— 33, № 6.— С. 80—83.
2. Ганич Ю. Я., Сучков В. В., Креер А. Х., Кёлер М. Центрогенная артериальная гипертензия и локальный кровоток почки: доказательство нервной регуляции медуллярного кровообращения // Физиол. журн. СССР.— 1984.— № 1.— С. 48—55.
3. Кот А. Г., Баринов Э. Ф. Способ моделирования денервации почки // А. с. № 1411803 СССР, МКИ⁴ Г 09 В 23/28.— Опубл. 23.07.88, Бюл. № 27.