© Коллектив авторов, 1999
УДК 611.16.018:616.61-002-085:599.323.4

Я.Ф.Зверев, В.М.Брюханов, С.В.Талалаев

РЕАКЦИЯ СОСУДИСТОГО КЛУБОЧКА ПОЧЕК КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО НЕФРИТА

Ya.F.Zverev, V.M.Bryukhanov, S.V.Talalaev

REACTION OF THE RAT KIDNEY VASCULAR TUFT UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL TREATMENT OF CYTOTOXIC NEPHRITIS

Кафедры фармакологии и гистологии Алтайского государственного медицинского университета, г.Барнаул, Россия

РЕФЕРАТ

Целью настоящего исследования было изучение морфологии почечного тельца и сосудистого клубочка при цитотоксическом нефрите и его экспериментальной терапии. С помощью гистологических и морфометрической методик в почках крыс показали реакции этих частей со стороны субкапсулярных и юкстамедуллярных нефронов. Установлено увеличение объёма просвета капсулы нефрона при соответствующем уменьшении размеров сосудистого клубочка, показано увеличение толщины фильтрационного барьера. При формировании нефрита в почках происходит перераспределение кровотока между различными типами нефронов. Введение нифедипина и этакриновой кислоты улучшало состояние структур почечного тельца.

Ключевые слова: почки, сосудистый клубочек, нефрит, экспериментальная терапия.

ABSTRACT

The purpose of the present investigation was to study the morphology of renal glomerulus and vascular tuft during cytotoxic nephritis and experimental therapy of the disease. Histological and morphometrical methods were used to show the reactions of these parts of subcapsular and juxtamedullary nephrons in the rat kidney. It was established that the glomerular capsule lumen was increased at the corresponding reduction of the vascular tuft sizes. The filtration barrier thickness was also shown to be increased. Redistribution of blood flow between different types of nephrons took place in the nephritic kidney. The administration of niphedipine and etacrynic acid improved the state of the renal glomerular structures.

Keywords: kidneys, vascular tuft, nephritis, experimental therapy.

ВВЕДЕНИЕ

В ходе онтогенеза почка выполняет большое количество различных функций. Участвуя практически во всех видах обмена, она обеспечивает поддержание постоянства внутренней среды организма. При патологии её структуры приспосабливаются к новым условиям существования, что сопровождается функциональными и морфологическими изменениями. Так, установлено, что в сосудистом клубочке при экспериментальном гломерулонефрите, возникают ультраструктурные изменения со стороны всех элементов клубочкового фильтра: эндотелиоцитов, мезангиальных клеток, базальной мембраны. Наблюдается увеличение мезангиального матрикса, нарушение строения подоцитов [5]. Принимая во внимание, что в настоящем эксперименте ультрамикроскопические изменения должны иметь сходный характер, проведено морфологическое изучение реактивности почечного тельца нефронов и сосудистого клубочка при нефрите Масуги, а также в условиях его экспериментальной терапии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на белых беспородных крысах массой 150—200 г. Для получения нефротических изменений им вводили нефротоксическую сыворотку по известной методике [6]. Животные были разделены на три группы по 5 крыс в каждой. Первая группа являлась контрольной. Животным второй и третьей группы на протяжении 15—20 дней вводили нифедипин и этакриновую кислоту, соответственно, в дозе 10 мг/кг. Исследование почек производили периодически с 5-го по 30-й день болезни и сравнивали полученные изменения с морфологической картиной интактных крыс. Животных забивали в указанные сроки методом декапитации, извлекали почки и заливали в парафин по общепринятой методике. Для изучения общей морфологии готовили гистологические срезы

толщиной 5—10 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином или полихромным методом Маллори. Для выявления базальных мембран сосудистого клубочка и их морфологических изменений использовали гистохимическое определение гликозамингликанов с помощью ШИК-метода.

При увеличении микроскопа 450 с помощью вмонтированной в окуляр сетки, состоящей из 121 точки, производили определение удельного объёма (Vp, %) компонентов почечного тельца: капсулы, сосудистого клубочка [1].

Все результаты обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента. При расчётах использовали компьютерную программу «Statgraphics».

РЕЗУЛЬТАТЫ

При гистологическом исследовании почек контрольных и опытных животных обнаруживали морфологические признаки повреждения структур почки, характерные для нефрита Масуги. Со стороны почечного тельца нефронов наблюдали расширение просвета его капсулы, в котором нередко присутствовало зернистое содержимое, а иногда — отдельные слущенные клетки. В сосудистом клубочке имело место спадение или расширение петель кровеносных капилляров. Отмечались явления пролиферации эндотелиоцитов и мезангиальных клеток, а также набухание подоцитов. В конце периода наблюдения встречались локальные утолщения базальной мембраны, неравномерность её окрашивания с помощью ШИК-реакции.

В канальцах нефрона, особенно в проксимальных отделах, наблюдались явления повреждения эпителиальной выстилки в виде набухания и вакуолизации эпителиоцитов, повышения зернистости их цитоплазмы, частичного или полного разрушения клеток и их слущивания в просвет мочевого канальца. В отдельных нефронах присутствовало гомогенное или зернистое содержимое.

В интерстициальной ткани привлекали внимание кровеносные сосуды, и в первую очередь капиллярная сеть, в которой, по сравнению с почками интактных животных, наблюдалось перераспределение крови между субкапсулярной и юкстамедуллярной зонами коркового вещества. Кроме того, было установлено переполнение сосудов мозгового вещества.

С течением заболевания в интерстициальной ткани коркового вещества нарастала лейкоцитарная инфильтрация, больше выраженная к 30-му дню и локализованная преимущественно вокруг дуговых и междольковых артерий и вен. В некоторых почках обнаруживались массивные разрастания соединительной ткани, которые обычно формировались в местах полностью разрушенных нефронов.

Известно, что состояние клубочкового фильтра во многом определяют изменения, которые можно наблюдать со стороны канальцевых частей нефрона. Неравнозначность структурных единиц почки с делением на субкапсулярные и юкстамедуллярные нефроны приводит к формированию некоторых особенностей морфологической картины их поражения при различных состояниях органа выделения.

В табл. 1 показан относительный объём почечного тельца при нефротоксическом нефрите и в процессе его лечения.

Таблица 1

Удельный относительный объем почечного тельца нефрона ($\bar{X}$±m) в ходе развития нефротоксического нефрита и его лечения (в % от тестовой системы)

Дни	n	Тип нефрона	Интактные	Контроль	Нифедипин	Этакриновая кислота
5-й	5	Юкстамедуллярные	56,4±2,90	73,0±1,83	67,8±3,13	68,9±2,42
		Субкапсулярные	38,5±1,64	54,1±1,57	45,0±1,22	44,1±0,87
15-й	10	Юкстамедуллярные	56,4±2,90	77,2±1,03	73,1±3,81	67,5±2,54
20-й		Субкапсулярные	38,5±1,64	51,1±2,04	48,3±1,10	43,7±1,26
30-й	5	Юкстамедуллярные	56,4±2,90	65,4±1,68	95,2±1,76	–
		Субкапсулярные	38,5±1,64	47,2±1,10	59,1±2,20	

Примечание. Здесь и в табл. 2—3: все результаты достоверно отличаются от показателей интактных крыс. n — количество использованных животных.

У животных контрольной серии опытов, по сравнению с интактными крысами, установлено достоверное повышение относительного объёма почечного тельца. В субкапсулярных нефронах максимальное увеличение удельного объёма наблюдалось через 5 дней (на 15,7%), в юкстамедуллярных его наибольший рост приходился на 20-й день (на 20,8%). К концу периода наблюдения этот показатель несколько уменьшался.

При применении нифедипина в течение первой половины болезни объём почечного тельца обоих видов нефронов существенно не отличался от контрольных цифр. Затем выявлялась устойчивая тенденция увеличения этого показателя, приобретавшая наибольшую значимость к 30-му дню. В это время данный показатель повышался у юкстамедуллярных нефронов в 1,7 раза, а у субкапсулярных — в 1,5 раза. В тоже время, введение этакриновой кислоты, наоборот, оказывало стабилизирующее вли-

яние на этот участок нефрона. Это проявилось уменьшением объёмов почечного тельца, как юкстамедуллярных, так и субкапсулярных нефронов по сравнению с таковыми в контрольной серии. Кроме того, отсутствовала тенденция увеличения этого показателя, выявленная у животных, получавших нифедипин.

Увеличение размера почечного тельца нефрона может происходить по трём причинам: либо за счёт увеличения объёма просвета капсулы, либо за счёт увеличения размеров структур сосудистого клубочка, либо за счёт сочетанного увеличения обоих этих компонентов. Для выяснения этого были проведены последующие морфометрические измерения.

В табл. 2 представлены результаты измерения объёма просвета капсулы. Как видно из таблицы, у контрольных животных просвет капсулы почечного тельца всегда был значимо больше, чем у интактных крыс. Особенно сильно увеличивался просвет юкстамедуллярных нефронов через 5 дней после начала эксперимента, когда он превышал показатели нормы в 4,7 раза. В дальнейшем увеличение объёма просвета капсулы обоих типов нефронов сохранялось примерно на одном уровне.

В результате введения обоих препаратов относительный объём просвета капсулы почечного тельца был меньше, чем в контроле, однако его величина всегда превосходила таковую у интактных животных. При использовании нифедипина объём просвета капсулы почечного тельца и субкапсулярных, и юкстамедуллярных нефронов превышал норму уже на 5-й день, но по сравнению с контролем, увеличивался в меньшей степени и сохранялся на этом уровне на протяжении всего эксперимента.

Похожая закономерность установлена в условиях применения этакриновой кислоты. При сопоставлении с контролем повторялась общая тенденция улучшения состояния этой части нефрона, нарастающая к концу эксперимента. Несколько большую чувствительность к действию препарата проявляли юкстамедуллярные нефроны.

В табл. 3 представлены относительные показатели, характеризующие изменения объёма сосудистого клубочка.

В контрольной серии обращает внимание факт значительного уменьшения объёма сосудистого клубочка. Максимальные изменения наблюдались на 5-й день после начала опыта, когда объём сосудистого клубочка обоих видов нефронов уменьшался в 1,4 раза. К концу эксперимента отмечалось некоторое увеличение удельного объёма.

Введение исследуемых препаратов приводило к некоторой нормализации объёма сосудистого клубочка. При этом максимальное приближение к показателям интактных животных наблюдалось в результате применения этакриновой кислоты на 20-й день эксперимента. Однако и здесь полного восстановления объёма сосудистого клубочка не происходило.

Таким образом, из приведённых морфометрических данных следует, что нарастание размера почечного тельца в целом происходит за счёт увеличения объёма капсулы при одновременном уменьшении сосудистого клубочка.

Уменьшение объёма сосудистого клубочка может быть, с одной стороны, следствием количественных изменений в строении компонентов клубочкового фильтра: подоцитов, мезангиальных клеток, эндотелия и базальной мембраны, а с другой, — результатом перераспределения крови в клубочковых капиллярах между субкапсулярными и юкстамедуллярными нефронами или в пределах одного из названных типов. В табл. 4 представлен удельный относительный объём капилляров клубочка при экспериментальном нефротоксическом нефрите и после введения на его фоне исследуемых препаратов.

Таблица 2

Удельный относительный объём просвета капсулы почечного тельца ($\bar{X}$±m) (в % от объёма почечного тельца)

Дни	n	Тип нефрона	Интактные	Контроль	Нифедипин	Этакриновая кислота
5-й	5	Юкстамедуллярные	7,5±0,91	34,74±2,73	24,45±1,93	25,19±3,13
		Субкапсулярные	8,6±2,00	31,94±1,01	19,40±1,11	29,61±1,28
15-й	10	Юкстамедуллярные	7,5±0,91	30,03±2,71	25,36±2,14	17,56±0,39
20-й		Субкапсулярные	8,6±2,00	30,43±1,09	20,95±1,80	23,68±2,04
30-й	5	Юкстамедуллярные	7,5±0,91	29,10±2,59	26,37±2,12	–
		Субкапсулярные	8,6±2,00	27,85±1,02	26,14±1,87	–

Таблица 3

Удельный относительный объем сосудистого клубочка нефрона ($\bar{X}$±m) при нефротоксическом нефрите и после введения препаратов (в % от объема почечного тельца)

Дни	n	Тип нефрона	Интактные	Контроль	Нифедипин	Этакриновая кислота
5-й	5	Юкстамедуллярные	79,8±3,30	55,5±2,86	62,9±2,40	66,7±3,08
		Субкапсулярные	78,0±2,18	55,4±1,10	65,5±1,66	60,7±1,19
15-й	10	Юкстамедуллярные	79,8±3,30	66,4±2,17	64,0±2,10	71,5±0,51
20-й		Субкапсулярные	78,0±2,18	62,8±1,17	66,2±1,27	63,8±2,23
30-й	5	Юкстамедуллярные	79,8±3,30	61,6±1,98	67,5±2,20	–
		Субкапсулярные	78,0±2,18	60,8±1,07	62,3±2,21	–

Из таблицы видно, что при экспериментальном нефрите происходит перераспределение кровотока между разными типами нефронов. Только к 30-му дню эксперимента появлялась тенденция восстановления соотношения объёмов капилляров клубочка между околомозговыми и подкапсулярными нефронами.

Применение обоих препаратов на фоне нефротоксического нефрита, по сравнению с контролем, вызывало ещё большее расширение капилляров клубочков юкстамедуллярных нефронов. Одновременно незначительно усиливался кровоток и через субкапсулярные нефроны. Правда, введение нифедипина к концу периода наблюдения приводило к некоторой стабилизации капиллярного русла клубочка нефрона и нормализации отношения показателей капилляров субкапсулярных и юкстамедуллярных нефронов. В норме этот показатель равнялся 1,65. На 30-й день исследования после введения нефедипина он составлял 1,19, в то время как во всех остальных группах животных он был от 1,05 и ниже.

Итак, в процессе развития нефротоксического нефрита в сосудистых клубочках субкапсулярных и юкстамедуллярных нефронов установлено перераспределение кровотока, что обусловлено увеличением относительного объёма капилляров в клубочках околомозговых нефронов и уменьшением — в подкапсулярных. Некоторая стабилизация этих показателей и приближение к норме было обнаружено в сериях экспериментов с введением нифедипина.

В табл. 5 представлен относительный объём структурных элементов клубочкового фильтра. В обоих типах нефронов в контрольной серии опытов наблюдалось увеличение толщины клубочкового фильтра, в наибольшей степени выраженное на 5-й день эксперимента. Аналогичные изменения исследуемых показателей отмечены в серии с нифедипином. В опытах с этакриновой кислотой несколько меньшие изменения толщины компонентов клубочкового фильтра выявились со стороны юкстамедуллярных нефронов. При этом данный показатель достоверно не отличался от значений в почках интактных животных.

Подчеркнём, что увеличение толщины клубочкового фильтра субкапсулярных нефронов после введения как нифедипина, так и этакриновой кислоты происходило примерно в равной степени (на 10%), и только на 30-й день в опытах с нифедипином эта разница достигала 13,7%.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты гистологического исследования почек, полученные после введения взрослым крысам нефротоксической сыворотки, показали формирование изменений, характерных для нефрита Масуги, с повреждением нефронов и интерстициальной соединительной ткани. Морфология изменений соответствует описанным ранее [7]. Вследствие того, что при нефритах в первую очередь происходит иммунное повреждение сосудистого клубочка почечного тельца, в настоящей работе было проведено его морфометрическое изучение. В ходе поставленных опытов было достоверно доказано увеличение просвета капсулы почечного тельца при одновременном уменьшении объёма сосудистого клубочка, что, как установлено, может быть следствием нарушения проницаемости компонентов клубочкового фильтра в результате повреждения эндотелия, базальной мембраны и подоцитов [5]. В контрольной серии животных отмечено перераспределение кровотока по сравнению с нормой между юкстамедуллярными и субкапсулярными нефронами. Морфо-

Таблица 4

Удельный относительный объем капилляров клубочка ($\bar{X}$±m) при нефротоксическом нефрите и после введения препаратов (в % относительно объема сосудистого клубочка)

Дни	n	Тип нефрона	Интактные	Контроль	Нифедипин	Этакриновая кислота
5-й	5	Юкстамедуллярные	22,8±2,12	23,2±1,55	24,7±2,44	32,4±5,71
		Субкапсулярные	37,6±3,96	21,9±1,52*	25,9±2,16*	28,0±1,69*
15-й	10	Юкстамедуллярные	22,8±2,12	32,3±1,08*	37,1±2,60*	29,8±3,11
20-й		Субкапсулярные	37,6±3,96	28,8±1,35*	28,1±2,32*	27,0±2,83*
30-й	5	Юкстамедуллярные	22,8±2,12	25,3±2,43	20,5±2,17	–
		Субкапсулярные	37,6±3,96	25,4±1,59*	24,4±1,36*	–

* Здесь и в табл. 5: достоверные изменения по сравнению с показателями интактных животных.

Таблица 5

Удельный относительный объем компонентов клубочкового фильтра ($\bar{X}$±m) при нефротоксическом нефрите и после введения препаратов (в % относительно объема сосудистого клубочка)

Дни	n	Тип нефрона	Интактные	Контроль	Нифедипин	Этакриновая кислота
5-й	5	Юкстамедуллярные	65,4±3,00	76,8±1,55*	75,3±2,44*	67,5±5,71
		Субкапсулярные	61,7±1,81	78,1±1,52*	72,7±1,94*	71,9±1,69*
15-й	10	Юкстамедуллярные	65,4±3,00	74,3±2,11*	64,1±2,91	68,7±3,83
20-й		Субкапсулярные	61,7±1,81	75,0±1,66*	72,0±2,34*	72,6±3,11*
30-й	5	Юкстамедуллярные	65,4±3,00	74,7±2,43*	79,5±2,17*	–
		Субкапсулярные	61,7±1,81	74,6±1,59*	75,4±1,35*	–

метрически показано закономерное увеличение объёма капиллярного русла у первых и уменьшение — у вторых. Подобное перераспределение кровотока в почках животных было показано после применения некоторых диуретиков [2]. Введение нифедипина и этакриновой кислоты морфологически выявляло тенденцию большего усиления кровотока через околомозговые нефроны и некоторую его нормализацию у подкапсулярных структурных единиц. В проведённой работе применение фармакологических препаратов уменьшало относительный объём компонентов клубочкового фильтра, а введение этакриновой кислоты приводило к его нормализации в юкстамедуллярных нефронах. Не исключено, что такая реакция связана с противоотёчным и противовоспалительным действием диуретиков на ткани почек, как это отмечалось в исследованиях, проведенных ранее [3, 4].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе развития цитотоксического нефрита в почках животных появляются изменения со стороны почечного тельца в виде расширения капсулы и нарушения сосудистого клубочка, характеризующиеся перераспределением кровотока между субкапсулярными и юкстамедуллярными нефронами. Эти нарушения могут быть связаны с изменениями толщины базальной мембраны, а также с повреждениями эндотелиоцитов и подоцитов клубочкового фильтра. Введение фармакологических препаратов несколько нормализовало морфометрические показатели компонентов почечного тельца.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: Руководство.—М.: Медицина, 1990.—384 с.

2. Брюханов В.М., Талалаев С.В. Морфология межтканевых реакций и микроциркуляторного русла в почках беременных крыс после введения диуретиков // Нефрология.—1998.—Т. 2, № 3.—С. 95—98.

3. Дубищев А.В. Механизм действия диуретиков при ишемическом повреждении почек: Автореф. дис... докт. мед. наук.—Казань, 1988.

4. Зверев Я.Ф., Талалаев С.В., Оберемок А.В. Влияние этакриновой кислоты на течение цитотоксического гломерулонефрита // Бюл. экспер. биол.—1991.—Т. 111, № 10.—С. 389—391.

5. Коэн А. Краткий обзор методов оценки основных патологических процессов в биоптатах почек // Нефрология.—1997.—Т. 1, № 4.—С. 72—76.

6. Самойлова З.Т., Шульцев Г.П., Халютина Л.В., Булатова Э.Р. Моделирование экспериментального нефрита и его течение в зависимости от путей и частоты введения нефротоксической сыворотки // Моделирование, методы изучения и экспериментальная терапия патологических процессов. Материалы Всес. конф.—М., 1973.—С. 53—55.

7. Серов В.В. Морфологические основы иммунопатологии почек (нефрит, нефроз).—М.: Медицина, 1968.—328 с.

Поступила в редакцию 05.05.99 г.