

УДК 616.831. – 018 - 053

С. С. Ткачук
В. П. Гавалешко

Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці

СУБМІКРОСКОПІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ НИРКИ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ, УСКЛАДНЕНИМ НЕПОВНОЮ ГЛОБАЛЬНОЮ ІШЕМІЄЮ- РЕПЕРFUZІЄЮ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Ключові слова: цукровий діабет,
каротидна ішемія-реперфузія,
нирки, субмікроскопічні зміни.

Резюме. У щурів із чотиримісячним цукровим діабетом на фоні порушення мікроциркуляції в нирковому тільці та перитубулярній сітці розвиваються пошкодження структури епітеліоцитів проксимальних і дистальних каналців нирки. Каротидна ішемія-реперфузія спричиняє в нирках значні судинні розлади, що негативно впливає на гістоструктуру подоцитів ниркових тільць та епітеліоцитів звивистих каналців. Найсуттєвіші зміни структурних компонентів нефрона та судинного русла нирки встановлені за умов ускладнення цукрового діабету каротидною ішемією-реперфузією.

Вступ

Незважаючи на широкий арсенал ренопротективної терапії, що застосовується при цукровому діабеті (ЦД), діабетична нефропатія залишається найбільш поширеною причиною Alpha ниркової недостатності [3, 5]. Збільшення кількості хворих на ЦД із термінальною стадією ниркової недостатності сьогодні розцінюється як важлива медико-соціальна проблема. Згідно класичних поглядів, діабетичну нефропатію прийнято розглядати як пізні ускладнення ЦД, однак морфологічні її прояви виявлені в щурів із двотижневим захворюванням. Вони полягають в акумуляції екстрацелюлярного матриксу, потовщенні гломерулярної і тубулярної базальної мембрани, зміні структури подоцитів, посиленні їх апоптозу, збільшенні сумарного об'єму мезангію і його клітин, довжини фільтраційних щілин та ін. [6, 7, 9, 12, 14].

Добре відомо, що у хворих на ЦД значно зростає частота атеросклеротичних уражень із розвитком макроангіопатій [8, 11]. Критерієм атеросклеротичного ураження стінок артерій є збільшення товщини інтима-медіа (ТІМ). У пацієнтів із ЦД ТІМ сонних артерій значно більша, ніж в осіб відповідного віку і статі, які не страждають на діабет [4, 13]. Навіть незначне збільшення ТІМ сонної артерії є несприятливим щодо прогнозу ішемічної хвороби серця та інсульту [3, 14]. Є дослідження, які підтверджують збільшення ТІМ сонних артерій при прогресуванні діабетичної нефропатії, демонструють взаємозв'язок ТІМ сонних артерій і деяких параметрів функціональ-

ного стану нирок, включаючи швидкість клубочкової фільтрації [4, 11]. Однак досліджень ультраструктурного стану нирок при поєднанні ЦД та каротидної ішемії при аналізі літератури з даної проблеми ми не зустріли.

Мета дослідження

Вивчити субмікроскопічні характеристики структурних компонентів нирки щурів з експериментальним цукровим діабетом, ускладненим двобічною каротидною ішемією-реперфузією.

Матеріал і методи

ЦД моделювали однократним внутрішньочеревним введенням стрептозоточину (Sigma, США, 60 мг/кг маси тіла) двомісячним щурам [1]. У дослід брали щурів із рівнем глікемії вище 10 ммоль/л. Тривалість діабету – чотири місяці. У шестимісячних щурів контрольної групи та тварин із ЦД здійснювали 20-хвилинну оклюзію обох сонних артерій, після чого кровотік відновлювали [2]. Тварин виводили з експерименту на 12 добу постішемічного періоду. Для електроннооптичних досліджень фрагменти нирок фіксували у 2,5 % розчині глютаральдегіду (рН 7,3-7,4) протягом години, після чого переносили в буферний розчин і промивали впродовж 20-30 хвилин, здійснювали одностадійну фіксацію 1 % розчином чотириокису осмію на буфері Міллонга, а потім – дегідратацію в спиртах і ацетоні та заливали в суміш епоксидних смол і аралдиту. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікротомі УМПТ-7, забарвлювали 1 % водним розчином уранілацетату, контрасту-

вали цитратом свинцю та вивчали за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К [10]. Аналізували загальний вигляд та структуру клітин, електроннопрозорість, форму і структуру клітинних компартментів.

Усі дослідження проводилися з дотриманням Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р., Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Обговорення результатів дослідження

На рисунках 1-3 представлені електроннограми судинного клубочка та епітеліоцитів проксимального і дистального відділів нефрона нирки інтактного щура.

Результати електронномікроскопічного дослідження структурних компонентів нирки щура з ЦД показали, що в гемокапілярах ниркових тілець наявне повнокрів'я (рис. 4). Просвіти більшості капілярів заповнені еритроцитами. Базальна мембрана нерівномірна за товщиною, з нею контактують цитоподії різних розмірів. Одні з них потовщені, короткі, інші – видовжені, вузькі, щільно між ними контуруються погано. Цитотрабекули подоцитів і перікаріони помірної електронної щільності, збільшені за площею. Каріолема ядер утворює поодинокі глибокі інвагінації, в каріоплазмі наявні гетерохроматинові ділянки. Ядерця спостерігаються рідко. Цитоплазма клітин збіднена органелами, мітохондрії невеликі, ущільнені, в їх осміофільному матриксі погано контуруються кристи. Цитоплазматичні ділянки ендотеліоцитів, розміщених по іншій бік базальної мембрани, мають нечисельні фенестри різних розмірів.

Гемокапіляри перитубулярної сітки мають розширені просвіти, в них наявні сладж-ефекти, місцями – порушення цілісності їх стінки. Епітеліоцити проксимальних каналців невисокі, їх цитоплазма локально просвітлена, мітохондрії гіпертрофовані. Мембранні складки в базальній частині клітин укорочені, невпорядковано розміщені. Мікроворсинки на апікальному полюсі пошкоджені, фрагментовані (рис. 5).

Епітеліоцити дистальних каналців нефрона розташовані на осміофільній гомогенній базальній мембрані перитубулярного гемокапіляра. На базальному полюсі клітин мітохондрії зберігають упорядковане розташування, проте вони невеликі, кристи в їх гомогенному мітохондріальному матриксі погано контуруються. Мембранні складки в окремих ділянках цитоплазми базальних частин епітеліоцитів укорочені та нечіткі (рис. 6).

При електронномікроскопічному дослідженні кіркової речовини нирок щурів після ішемії-ре-

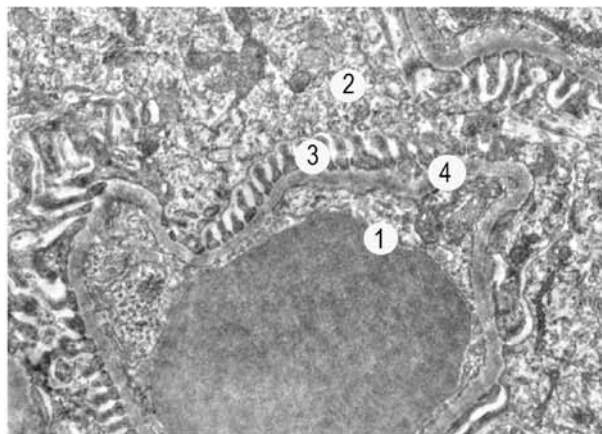


Рис. 1. Ультраструктурна організація компонентів судинного клубочка нирки інтактного щура. Просвіт гемокапіляра з еритроцитом (1), цитотрабекула (2), цитоподії (3), базальна мембрана (4). Зб. 12 000 х.

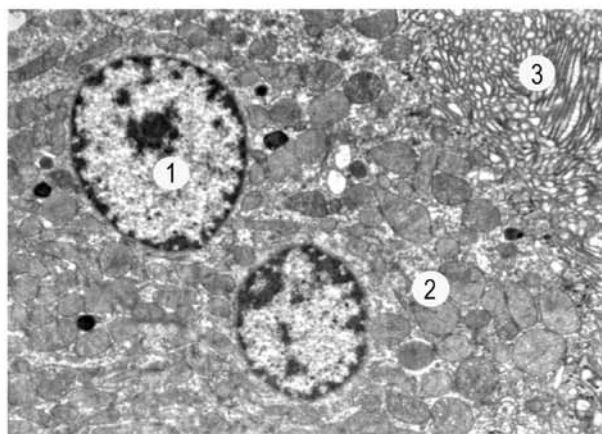


Рис. 2. Субмікроскопічний стан епітеліоцита проксимального відділу нефрона нирки інтактного щура. Ядро (1), цитоплазма (2), мікроворсинки (3). Зб. 11 000 х.

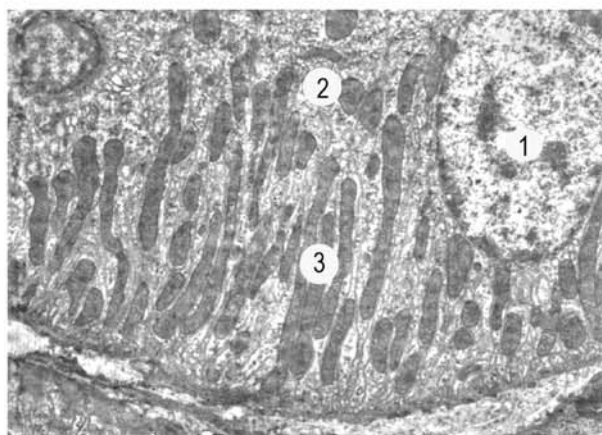


Рис. 3. Ультраструктурна організація епітеліоцита дистального відділу нефрона нирки інтактного щура. Ядро (1), цитоплазма (2), мітохондрії між складками плазмолемі (3). Зб. 11 000 х.

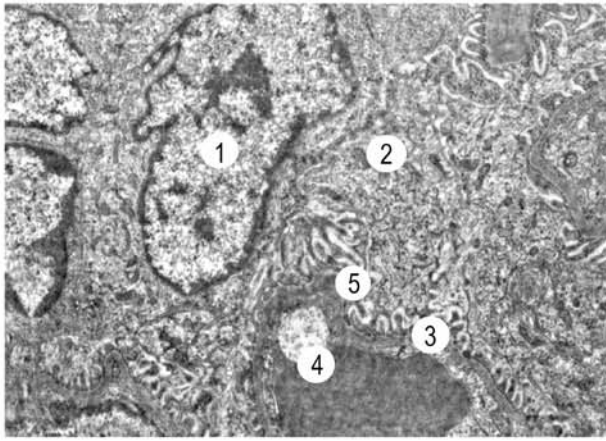


Рис. 4. Фрагмент гемокапіляра судинного клубочка ниркового тільця щура з цукровим діабетом. Ядро (1) і цитоплазма подоцита (2), базальна мембрана (3), просвіт капіляра (4), цитоподії (5). Зб. 6 000 х.

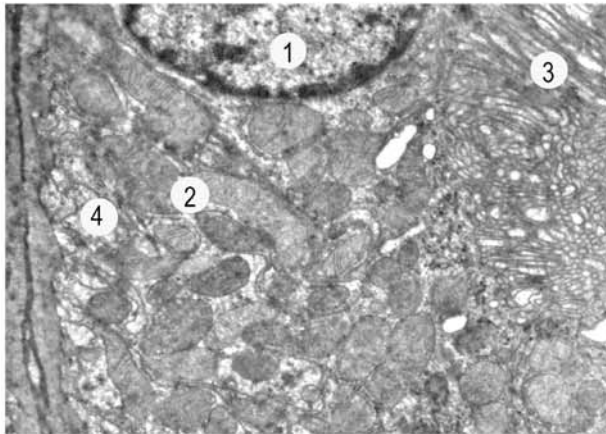


Рис. 5. Ультраструктурний стан епітеліоцита проксимального відділу нефрона при цукровому діабеті. Фрагмент ядра (1), гіпертрофована мітохондрія (2), пошкоджені мікрроворсинки (3), короткі мембранні складки (4). Зб. 17 000 х.

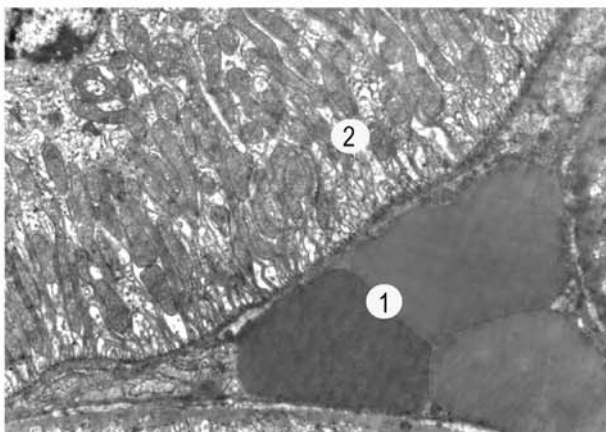


Рис. 6. Ультраструктура епітеліоцита дистального відділу нефрона та гемокапіляра нирки щура з діабетом. Широкий просвіт капіляра з еритроцитами (1),

перфузії головного мозку встановлено зміни в усіх компонентах нефрона (рис. 7-9). Просвіти капілярів судинного клубочка ниркових тілець вузькі, заповнені еритроцитами. Окремі гемокапіляри мають широкі просвіти, повнокровні. Цитоплазматична частина ендотеліоцитів має помітно розширені фенестри, а зона органел – світлу гіалоплазму з гіпертрофованими мітохондріями, просвітленим матриксом і частково редукованими кристами. Невеликі каналці гранулярної ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі розширені. Базальна мембрана кровеносних капілярів місцями потовщена, контури її нечіткі, а тришаровість будови на окремих ділянках втрачена. У подоцитах наявні набряк цитоплазми, деструкція органел, потовщення цитотрабекул. Для цитопедикул характерні гетерогенні зміни. Окремі з них потовщені, короткі, а інші – видовжені й витончені. Просвіти між цитопедикулами розширені або погано виявляються (рис. 7).

Субмікроскопічні дослідження каналців нефрона щурів даної експериментальної групи показали значні зміни ядер і цитоплазми епітеліоцитів, які утворюють їх стінку. Для клітин проксимальних відділів нефрона характерне просвітлення каріоплазми. У круглих ядрах наявні незначні осміюфільні ділянки конденсованого хроматину. Більшу частину каріоплазми займають електроннопрозорі та еухроматинові ділянки. У цитоплазмі спостерігаються різних розмірів мітохондрії: гіпертрофовані, з гомогенним матриксом і редукованими кристами, а також невеликих розмірів із помірно осміюфільним матриксом, в якому наявні кристи. Канальців ендоплазматичної сітки мало, вони нерівномірно розширені, на їх мембранах мало рибосом. Є також різних розмірів округлі осміюфільні структури. Мембранні складки в базальній частині цитоплазми нечисельні, мають невпорядковане розташування. Мікрроворсинки на апікальній поверхні клітин пошкоджені, частково потовщені і фрагментовані. Просвіти гемокапілярів перитубулярної сітки розширені, вповнені форменими елементами крові. Їх базальна мембрана потовщена, осміюфільна (рис. 8).

В епітеліоцитах дистальних каналців наявні округло-овальні ядра, з осміюфільними ділянками гетерохроматину в каріоплазмі, локалізованими переважно біля каріолеми. У цитоплазмі базальної частини клітин щільно розташовані мітохондрії, переважно подовгуватої форми, з нечіткими, погано контурованими мембранними складками плазмолемі (рис. 9). В апікальній частині цитоплазми електроннопрозора, включає вакуолі різної величини.

Найсуттєвіші субмікроскопічні зміни структурних компонентів нирок встановлені в щурів із

поєднанням ЦД та каротидної ішемії-реперфузії (рис. 10-12). Кровоносні капіляри в судинних клубочках ниркових тілець тварин даної групи мають вузькі просвіти, заповнені еритроцитами. Цитоплазма ендотеліоцитів місцями набрякла, електроннопрозора, в інших ділянках – ущільнена, осміофільна, в ній погано виявляються фенестри. Порушується цілісність мембранних органел, зустрічаються ділянки цитоплазми без органел або із залишками мітохондрій та компонентів ендоплазматичної сітки, що фрагментуються. Базальна мембрана місцями потовщена і втрачає тришарову будову, стає гомогенною (рис. 10).

У цитоплазмі подоцитів мало органел, вони деструктивно змінені. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки нечисельні, просвіти їх спадаються. Мітохондрій також мало, вони мають осміофільний матрикс, кристи частково пошкоджені, погано контуруються. Цитотрабекули потовщені, на окремих ділянках – стають гладкими. Цитоподії різних розмірів, між ними розширені просвіти. У частини подоцитів спостерігаються значно змінені ядра, глибокі інвагінації роблять їх посіченими, що нагадує каріорексис.

Гемокапіляри перитубулярної сітки мають розширені просвіти, повнокровні. Базальна мембрана розшарована, вогнищево просвітлена з боку проксимального канальця. У цитоплазмі ендотеліоцитів наявні як вогнищево набряклі ділянки, так і значно витончені. Фенестрація цитоплазматичних частин ендотеліальних клітин погано визначається (рис. 11).

За умов цього експерименту значних змін зазнають епітеліоцити канальців нефронів. Серед епітеліоцитів стінки проксимальних канальців наявні клітини, для яких характерні локально електроннопрозорі ділянки цитоплазми. Спостерігається неупорядковане розташування мітохондрій із гомогенізованим осміофільним матриксом і погано вираженими кристами. Наявні великі, округлі, осміофільні структури. Змінена структура мікрроворсинок на апікальній поверхні епітеліоцитів, вони частково зруйновані та фрагментовані. Ядра мають округло-овальну форму, ядрця є лише в окремих ядрах, вони невеликі, ущільнені, з гетерохроматиновими ділянками. Такий стан ядер відображає їх низьку функціональну активність. У базальній частині клітин зменшується протяжність мембранних складок, вони погано виражені, порушується впорядкованість розташування мітохондрій між ними (рис. 12).

У базальній частині цитоплазми епітеліоцитів дистальних канальців порушена мембранна система та структура мітохондрій. Спостерігаються електроннопрозорі ділянки між пошкодженими

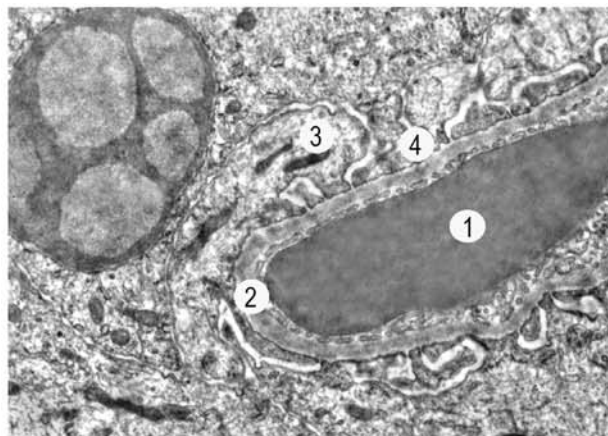


Рис. 7. Ультраструктурні зміни гемокапіляра судинного клубочка ниркового тілець щура при каротидній ішемії. Просвіт капіляра (1), базальна мембрана (2), цитотрабекули (3), цитоподії (4). Зб. 9 000 х.

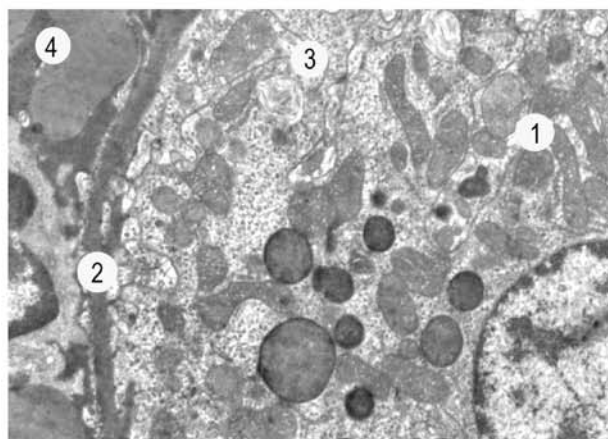


Рис. 8. Ультраструктурні зміни базальної частина епітеліоцита проксимального відділу нефрона щура при каротидній ішемії. Деструкція мітохондрій (1), потовщена базальна мембрана (2), нечіткі мембранні складки (3), широкий просвіт капіляра з форменими елементами крові (4). Зб. 15 000 х.

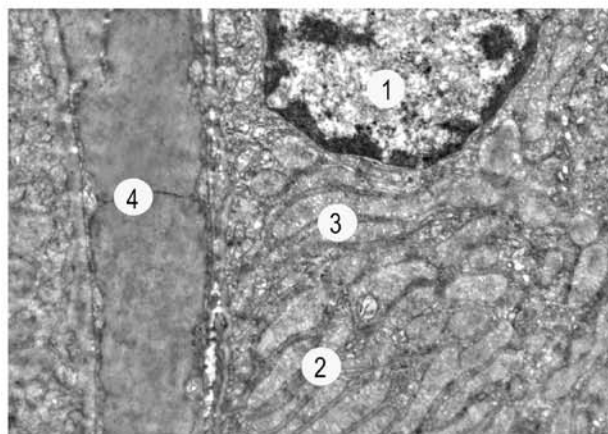


Рис. 9. Ультраструктурні зміни базальної частини епітеліоцита дистального відділу нефрона і гемокапіляра щура при каротидній ішемії. Фрагмент ядра (1), мітохондрії (2), складки мембран плазмолеми (3), просвіт капіляра з еритроцитами (4). Зб. 15000 х.

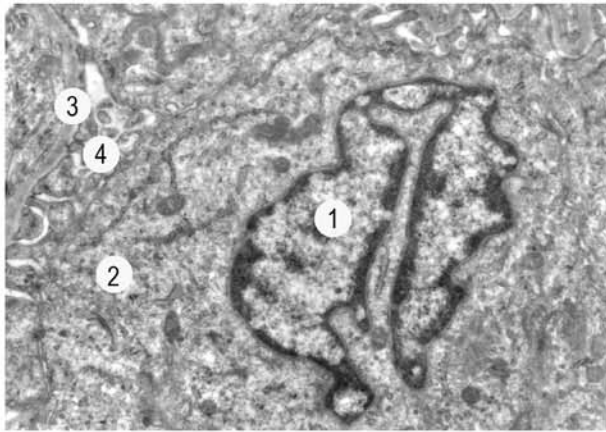


Рис. 10. Ультраструктурні зміни компонентів судинного клубочка ниркового тільця при діабеті та каротидній ішемії. Значно змінені ядро (1) і цитоплазма подоцита (2), базальна мембрана (3), цитоподії (4). Зб. 11 000 х.

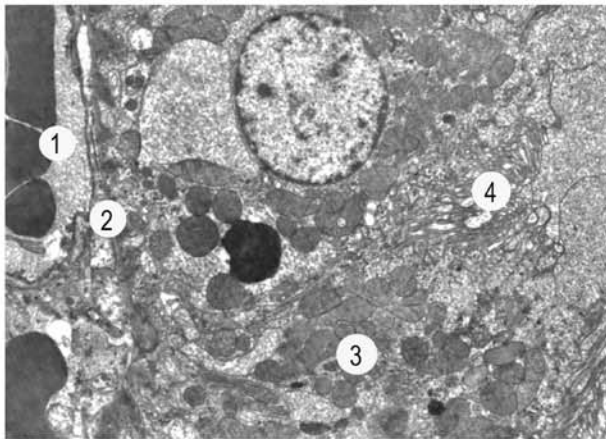


Рис. 11. Ультраструктурні зміни епітелію та гемокapіляра кіркової речовини нирки при діабеті та каротидній ішемії. Широкий просвіт капіляра (1), базальна мембрана (2), цитоплазма епітелію проксимального каналця (3), мікрворсинки (4). Зб. х 9 000.

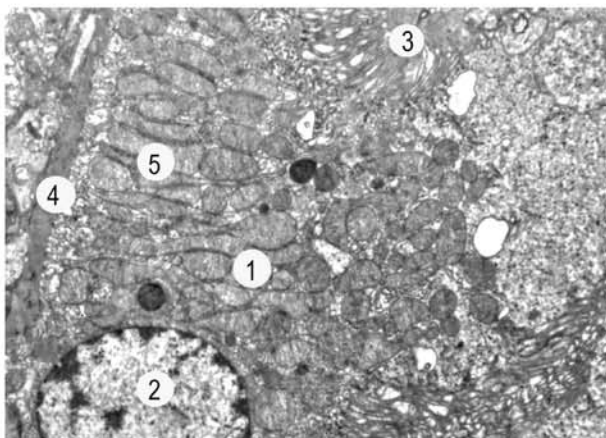


Рис. 12. Ультраструктурні зміни епітелію проксимального каналця нефрона щура при діабеті та каротидній ішемії. Цитоплазма (1), ядро (2), пошкоджені мікрворсинки (3), базальна мембрана (4), мітохондрії (5). Зб. 12 000 х

мембранами біля потовщеної базальної мембрани. Такий ультраструктурний стан епітеліоцитів каналців нефрона свідчить про порушення процесу сечоутворення – фази реабсорбції.

Висновки

1. При чотиримісячному експериментальному цукровому діабеті в нирках щурів на фоні порушення мікроциркуляції в нирковому тільці та перитубулярній сітці розвиваються пошкодження структури епітеліоцитів проксимальних і дистальних каналців. Дестабілізація і деструкція плазматичних і органоїдних мембран негативно впливає на перебіг фаз сечоутворення, функціональні можливості органу.

2. За умов каротидної ішемії-реперфузії в нирках відбуваються значні судинні розлади, що негативно впливає на гістоструктуру подоцитів ниркових тілець та епітеліоцитів звивистих каналців.

3. Найсуттєвіші зміни структурних компонентів нефрона та судинного русла нирки встановлені за умов ускладнення цукрового діабету каротидною ішемією-реперфузією.

Перспективи подальших досліджень

Будуть продовжені дослідження в наміченому напрямі.

Література. 1. Леньков О.М. Перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантний захист у корі головного мозку і гіпокампі за умов двобічної каротидної ішемії-реперфузії при експериментальному цукровому діабеті в самців-щурів / О.М.Леньков // Клін. та експеримен. патол.– 2009.– Т.VIII, №2.– С.44-46. 2. Скибо Г.Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга / Г.Н.Скибо // Патология. – 2004. – Т.1, №1. – С. 22-30. 3. Albuminuria and kidney function independently predict cardiovascular and renal outcomes in diabetes / T.Ninomiya, V.Perkovic, B.E.de Galan, S.Zoungas [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. – 2009. – Vol. 20, №8. – P.1813-1821. 4. An association between the estimated glomerular filtration rate and carotid atherosclerosis / R.Kawamoto, N.Ohtsuka, T.Kusunoki, N.Yorimitsu // Intern. Med. – 2008. – Vol.47, №5. – P. 391-398. 5. Association of genetic variants at 3q22 with nephropathy in patients with type 1 diabetes mellitus / B.He, A.M.Osterholm, A.Hoverfält, C.Forsblom // Am. J. Hum. Genet. – 2009. – Vol.84, №1. – P. 5-13. 6. Erythromycin ameliorates renal injury via anti-inflammatory effects in experimental diabetic rats / A.Tone, S.K.Hikata, M.Sasaki, S.Ohga // Diabetologia. -2005. – Vol.48, №11. – P. 2402-2411. 7. Glomerular structural changes in pregnant, diabetic, and pregnant-diabetic rats / R.Rasch, F.Lauszus, T.J.Skovhus, A.Flyvbjerg // Acta pathol. microbiol. immunol. Scand. - 2005. –Vol. 113, № 7-8. – P. 465-472. 8. High frequencies of diabetic micro- and macroangiopathies in patients with type 2 diabetes mellitus with decreased estimated glomerular filtration rate and normoalbuminuria / H.Ito, Y.Takeuchi, H.Ishida, S.Antoku [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. – 2010. – Vol.25, №4. – P.1161-1167. 9. High glucose and angiotensin II increase b1 integrin and integrin-linked kinase synthesis in cultured mouse podocytes / H.S.Young, K.Y.Sun, L.Y.Hwa [et al.] // Cell. Tiss. Res. – 2006. – Vol.323, №2. – P. 321-332. 10. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy / E.S.Reynolds // J.Cell.Biol.– 1993.– Vol.17.– P.208-212. 11. Risk of macrovascular disease stratified by stage of chronic kidney disease in type 2 diabetic patients: critical level of the estimated glomerular filtration rate and the significance of hyperuricemia / K.Tanaka, S.Hara,

A.Kushiyama, Y.Ubara [et al.] // Clin. Exp. Nephrol. – 2011. – Vol.15, №3. – P.391-397. 12. Significant glomerular basement membrane thickening in hyperglycemic and normoglycemic diabetic-prone BB Wistar rats / E.C. Carlson, C. van Rihard, J.L.Audette, M.A.Finke [et al.] // Anat. Res. – 2004. - Vol. 281, №2. – P.1308-1318. 13. The estimated GFR, but not the stage of diabetic nephropathy graded by the urinary albumin excretion, is associated with the carotid intima-media thickness in patients with type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional study / H.Ito, Y.Komatsu, M.Mifune, S.Antoku [et al.] // Cardiovascular Diabetol. – 2010. – 15; 9:18. doi:10.1186/1475-2840-9-18. 14. The podocyte and diabetes mellitus: is the podocyte the key to the of diabetic origins nephropathy? / G.R. Reddy, K. Kotlyarevska, R.F. Ransom, R.K. Menon // Curr. Opin. Nephrol. Hypertension. – 2008. – Vol.17, Is.1.– P.32-36.

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТОВ ПОЧКИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, ОСЛОЖНЕННЫМ НЕПОЛНОЙ ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ-РЕПЕРFUЗИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

С. С. Ткачук, В. П. Гавалешко

Резюме. У крыс с четырехмесячным сахарным диабетом на фоне нарушения микроциркуляции в почечном тельце и перитубулярной сетке развиваются повреждения структуры эпителиоцитов проксимальных и дистальных канальцев почки. Каротидная ишемия-реперфузия вызывает в почках значительные сосудистые расстройства, которые негативно влияют на гистоструктуру подоцитов почечных телец и эпителиоцитов извитых канальцев. Наиболее существенные изменения структурных компонентов нефрона и сосудистого

русла почки установлены при осложнении сахарного диабета каротидной ишемией-реперфузией.

Ключевые слова: сахарный диабет, каротидная ишемия-реперфузия, почки, субмикроскопические изменения.

SUBMICROSCOPIC CHARACTERISTIC OF KIDNEY STRUCTURAL COMPONENT IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS COMPLICATED BY INCOMPLETE GLOBAL ISCHEMIA-REPERFUSION OF THE BRAIN

S. S. Tkachuk, V. P. Gavaleshko

Abstract. In rats with four-months diabetes mellitus violations of epithelial cells structure of proximal and distal renal tubules occur again the background of microcirculation disturbance in renal corpuscle and peritubular network. Carotid ischemia-reperfusion causes significant vascular disorders in the kidney that adversely affects histological structure of podocyte cells and epithelial cells of the renal convoluted tubules. The most significant change in the structural components of the nephron and renal vascular bed has been stated in diabetes mellitus complicated by carotid ischemia-reperfusion.

Key words: diabetes mellitus, carotid ischemia-reperfusion, kidneys, submicroscopic changes.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol.- 2012.- Vol.11, №4 (40).-P.137-142.

Надійшла до редакції 07.02.2012

Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький

© С. С. Ткачук, В. П. Гавалешко, 2012