

© МИХАЛЬЧУК Е.Ч., МАЦЮК Я.Р., 2005

СТРУКТУРНО-ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИВАЮЩИХСЯ ПОЧЕК КРЫСЯТ ПРИ АНТЕНАТАЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ИНКОРПОРИРОВАННЫХ РАДИОНУКЛИДОВ

МИХАЛЬЧУК Е.Ч., МАЦЮК Я.Р.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии

Резюме. Эксперимент проведен на 20 беспородных белых крысах и родившихся от них 73 крысятах-самцах с применением антропометрических, гистологических и гистохимических методов исследования с последующим морфо- и цитофотометрическим анализом. Установлено, что радионуклиды, инкорпорированные в организм матери на протяжении беременности, вызывают у родившегося потомства довольно стабильную задержку прироста массы почек и структурно-цитохимической дифференцировки их нефронов. Последнее подтверждается меньшим количеством закладываемых еще в эмбриональном периоде почечных телец, сниженными морфометрическими показателями сосудистых клубочков и эпителиоцитов канальцевой системы нефронов, особенно проксимальных отделов, что сопровождается сниженной активностью оксидоредуктаз (СДГ, Г-6-ф ДГ, НАДН-ДГ) и ЩФ при одновременном увеличении активности ЛДГ и КФ. Данные изменения выражены не только в ранние сроки постнатального развития, но и в более поздние, вплоть до половой зрелости, что, несомненно, впоследствии найдет отражение в функционировании почек.

Ключевые слова: радионуклиды, почка, нефрон, ферменты, гликопротеины.

Abstract. The experiment was carried out on 20 mongrel female white rats and 73 male rats from their litter. Anthropometric, histologic and histochemical investigation methods were applied with the subsequent morpho- and cytophotometric analysis. The radionuclides incorporated into the maternal body during the pregnancy were shown to result in a relatively stable delay in renal weight gain and in structural-cytochemical nephron differentiation. The last finding was supported by lower renal body amount since the embryonal stage, lower morphometric indices of vascular glomeruli and tubular epithelial cells - especially in the proximal nephron segments, it being accompanied by lower oxidoreductase activity (succinate, glucose-6-phosphate and NADH dehydrogenases) and alkaline phosphatase and simultaneous higher activity of lactate dehydrogenase and acid phosphatase. These changes are prominent both during the early and later postnatal development (until puberty) and undoubtedly afterwards will affect the renal function.

Значительный рост нефропатий у детей, проживающих на загрязненных от аварии на ЧАЭС территориях, обуславливает повышенный интерес к данной проблеме [13]. Изменился и характер этих заболеваний: наблюдается затяжное течение, более частые рецидивы, резистентность к проводимой терапии [6], [9], [14]. Нельзя не отметить значительный рост числа

дисметаболических нефропатий и интерстициальных нефритов среди этих детей. В какой-то мере последнее обусловлено гипердиагностикой, но нельзя забывать и тот факт, что, выделяясь с мочой, радионуклиды повреждают, прежде всего, канальцевую систему и интерстиций почек [12]. Помимо этого, следует иметь в виду, что при беременности происходит накопление радиоцезия в плаценте, достигающее у женщин из Чернобыльских регионов 200 Бк/кг и более [3]. Последнее вызывает определенный

Адрес для корреспонденции: 2230006, г. Гродно, ул. Фолоуш, д.15/189, кв. 44, р.тел. 44-26-68, д.тел.53-19-10, e-mail: milena6519@mail.ru, Михальчук Е. Ч.

гормональный дисбаланс в организме матери и плода, что, несомненно, окажет воздействие на последующее его развитие [2]. В эксперименте на беспородных белых крысах установлено, что при ежедневном пероральном поступлении ^{137}Cs в организм беременных самок к концу беременности 0,8% радионуклидов обнаруживается в плодах. В матке и плацентарном комплексе на 19-е сутки беременности их содержание составляет 1,6% от количества, введенного самке [7]. Переход радиоактивных веществ к потомству будет наибольшим при поступлении радионуклидов в организм матери в период лактации и несколько меньшим в период беременности [11]. В эксперименте показано, что энтеральное поступление радионуклидов и их накопление в организме мужского пола происходит более интенсивно, нежели женского [4]. В клинических условиях исследовать данную проблему крайне трудно, поэтому особый интерес приобретает моделирование таких состояний у животных.

Таким образом, исходя из вышеизложенного, целью нашего исследования было установить структурно-цитохимические особенности почек развивающихся крысят-самцов при воздействии на них инкорпорированных радионуклидов в антенатальном периоде развития.

Методы

Эксперимент проведен на 40 беспородных беременных белых крысах массой $180,0 \pm 20,0$ грамм и родившихся от них 173 крысятах мужского пола. Опытную группу составили крысята-самцы, родившиеся от самок, содержащихся в период беременности на специальном рационе, включавшем радиоактивное зерно, из расчета 15 грамм на крысу в сутки. Удельная активность радионуклидов в зерне по ^{137}Cs составила 428,74 Бк/кг, а по ^{90}Sr – 97,69 Бк/кг, при норме соответственно 185,00 Бк/кг и 3,70 Бк/кг. Матери опытных крысят сразу после родов переводились на стандартный рацион вивария [8]. Контрольную группу животных составили крысята-самцы, родившиеся от самок, постоянно находившихся на стандартном рационе вивария. На 15-е (ранний постнатальный период), 45-е (пубертатный период) и 90-е (половозрелый период) сутки постнатального периода крысята-самцы контрольной и опытной групп, находившиеся после рождения в оди-

наковых условиях вивария, взвешивались и подвергались эвтаназии парами эфира с последующей декапитацией. Быстро извлекались почки, взвешивались и сразу же забирались материал для гистологических и гистохимических исследований. Определялся соматический коэффициент почек. Для получения объективных данных о структурных изменениях в развивающихся нефронах гистологические препараты почек, окрашенные гематоксилином и эозином, подвергались морфометрическому анализу с применением компьютерной системы анализа изображений "Bioscan". На поперечных срединных срезах почек определяли ширину коркового вещества ($\times 100$), численную плотность в нем почечных телец корковых и юкстамедуллярных нефронов, число структурно измененных их форм ($\times 200$). По формуле $V = \pi/6 (LB)^{3/2}$ определяли относительный объем почечных телец, сосудистых клубочков корковых и юкстамедуллярных нефронов ($\times 200$). Измеряли диаметр извитых канальцев проксимальных и дистальных отделов, высоту выстилающих их эпителиоцитов ($\times 400$) и по формуле $V_{\text{я}} = \pi D^3/6$ высчитывали относительный объем ядер последних [1]. На гистологических препаратах, окрашенных железным гематоксилином, среди эпителиоцитов проксимальных и дистальных отделов нефронов ($\times 1000$) определяли митотический индекс (МИ). Последний выражали в промилле (‰). В каждом препарате просматривали не менее 12000 клеток. На криостатных срезах, монтированных по принципу «контроль-опыт», в эпителиоцитах проксимальных и дистальных отделов нефронов цитофотометрическим методом (с использованием прибора МФТХ-2Н, при установленной для каждого фермента длине волны - от 440 до 580 нм) определяли количественную ферментативную активность оксидоредуктаз (СДГ, ЛДГ, Г-6-ф ДГ, НАДН-ДГ) и фосфатаз (КФ, ЩФ), а также содержание в них гликопротеинов и гликозаминогликанов [10]. Результаты количественных морфометрических и гистохимических исследований обрабатывались на персональном компьютере с применением программы "Statistica 6.0" для "Windows". Различия двух сравниваемых величин считали достоверными при $p < 0,05$. Диаграммы выполнены с помощью программы "Excel".

Таблица 1

Показатели массы тела, массы почек и их соматического коэффициента у крысят-самцов контрольной и опытной групп в различные возрастные периоды

Группы	Масса крысят (г)	Масса почек (г)	Соматический коэффициент
15 сутки			
Контроль	17,73 ± 0,51	0,196 ± 0,003	1,087 ± 0,014
Опыт	14,97 ± 0,08*	0,146 ± 0,002*	0,974 ± 0,012*
45 сутки			
Контроль	58,00 ± 1,34	0,586 ± 0,007	1,021 ± 0,017
Опыт	60,17 ± 1,14	0,581 ± 0,003	0,967 ± 0,017*
90 сутки			
Контроль	144,17 ± 2,59	1,125 ± 0,003	0,782 ± 0,012
Опыт	145,50 ± 1,61	1,095 ± 0,003*	0,753 ± 0,007*

Примечание: * - показатели достоверны по сравнению с контролем, (p<0,001).

Результаты и обсуждение

В проведенных исследованиях установлено, что у 15-суточных опытных крысят показатели массы тела были более низкими, тогда как на 45-е и 90-е сутки после рождения они практически не отличались от таковых в контроле. Тем не менее, показатели массы почек и их соматические коэффициенты во все сроки исследования были достоверно ниже контрольных значений (табл. 1).

По мере роста животных морфометрическим методом установлено закономерное увеличение ширины коркового вещества почек как у

контрольных, так и у опытных крысят, однако в опыте во все сроки исследования имело место постоянное отставание этого показателя (рис. 1).

В связи с более быстрым развитием канальцевой системы, нежели клубочкового аппарата нефронов, что подтверждается данными морфометрии, численная плотность почечных телец корковых нефронов на единицу площади среза с возрастом снижалась как в контроле, так и в опыте. Однако у опытных животных во все сроки исследования этот показатель был более низким, чем в контроле (рис. 2). Последнее также можно объяснить и меньшим количеством почечных телец, возникающих еще

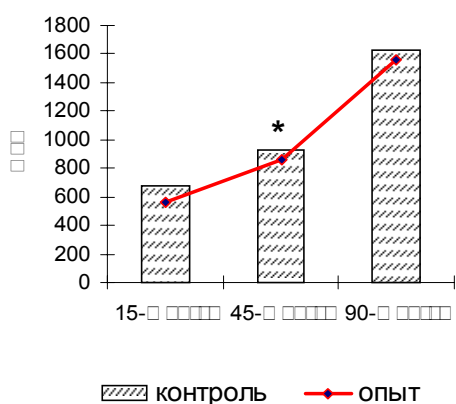


Рис. 1. Показатели ширины коркового вещества на поперечных срединных срезах почек контрольных и опытных крысят в различные сроки постнатального развития.

Примечание: * - показатели достоверны по сравнению с контролем, (p<0,05).

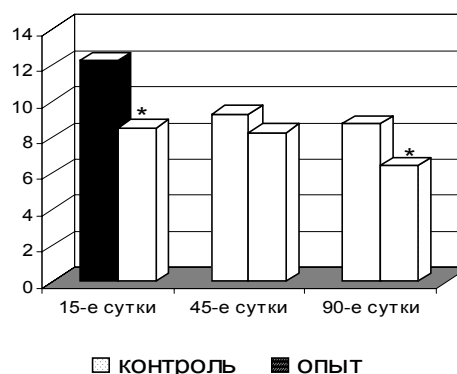


Рис. 2. Численная плотность почечных телец корковых нефронов на единицу площади среза у контрольных и опытных животных в различные сроки исследования.

Примечание: * - показатели достоверны по сравнению с контролем, (p<0,05).

при закладке органа у опытных животных. Так, у 15-суточных опытных крысят общее число почечных телец в поперечном срединном срезе почки составило $223,75 \pm 27,39$, тогда как в контроле - $266,20 \pm 16,04$. Притом необходимо отметить, что у опытных крысят на 15-е и 45-е сутки после рождения численная плотность почечных телец на единицу площади среза практически не менялась. Вероятно, это обусловлено задержкой развития канальцевой системы почек у опытных животных в эти сроки исследования.

Несмотря на то, что объемные показатели почечных телец корковых нефронов у опытных крысят существенно не отличались от таковых в контроле, процент деструктивно измененных их форм (недоразвитые сосудистые клубочки, фрагментированные, в виде плотных клеточных конгломератов и пр.) был достоверно выше в почках опытной группы животных. С возрастом количество таких почечных телец в корковом веществе почек опытных крысят заметно уменьшалось, однако контрольного уровня так и не достигало (рис. 3).

В контрольной и опытной группах по мере роста животных увеличивались и морфометрические параметры канальцевых отделов нефронов. Наиболее значительный рост этих параметров наблюдался в период с 15 по 45-е сутки и более наглядно в проксимальных отделах нефронов, нежели в дистальных. Однако во все сроки исследования у опытных крысят показа-

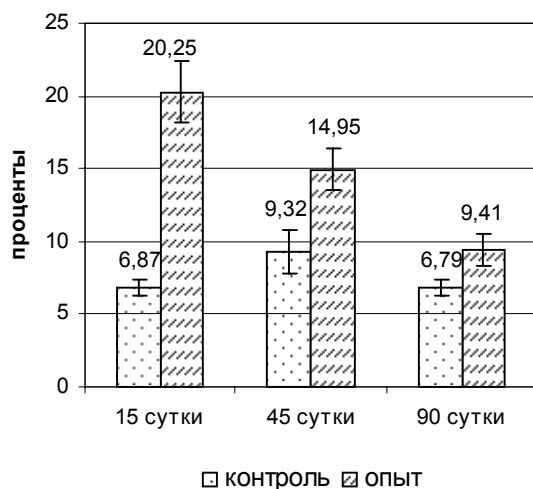


Рис.3. Процент деструктивно-измененных форм почечных телец в контрольной и опытной группах животных в различные сроки исследования.

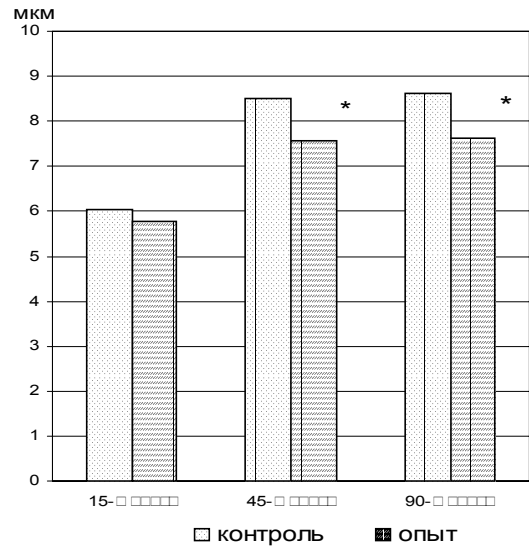


Рис.4. Динамика роста эпителиоцитов проксимальных отделов нефронов контрольной и опытной групп животных в различные сроки постнатального развития.

Примечание: * - показатели достоверны по сравнению с контролем, ($p < 0,05$)

тели высоты эпителиоцитов, выстилающих проксимальные отделы, как и объем их ядер, оставались более низкими, нежели в контроле (рис.4 и 5). Существенных же изменений этих показателей со стороны эпителиоцитов дистальных отделов у опытных животных по сравнению с контрольными не наблюдалось. При этом надо подчеркнуть, что у 15-суточных опытных животных, в отличие от контрольных, среди эпителиоцитов проксимальных отделов

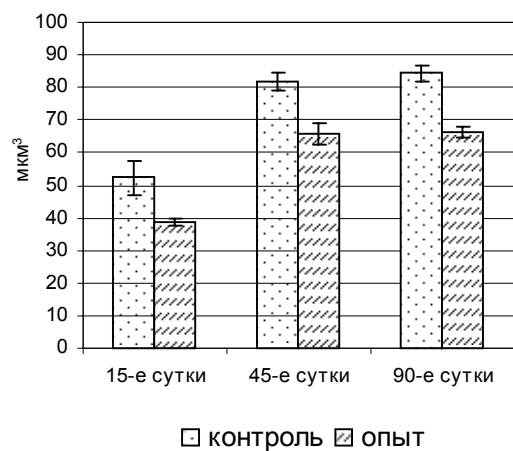


Рис.5. Показатели объемов ядер эпителиоцитов проксимальных отделов нефронов почек контрольной и опытной групп животных в различные возрастные периоды.

отмечался и более высокий митотический индекс ($0,88 \pm 0,14 \%$ при $0,42 \pm 0,12 \%$ в контроле). Последнее свидетельствует о том, что в канальцевой системе проксимальных отделов нефронов опытных животных в ранний постнатальный период более активно продолжают процессы пролиферации эпителиоцитов. На 45-е и 90-е сутки митотически делящиеся формы эпителиоцитов канальцев у опытных и контрольных животных уже не обнаруживались.

Просветы перитубулярных гемокapилляров в корковом веществе почек опытных животных были довольно широкими и составляли у 45-суточных животных $4,73 \pm 0,25$ мкм, а у 90-суточных $5,20 \pm 0,29$ мкм при $2,82 \pm 0,35$ мкм и $3,61 \pm 0,22$ мкм соответственно в контроле ($p < 0,05$). Зачастую при этом в межканальцевых пространствах наблюдались отежные явления с лимфоцитарной инфильтрацией. Существенных отличий в структуре канальцев петель нефронов почек опытных животных в сравнении с таковой в контроле не обнаружено.

Как в контроле, так и в опыте показатели активности ферментов в структурах нефронов (по данным цитофотометрии) с возрастом увеличивались. Однако активность СДГ у опытных животных на протяжении всего постнатального периода оставалась более низкой, нежели у контрольных крысят, особенно на 15-е и 90-е сутки после рождения (рис. 6). Изменения ферментативной активности наиболее четко проявлялись в эпителиоцитах проксимальных отделов нефронов.

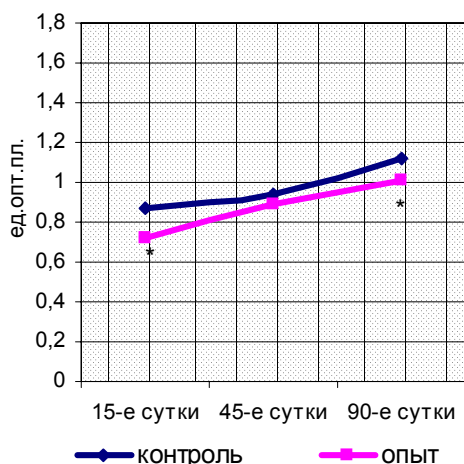


Рис.6. Возрастные изменения активности СДГ в эпителиоцитах проксимальных отделов нефронов почек контрольных и опытных животных.

Примечание: * - показатели достоверны по сравнению с контролем, ($p < 0,001$).

Активность же ЛДГ у 15-суточных опытных крысят в эпителиоцитах проксимальных отделов была также значительно ниже контрольных значений, к 45-м суткам она увеличилась и даже превышала контрольные показатели, а к 90-м суткам практически достигала контрольных значений (рис. 7).

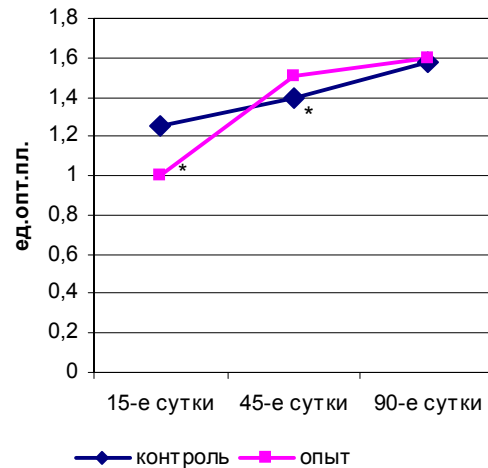


Рис. 7. Динамика возрастных изменений активности ЛДГ в эпителиоцитах проксимальных отделов почек контрольных и опытных животных.

Примечание: * - показатели достоверны по сравнению с контролем, ($p < 0,001$).

Активность Г-6-ф ДГ и НАДН-ДГ в эпителиоцитах канальцев проксимальных отделов нефронов опытных животных, по сравнению с контролем, оставалась более низкой во все сроки исследований (рис. 8 и 9). Исключение составляла активность НАДН-ДГ, которая на 90-е сутки после рождения практически выравнивалась с контрольными показателями.

На 15-е сутки постнатального развития у опытных крысят по сравнению с контрольными в вышеописанных эпителиоцитах отмечалось снижение активности КФ, на 45-е сутки этот показатель превышал контрольные значения, а у 90-суточных животных существенно не отличался от такового в контроле (рис. 10).

Активность ЩФ у опытных крысят во все сроки исследования была сниженной, особенно в области щеточной каемки эпителиоцитов проксимальных отделов нефронов. Притом необходимо отметить, что иногда активность фермента обнаруживалась в просветах этих канальцев, что, вероятно, обусловлено деструктивными изменениями микроворсинок каемки и их последующим отторжением.

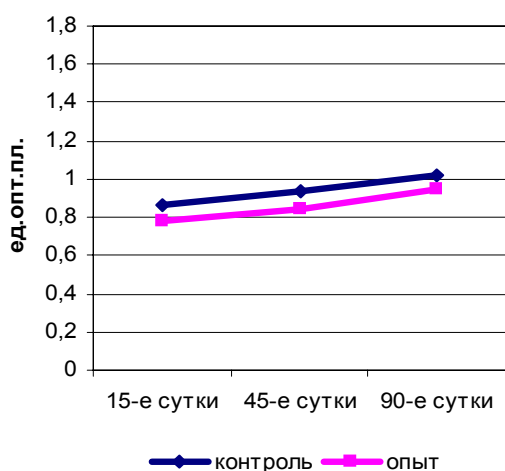


Рис. 8. Динамика возрастных изменений активности Г-6-ф ДГ в эпителиоцитах проксимальных отделов нефронов почек контрольных и опытных животных.

Примечание: * - показатели достоверны по сравнению с контролем, ($p < 0,001$).

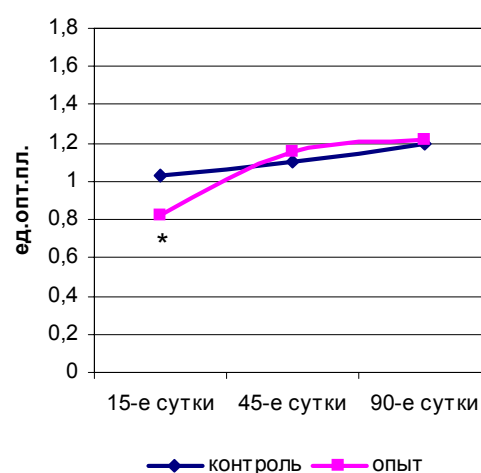


Рис. 10. Динамика возрастных изменений активности КФ в эпителиоцитах проксимальных отделов нефронов почек контрольных и опытных животных.

Примечание: * - показатели достоверны по сравнению с контролем, ($p < 0,001$).

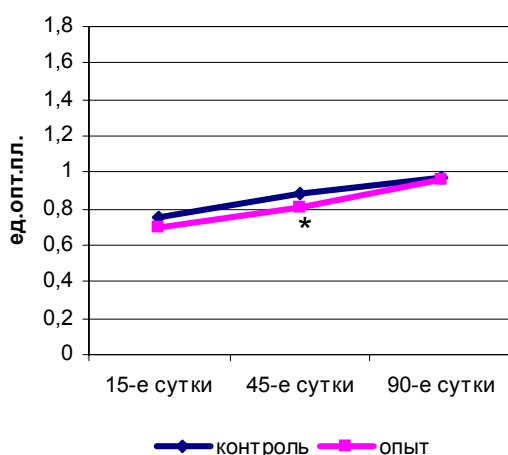


Рис. 9. Возрастные изменения активности НАДН-ДГ в эпителиоцитах проксимальных отделов нефронов почек контрольных и опытных животных. Примечание: * - показатели достоверны по сравнению с контролем, ($p < 0,001$).

Гликопротеины у животных контрольной группы во все сроки исследования определялись в небольшом количестве в базальных мембранах гемокапилляров сосудистых клубочков, канальцев, а также в щеточной каемке эпителиоцитов проксимальных отделов нефронов. В почках опытных животных содержание этих биополимеров во все возрастные периоды было заметно сниженным.

Содержание сиало- и сульфомуцинов, их локализация в структурных компонентах нефронов опытных животных в различные сроки исследования по сравнению с контролем существенно не менялись.

Выводы

Таким образом, анализом результатов проведенных исследований установлено, что радионуклиды, инкорпорированные в организм матери на протяжении беременности, вызывают у потомства довольно стабильную задержку развития почек, проявляющуюся нарушением структурной и цитохимической дифференцировки компонентов их нефронов не только в ранние сроки постнатального развития, но и в более поздние, вплоть до половой зрелости. Поскольку выявленные у опытных животных изменения структурно-цитохимических свойств нефронов являются довольно стабильными и даже в период половозрелости нивелируются лишь в незначительной степени, это, несомненно, отразится на функционировании почек в течение длительного времени в постнатальном периоде развития.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 285 с.
2. Бандажевский Ю.И. Структурно-функциональные эффекты инкорпорированных в организм радионуклидов. – Гомель, 1997. – 187 с.
3. Бандажевский Ю.И., Угольник Т.С., Вуевская И.В. Особенности антенатального и постнатального развития в условиях экспериментального эндогенного поступления радионуклидов // Мат. междунар. науч. конф., посвящ. 35-летию ГрГМИ. – Гродно, 1993. – Ч.1. – С.158-159.
4. Бандажевский Ю.И., Фомченко Н.Е. Патоморфология почек и печени у лабораторных животных при воздействии радионуклидов и энтеросорбентов // Чернобыль: Экология и здоровье. – Гомель, 1996. – №3. – С. 49-52.
5. Белоокая Т.В., Метлицкая Е.Л., Ткаченко Л.В. Динамика состояния здоровья детского населения Беларуси в современной экологической ситуации // Сб. «Экологическая антропология». Изд. Белорус. Комитета «Дзеці Чарнобыля». Минск.-1996.- С.9.
6. Игнатова М.С., Дегтярева Э.М. Современные представления об экпатологии почек // Здоровье детей Беларуси в современных экологических условиях. Минск, 1993.- С. 39-42.
7. Исследование закономерностей перехода ^{137}Cs через плаценту в плоды беременных крыс и влияние ферроцина на эти процессы / Ильин Л.А., Иванников А.Т., Попов Б.А. и др. // Радиационная биология. Радиоэкол.-1998.- 38, №4.-С. 616-623.
8. Лоскутова З.Ф. Виварий. – М.: Медицина, 1980. – 94 с.
9. Некоторые патогенетические механизмы течения воспалительных заболеваний почек у детей, проживающих в условиях экологического неблагополучия / Остапенко С.М., Остапенко В.А., Прокопович А.С. и др. // Сб. «Охрана материнства и детства в условиях воздействия последствий катастрофы на ЧАЭС», Минск.-1996.- Часть.2.- С.32-33.
10. Пирс Э. Теоретическая и прикладная гистохимия. – М.: Иностранная литература, 1962. – 962 с.
11. Титова О.И. Влияние физико-химических и физиологических факторов на резорбцию лантанидов из желудочно-кишечного тракта животных // Сб. науч. трудов под ред. д.м.н. Калистратовой В.С. / Метаболизм и биологическое действие радионуклидов при оральном поступлении в организм. – Москва, 1989. – С. 24.
12. Усов И. Н. Нефриты у детей. – Минск: Беларусь, 1987. – 220 с.
13. Усов И.Н. Распространенность и особенности течения заболеваний почек у детей, проживающих в районах, загрязненных радионуклидами // Здоровье детей Беларуси в современных экологических условиях. Минск.-1993.- С. 171.
14. Особенности проявления и течения гломерулонефрита у детей, проживающих в районах с повышенным радиационным фоном / Усов И.А., Сукало А.В., Яновицкая Г.Я. и др. // Экология и здоровье детей: Тез. докл. пленума Белорус. науч.-мед. общества детских врачей. Новополоцк, Минск.-1991.- С. 31-33.

Поступила 01.03.2005 г.

Принята в печать 29.03.2005 г.

Издательство Витебского государственного медицинского университета

Церковский А.Л. **Медицинская этика: курс лекций.** – Витебск: изд-во ВГМУ, 2004. – 260 с.

Пиманов С.И. **Избранные лекции по внутренним болезням в таблицах и схемах.** – Витебск: изд-во ВГМУ, 2004. – 527 с.