

# ИЗМЕНЕНИЯ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ НЕФРОНОВ ПОЧЕК, ИХ МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ ОСТРОЙ МАССИВНОЙ КРОВОПОТЕРЕ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРЬЯ У НЕАДАПТИРОВАННЫХ И АДАПТИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ

Айдарбекова.З.М.<sup>1</sup>, Махмудова Ж.А.<sup>2</sup>, Айдарбекова А.<sup>3</sup>, Калугина О.П.<sup>4</sup>  
Email: Aydarbekova674@scientifictext.ru

<sup>1</sup>Айдарбекова Зифаргуль Мусулманкулова - доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии;

<sup>2</sup>Махмудова Жылдыз Ахматовна – доктор биологических наук, заведующая кафедрой, кафедра биохимии с курсом общей и биоорганической химии, Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева;

<sup>3</sup>Айдарбекова Айжан - доктор медицинских наук, профессор, кафедра терапевтической стоматологии.

<sup>4</sup>Калугина Ольга Петровна – доцент, кафедра гистологии,

Кыргызско-Российский Славянский университет им. Б.Н.Ельцина, г. Бишкек, Кыргызская республика

**Аннотация:** адаптационная роль почек при таком экстремальном воздействии как острая массивная кровопотеря велика и привлекает огромное внимание. Острая массивная кровопотеря приводит к нарушению основных почечных функций, таких как гломерулярная фильтрация, канальцевая реабсорбция и секреция различных органических и неорганических веществ. Целью наших исследований явилось изучение ультраструктурных изменений нефронов почек при острой массивной кровопотере в условиях высокогорья у неадаптированных и адаптированных животных. У подопытных животных под наркозом воспроизводилась острая массивная кровопотеря однократным забором крови в объеме из расчета 2,5% от веса тела путем пункции сердца. По отношению ко всему объему циркулирующей крови кровопотеря составляла около 40%. Экспериментальные животные забивались через 1, 4, 24 и 72 часа после кровопотери (по 12-15 животных на срок). Для электронно-микроскопического исследования кусочки почечной ткани фиксировали забуференным 1% раствором четырехоксида осмия (pH=7,2). Заливка материала проводилась в аралдит. Резка на ультратоме LKB-4800. Просмотр ультратонких срезов осуществлялся в электронном микроскопе JEM-100B. Таким образом, изучение МА после ОМК в условиях долины не обнаруживает существенных изменений в пролиферативной активности клеток. Имея тенденцию, к снижению в первые два срока наблюдения данные имеют недостоверный характер, митотическая активность стабилизируется к 24 часам.

Морфологические данные измерения массы тела и их почек при ОМК на уровне высокогорья у неадаптированных животных (НАК) не претерпевают особых изменений.

Ультраструктура нефронов почек претерпевает целый ряд последовательных изменений, направленных на восстановление контрольного долинного состояния. Острая массивная кровопотеря вызывает моментальную мобилизацию секреторных ресурсов миоэпителиодных клеток, спазм, приводящее к дилатации афферентных артериол, спадению кровеносных капилляров почечного сосудистого клубочка, резкому снижению гломерулярной фильтрации, усилению реабсорбции в канальцах нефрона. Полученные данные свидетельствуют о существенном участии структурно-функциональных почечных реакций в адаптации к острой массивной кровопотере на уровне высокогорья.

**Ключевые слова:** высокогорье, острая массивная кровопотеря, почка, нефрон, адаптация, электронная микроскопия.

## CHANGES IN CARDIOSPECIFIC ENZYMES AND MORPHOLOGY OF CARDIOMYOCYTES OF ANIMALS WITH CATECHOLAMIN NECROSIS OF MYOCARDIUM AT SHORT-TERM ADAPTATION AND READAPTATION

Aydarbekova Z.M.<sup>1</sup>, Makhmudova Zh.A.<sup>2</sup>, Aydarbekova A.<sup>3</sup>, Kalugina O.P.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Aydarbekova Zifargul Musulmankulov - doctor of medical sciences, professor, head of the department, DEPARTMENT OF HISTOLOGY, CYTOLOGY AND EMBRYOLOGY;

<sup>2</sup>Makhmudova Zhyldyz Akhmatovna - Doctor of Biological Sciences, Head of the Department, DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY WITH A COURSE OF GENERAL AND BIOORGANIC CHEMISTRY, KYRGYZ STATE MEDICAL ACADEMY NAMED AFTER IK AKHUNBAEV;

<sup>3</sup>Aydarbekova Aizhan - Doctor of Medical Sciences, Professor, DEPARTMENT OF THERAPEUTIC DENTISTRY;

<sup>4</sup>Kalugina Olga Petrovna - Associate Professor,

**Abstract:** *this article is devoted to the study of the course of myocardial necrosis during readaptation to low altitude conditions after a short stay in the highlands, since recently there has been an increased migration of the population from the highlands to the flat terrain. Under these conditions, it is extremely important to study adaptation and clarify the reserve capabilities of the human body to new environmental conditions. Assessing the level of adaptive and readaptive capabilities of the body, one of the most important problems in diagnosing health as a whole can be solved. It was found that on the 3rd day of stay of animals in high altitude conditions (Tuya-Ashu settlement, 3200 m above sea level), the content of creatine phosphokinase - MB and troponin I in the blood serum exceeded the physiological norm compared with the control group, as a result of possible formation necrotic sites in some animals. The level of CPK - MB, AST and troponin I of animals with simulated catecholamine myocardial necrosis significantly increased due to increased damage to cardiomyocytes under the influence of exogenously injected adrenaline and hypoxia, which are confirmed by previously obtained data. The morphological characteristics of the myocardium on the 3rd day of stay of animals in the highlands showed the following changes - stromal edema, pronounced plethora of microvasculature, diapedesis was noted in the stroma - the erythrocytes go beyond the microvasculature, there was a separation of fibres, dystrophic changes and death of cardiomyocytes. It was noted that laboratory rats with experimental catecholamine myocardial necrosis, after a 3-day stay in high mountains, after moving them to low mountains (Bishkek, 720 m above sea level), compared with animals on a 3-day stay in the mountains with simulated catecholamine necrosis of the myocardium have a decrease in the number of cardiospecific enzymes of creatine phosphokinase-MB, troponin I and aspartate aminotransferase, but their content in the blood serum remained higher than the physiological norm. Histologically, dystrophy of the cardiomyocytes was noted and areas of necrotic cardiomyocytes remained.*

**Keywords:** *hypoxia, adrenaline, highlands, adaptation, readaptation, cardiospecific markers, cardiomyocytes, myocardium.*

УДК612.46:612.695

### **Введение**

При горной гипоксии почки являются одним из главных регуляторов кислотно-щелочного равновесия в организме (9,10,11). Адаптационная роль почек при таком экстремальном воздействии как острая массивная кровопотеря велика и привлекает огромное внимание (1,2,3,13). Острая массивная кровопотеря приводит к нарушению основных почечных функций; таких как гломерулярная фильтрация, канальцевая реабсорбция и секреция различных органических и не органических веществ (5,6,7,12). Высшей формой проявления патологии почек, связанной с кровотечением, является острая почечная недостаточность (7,8,12,13).

Если в условиях долины встречаются работы по изучению влияния острой массивной кровопотере на структуру и функцию почек (5,8,12,13), то в условиях высокогорья такие данные единичны.

Целью наших исследований явилось изучение ультраструктурных изменений нефронов почек при острой массивной кровопотере в условиях высокогорья у неадаптированных и адаптированных животных.

### **Материал и методы.**

Опыты проведены на 215 белых крысах-самцах, весом 120-130 гр. в условиях долины-барометрическое давление (Рв)-705мм.рт.ст. Высокогорные серии опытов были выполнены на высокогорной базе института высокогорья (ИФиЭПВ НАН КР), расположенный на перевале Туя-Ашу, на высоте 3200м над уровнем моря и Рв-515мм.рт.ст

У подопытных животных под наркозом воспроизводилась острая массивная кровопотеря однократным забором крови в объеме из расчета 2,5% от веса тела путем пункции сердца. По отношению ко всему объему циркулирующей крови кровопотеря составляла около 40%. Экспериментальные животные забивались через 1, 4, 24 и 72 часа после кровопотери (по 12-15 животных на срок).

На всем протяжении экспериментов контролировался вес животных. Почки после взвешивания фиксировались в жидкости ФСУ. Морфологические исследования проводились на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилин-эозином, ШИК-реакцией. Число митозов определялось на каждом 4-5-м срезе, окрашенном гематоксином-эозином. Подсчет митозов производился при помощи иммерсионного объектива 90x на микроскопе МБИ-6.

В каждом сроке исследования просматривались 10000-12000 клеток и полученные данные выражались в промилле - %. Полученные при морфометрии цифровые данные обрабатывались методом вариационной статистики по Фишеру-Стьюденту (1973).

Достоверными считались различия, удовлетворяющие ( $p < 0,05$ ).

Для электронно-микроскопического исследования кусочки почечной ткани фиксировали забуференным 1% раствором четырехоксида осмия (рН=7,2). Заливка материала проводилась в аралдит. Резка на ультратоме LKB-4800. Просмотр ультратонких срезов осуществлялся в электронном микроскопе JEM-100В.

#### Результаты и их обсуждение

Морфометрические данные измерения массы тела их почек при острой массивной кровопотере (ОМК) на уровне долины не претерпевают особых изменений.

Подсчет митотической активности (МА) у интактного контроля в проксимальном отделе нефрона (ПОН) составлял  $0,42 \pm 0,18\%$ . Через 1 час после ОМК в условиях долины МА оставалось на уровне контроля. Через 4 часа после ОМК митотическая активность (МА) в клетках ПОН уменьшилась и составила  $0,40 \pm 0,19\%$  (статистически не достоверно). В последующие сроки исследования МА клеток не имеет достоверных различий от данных контрольного уровня. Через 24 часа после ОМК МА было  $0,43 \pm 0,017\%$ , через 72 часа после опыта  $0,40 \pm 0,014\%$ .

Таким образом, изучение МА после ОМК в условиях долины не обнаруживает существенных изменений в пролиферативной активности клеток. Имея тенденцию, к снижению в первые два срока наблюдения данные имеют недостоверный характер, митотическая активность стабилизируется к 24 часам.

Морфологические данные измерения массы тела и их почек при ОМК на уровне высокогорья у неадаптированных животных (НАК) не претерпевают особых изменений.

Через 1 час после ОМК МА клеток проксимального отдела нефрона-ПОН составляла  $0,39 \pm 0,016\%$ , через 4 часа МА была  $0,37 \pm 0,014\%$ , через 24 часа МА составляла  $0,34 \pm 0,019$  ( $P < 0,05$ ), через 72 часа МА была  $0,30 \pm 0,015\%$  ( $P < 0,05$ ), контроль равен  $0,41 \pm 0,01\%$ . Из полученных данных становится очевидным, что при ОМК в условиях высокогорья у (НАК) МА снижается в пределах достоверного результата. Здесь, возможно, происходит одновременное влияние «горного» фактора.

Электронно-микроскопическое исследование почек при острой массивной кровопотере на уровне высокогорья характеризуется следующими изменениями в юстагломерулярном комплексе. Миоэпителиоидные клетки (МЭК) не содержат секреторных гранул это видно на электроннограмме (рис.1).



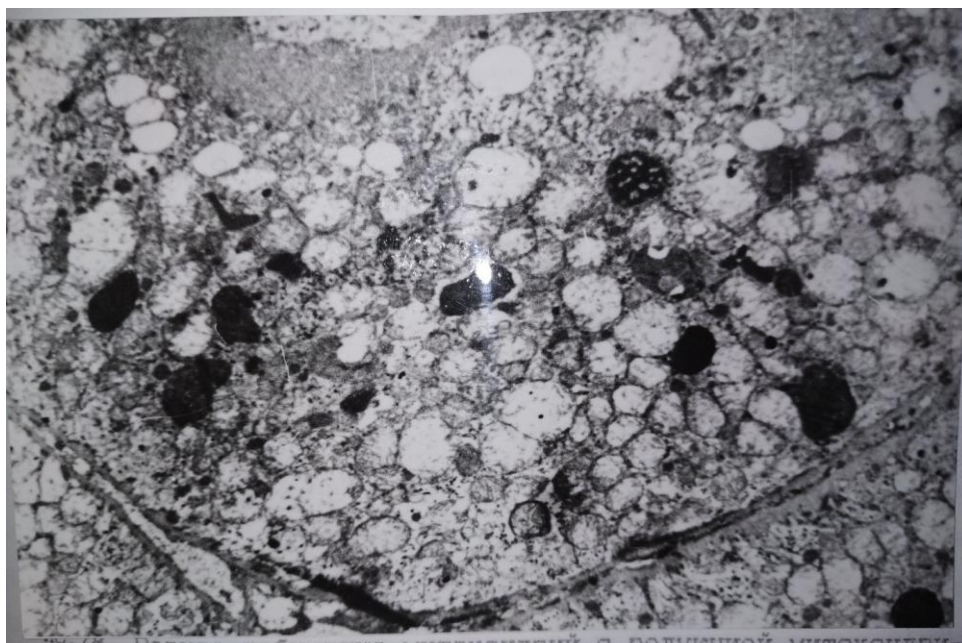
Рис.1. Дегрануляция в миоэпителиоидных клетках юстагломерулярного комплекса через 1 час после острой массивной кровопотере, проведенной в условиях высокогорья на неадаптированных животных. Ув. 14000х

Цитоплазма (ЦИ) значительно просветляется, ядро имеет крупные размеры, округлую форму. Профили гранулярно-эндоплазматического ретикулула (ГЭР) резко расширены, содержимое их имеет незначительную электронную плотность. Количество рибосомальных частиц в мембранах ретикулума уменьшено. В цитоплазме миоэпителиоидных клеток выявляются многочисленные, свободно расположенные пузырьки, частью прилепленные к латеральным плазматическим мембранам (ПЛМ). Митохондрии (МХ) увеличены, содержат немногочисленные короткие кристы на фоне светлого матрикса. Пластинчатый комплекс (ПЛК) не удается обнаружить. Базальная мембрана (БМ), окружающая миоэпителиоидные клетки неравномерно утолщена. Клетки плотные пятна (КПП) просветляются, содержат округлое ядро, чаще с одним ядрышком, немногочисленные органоиды и базальные интердигитирующие отростки, тесно соприкасаются с клетками Гурмагига (КГ).

Ультраструктура КГ характеризуется уплотнением матрикса ЦИ, увеличением содержания рибосом и полисом, расширением профилей гранулярного эндоплазматического ретикула (ГРЭ), возрастающим объемом структур, МХ выявляют просветленный матрикс и укороченные кристы. КГ содержат гранулы по структуре аналогичные юктагломерулярным. Мезангиальная зона расширяется, клетки содержат многочисленные комплексы рибосом и полисом, увеличенный объем ГЭР. Резко просветляются и частью вакуолизируются митохондрии. Отростки мезангиальных клеток расширены и значительно выступают в просвет кровеносных капилляров. Аfferентная артериола обладает суженным просветом, а эfferентная артериола расширенным.

Через 1-4 часа после ОМК почечный сосудистый клубочек (ПСК) занимает меньший, сравнительно с контролем, объем. На фоне уменьшения размеров ПСК, обнаруживается и относительно узкое пространство между висцеральным и париетальным листками. Гломерулярные кровеносные капилляры (КК) уменьшаются в объеме, причем отдельные капиллярные сегменты спадают так интенсивно, что их противоположные стенки тесно соприкасаются. Гломерулярная мембрана рзырлена, утолщена. Эндотелий, выстилающий гломерулярные КК уплощены и содержат многочисленные расширенные поры. Клетки висцерального листка капсулы (КВЛК) Шумлянского-Боумена имеют относительно плотную цитоплазму (ЦИ), содержат уплотненные клеточные отростки, при этом недиккулы, по сравнению с контролем, укорачиваются и расширяются. Апикальная их поверхность на большую глубину погружена в светлый слой гломерулярной мембраны.

Ультраструктура клеток канальцев проксимального отдела нефрона (ПОН) спустя 1-4 часа ОМК на уровне высокогорья характеризуется неоднотипностью, это представлено на электроннограмме (рис.2).



*Рис. 2. Резкое набухание митохондрий с редукцией митохондриальных крист в клетках проксимального отдела нефрона через 1 час после острой массивной кровопотере, проведенной в условиях высокогорья на неадаптированных животных. Ув. 10000х*

Большая часть клеток содержит интенсивно развитую щеточную каемку (ЩК), у основания которой выявляются пиноцитозные структуры (ПСП) различной электронной плотности. Набухшие митохондрии этих клеток имеют небольшие размеры, они имеют преимущественно округлую форму. В них гранулярный матрикс имеет многочисленные, плотно упакованные кристы. Большая часть ЦИ заполнена лизосомами и большими вакуолями. Лизосомы различной формы от округлой до неправильно-полигональной электронно-плотной формы, тесно контактирующие с окружающими МХ и светлыми вакуолями. РИ и ПО свободно располагаются в ЦИ. Количество их, сравнительно с контролем в долине, представляются несколько большими. ГЭР содержит профили несколько большего объема. Зона ПлК несколько уменьшена. ПлК характеризуется обычными структурными компонентами. Базальные клеточные отростки (БКО) и латеральные клеточные отростки (ЛКО) клеток канальца ПОН незначительно отличаются от долинного контроля. Клетки канальцев ПОН содержат резко просветленные МХ различных размеров, обнаруживается редукция митохондриальных крист. В апикальной части клеток у основания интенсивно развитой ЩК, выявляются пиноцитозные структуры (ПСП) различных размеров и электронной плотности. Здесь же можно выявить большие гладкостенные светлые вакуоли. Лизосомы (Л) немногочисленны и имеют различную форму, умеренной плотности.

(БМ) канальцев (ПОН) через 1 и 4 часа после ОМК в условиях высокогорья расширяется незначительно, утолщена.

В МЭК ЮГК уже на 4 час от начала опыта обнаруживаются единичные восстановленные структуры МХ, увеличение численности полостей ГЭР и появление в отдельных клетках единичных СТ. Количество СТ постепенно также увеличиваются к 24 часам после ОМК. Обнаруживаются клетки, содержащие как в контроле увеличенное количество СТ.

Через 72 часа от начала опыта МЭК обладают ультраструктурой, приближенной к контрольным показателям. В течение всего этого периода времени наблюдалось восстановление численности КГ и МЭЭ. Наблюдалось просветление их ЦИ и постепенное исчезновение СТ. Если через 4 часа После ОМК основная масса КГ гранул не содержит, то в МЭЭ единичные СТ выявляются даже к 3 суткам после ОМК. В течение всех последующих сроков исследования от начала опыта в почках экспериментальных животных на уровне высокогорья осуществляются постепенное восстановление просвета ГА.

В канальцах дистального отдела нефрона (ДОН) преобладают клетки с уплотненной ЦИ. Апикальная их поверхность содержит многочисленные, различной величины выросты ЦИ. Базальная - переплетает плазматические отростки с плотно упакованными в них МХ. МХ имеют различные размеры. Основное количество этих МХ имеет базально-апикальную ориентацию. Органоиды характеризуются уплотненным матриксом.

В некоторых МХ увеличено количество крист. Ядра клеток смещены в апикальном направлении. Контуры ядерной мембраны имеют отдельные выпячивания, а кариоплазма - различной величины глыбки хроматина. БМ ДОН расширена.

В собирательных трубочках (СТ) преобладают вставочные клетки (ВК). Они содержат различной величины гладкостенные везикулы, большое количество РИ и ПО, и мелкие перинуклеарно расположенные МХ. МХ содержат плотный мелко гранулярный матрикс, в них много крист. Апикальная поверхность ВК имеет отдельные выросты МКВ. Базальная – представлена короткими цитоплазматическими отростками. Ядра клеток обычной формы, округлые, контуры ядерной мембраны, в основном гладкие. БМ СТ несколько утолщена.

Исследование ультраструктуры почек во все последующие сроки исследования 24 и 72 часа после ОМК у крыс в условиях высокогорья свидетельствовали о постепенном некотором восстановлении структурно-функционального состояния нефрона и СТ. В эти сроки на фоне восстановления структурных изменений, наблюдаемые после ОМК постепенно вырисовывается картина влияния, так называемого свободного «горного» фактора.

В течение 24 и 72 часов после ОМК в почках крыс осуществлялось постепенное восстановление просвета ГА. При этом ПСК увеличивается в размерах и также появлялись клубочки с открытым просветом капсулы Шумлянского-Боумана. Этот процесс осуществлялся в течение 1 суток после ОМК, что дает возможность считать восстановление клубочковых структурных компонентов, предшествующих восстановлению канальцев. Во все сроки исследования после ОМК у крыс в канальцах ПОН имеет место последовательное восстановление ультраструктур, выражающееся в снижении количества инвагинаций и пузырьков, восстановлении их плотности и ориентации митохондрий. Наблюдалось постепенное уменьшение электронно-плотных Л. Эти изменения в канальцах ПОН осуществляются немедленно и лишь к 72 часам от начала опыта можно говорить о неполном соответствии структуры ПОН опытных животных контрольным на уровне долины, подвергнутых ОМК.

В дистальном отделе нефрона (ДОН) на протяжении суток после начала опыта сохраняются уплотнение МХ и увеличение в них числа крист. Лишь в последующем, к концу опыта клетки ДОН приближаются по строению к клеткам контрольных животных.

В СТ на протяжении 24 и 72 часов после ОМК наблюдалось преобладание ВК. При этом ВК содержат многочисленные МХ, равномерно распределённые по всей ЦИ и гладкостенные везикулы, чаще всего концентрирующие у апикальной клеточной ПЛМ. Количество ВК постепенно уменьшается, но даже в конце опыта их число остается увеличенным, относительно контрольных животных, а структура их нормализуется.

### **Заключение**

Суммируя данные, полученные при исследовании почек после ОМК у НАК на уровне высокогорья, можно прийти к заключению, что почечные структуры претерпевают целый ряд последовательных изменений, направленных на восстановление контрольного долинного состояния. ОМК вызывает моментальную мобилизацию секреторных ресурсов МЭК, спазмоприводящее к дилатации АА, спадению КК ПСК, резкому снижению гломерулярной фильтрации, усилению реабсорции в канальцах нефрона.

Последующее восстановление гранулярности в МЭК в просвете ГА и КК ПСК, сопровождается нормализацией функциональных показателей. Полученные данные свидетельствуют о существенном участии структурно-функциональных почечных реакций в адаптации к ОМК у НАК на уровне высокогорья, у адаптированных к высокогорью животных эти данные менее выражены.

### *Список литературы / References*

1. *Айдарбекова З.М* Ультраструктура почек и ее морфометрические показатели при экстремальной ситуации в условиях гор// Вестник КГМА им.И.К.Ахунбаева г.Бишкек -2010- №1 С.57-61.
2. *Айдарбекова З.М.* Электронная микроскопия почек при острой массивной кровопотере у неадаптированных животных в условиях высокогорья // Центрально-азиатский медицинский и журнал.-2005-№3., С.250-255.
3. *Акбаров А.А.* Структурно-функциональные особенности интактных и оставшейся после односторонней нефрэктомии почек в некоторых экспериментальных состояниях.Автореф.дисс...канд.мед.наук. Ташкент, 1997. 18 с.
4. *Белкин В.Ш.* Морфологические аспекты адаптации к высокогорной гипоксии. Душанбе. Дониш,1990.С.235-257.
5. *Гайнуллин М.Г.* Структурно-функциональная характеристика почек при адаптации к кровопотере, голоданию и односторонней нефротомии. Автореф. дисс... канд. биол. наук. Танкент,1989. 24 с.
6. *Зуфаров К., Айдарбекова З.М, Сагдулаев З.З.* Ультраструктура почки при острой массивной кровопотере на уровне среднегорья // Авиакосм и экологическая. медицина – Москва, 1997. с 48.
7. *Козинер В.Б.* Острая кровопотеря // Паталогическая физиология экстремальных состояний.-М.,1973.- С.160-180.
8. *Петров И.Р., Васадзе Г.Ш.* Необратимые изменения при шоке и кровопотере- Л.:Медицина,Ленинградское отд-ние,1996. 199 с.
9. *Рахимов Я.А., Этинген Л.Е., Белкин В.Ш.* Морфология внутренних органов в условиях высокогорья.- Душанбе: Дониш,1968.-221 с.
10. *Рахимов Я.А.-//*Морфолог. Характеристика органов при высокогорной гипоксии // Актуальные вопросы высокогорной физиологии и медицины.- Фрунзе,1971.С.64-66.
11. *Сиротонин Н.Н.*О лечебном и профилактическом действии горного климата // Тр.конф.по высокогорью и холодовой травме. Фрунзе. Изд. АН. Кирг. ССР,1962.С.3,4.
12. *Федоров В.И.* Экспериментальное изучение функции почек с сохраненной и нарушенной иннервацией при острой массивной кровопотере// Физиолог. журнал. 1986. Т. 32. №2.С.193-198.
13. *Чикина И.А.* Изменение функции почек при острой массивной кровопотере// Патол, физиол. и экспериментальная терапия.-1976.-Вып.4.-С.71-73.