

Резюме

МЕТАЛОТІОНЕЇН: БІОЛОГІЧНІ ФУНКЦІЇ.
РОЛЬ МЕТАЛОТІОНЕЇНУ В ТРАНСПОРТІ
МЕТАЛІВ В ОРГАНІЗМІ

Пихтєєва О.Г.

На підставі аналізу літератури і власних досліджень показано, що за рахунок своєї будови (первинної і вторинної структури білка) металотіонеїн (МТн) має здатність ефективно зв'язувати дво-валентні іони важких металів. Важкі метали виступають індукторами синтезу МТн. Комплекси металл-МТн руйнуються в лізосомах. Зв'язування ТМ з МТн в міцні комплекси відбувається в основному в гепатоцитах. Це зв'язування допомагає понизити гепатотоксичну дію ТМ. Комплекс металл-МТн при деградації в лізосомах клітин нефроепітелію здатний викликати їх апоптоз. Для отримання нефротоксичного ефекту достатньо введення нижчої концентрації комплексу кадмій-МТн (у перерахунку на метал), ніж неорганічної солі кадмію.

Summary

METALLOTHIONEIN: BIOLOGICAL
FUNCTIONS. ROLE OF
METALLOTHIONEIN IN THE TRANSPORT
OF METALS IN AN ORGANISM

Pykhtyeyeva E.G.

It is rotined on the basis of analysis of literature and own researches, that due to the structure of MTn is able effectively to link the bivalent ions of heavy metals. Heavy metals are inducing of synthesis of MTn. The complexes of Me-MTn degrade in lysosomes. The durable fastening TM with MTn a place mainly in hepatic cells. This fastening helps to reduce a hepatotoxic action of TM. Degradation of complex Me—MTn in lysosomes of nephrocyte bring to their apoptosis. For the receipt of nephrotoxic effect there is enough introduction of less concentration of complex of Cd-MTn (in a count on a metal), what to inorganic salt of cadmium.

*Впервые поступила в редакцию 22.11.2009 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*

УДК: 612.465:546.815+612-086

**УЛЬТРАСТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЕПІТЕЛІУ
ПРОКСИМАЛЬНИХ КАНАЛЬЦІВ НИРОК ЩУРІВ ПРИ
СВИНЦЕВІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ**

Луговський С.П.

НДІ Промислової медицини МОЗ України, м. Кривий Ріг

Ключові слова: свинець, нефротоксичність, морфометрія, морфологія

Вступ

За даними ВООЗ [33] свинець (Pb) є одним з пріоритетних, глобальних забруднювачів навколишнього середовища. Це зумовлено тим, що, по-перше, метал за своїми фізико-хімічними характеристиками має достатньо широку сферу застосування, і його використання у господарстві зумовлює значні обсяги виробництва і торгівлі; по-друге, технологія виробництва і основні сфери застосування

Pb зумовлюють закономірність надходження його у довкілля; по-третє, Pb і його сполуки відрізняються стабільністю щодо фізичних, хімічних і біологічних чинників навколишнього середовища, поширюються на значні відстані потоками повітря і течією річок, відносно легко мігрують з ґрунту у воду, повітря і продукти харчування; по-четверте, Pb поєднує в собі властивості речовини з високим ступенем токсичності й вираженої кумулятив-

ності; по-п'яте, метал і його сполуки складають реальну небезпеку проникнення в організм людини й тварин різними шляхами з подальшим розвитком різноманітних токсичних ефектів, в тому числі віддалених і особливо незворотніх, пов'язаних з пошкодженням генетичного апарату клітин [23, 24, 33, 37].

Серед широкого різноманіття ефектів, які викликає Pb при впливі на організм особливої уваги в останні роки набула його нефротоксична дія. Це пов'язано з особливостями структурнофункціональної будови нирок і провідної ролі органу в процесах метаболізму різних сполук металу. Так, висока інтенсивність кровообігу в нирках за рахунок наявності в органі «чудової сітки» (*rete mirabile*), яка у всіх відношеннях є унікальною, бо не має аналогів в інших органах сприяє швидкому ушкодженню каналцевого апарату коркового шару, при тому, що ниркові клубочки зберігають свою життєздатність досить тривалий час. Велика довжина тубулярного апарату нирок сприяє тривалому контакту каналцевого епітелію, ендотелію і елементів інтерстиціальної тканини з Pb і його метаболітами. Пряма частина проксимального каналця, тонкий сегмент нефрону і пряма частина дистального каналця, які утворюють петлю Генле є важливими елементами осмоконтруючої системи органу, яка приймає участь в регуляції об'єму позаклітинної рідини і артеріального тиску. При цьому каналці відповідають за реабсорбцію і секрецію іонів, реабсорбцію, секрецію і метаболізм органічних речовин, регуляцію ниркою кислотно-лужного стану організму та мають пряме відношення до регуляції обміну вітаміну D і функціонування калікреїн-кінінової системи. Обмежена здатність каналцевого епітелію до регенерації і велика довжина нефрону складають умови для не повного відновлення усіх ушкоджених, у разів дії Pb, ділянок епітеліального шару ниркових каналців [4, 7, 14].

В сучасній науковій літературі існу-

ють дані, що переконливо свідчать про розвиток токсичної нефропатії у відповідь на вплив Pb, яка морфологічно характеризується, як токсичний тубулоінтерстиціальний нефрит [4, 9, 34]. В класифікації тубулоінтерстиціальних захворювань, розроблених центром, що співпрацює з ВООЗ по гістологічній класифікації хвороб нирок окремо виділено розділ «Тубулярні і тубулоінтерстиціальні пошкодження, пов'язані з важкими металами» [35]. При цьому нефротоксичні ушкодження нирок при впливі Pb у класифікації винесено до її наступного розділу, присвяченому гострим тубулярним пошкодженням. Підставою для цього був некронефроз, що розвивається у відповідь на гострий вплив сполук Pb. Один з провідних патологів Росії Ю.Л. Перов [15], висловлюючи свої критичні зауваження щодо окремих положень цієї класифікації з позицій сьогодення зауважував, що Pb як промислова отрута зустрічається надто рідко, а питання щодо виділення самостійного розділу, присвяченого тубулярним і тубулоінтерстиціальним ураженням, пов'язаним з впливом важких металів, є дискусійним.

Дані сучасної літератури та результати власних гігієнічних досліджень, проведених в останні роки на свинцевих виробництвах в Україні, переконливо засвідчують, що сучасний стан умов праці робітників характеризується впливом на організм Pb, концентрації якого в повітрі робочої зони знаходяться в межах ГДК_{п.р.з.}, або в окремих випадках перевищують нормативні значення в 1,2–2,8 рази [11, 12]. Антропогенне забруднення Pb об'єктів навколишнього середовища [1, 23, 24,], яке часто супроводжується носійством металу в організмі окремих популяцій [19] зумовлює актуальність проблеми впливу Pb на організм, як хімічного фактору малої інтенсивності. Цей аспект проблеми у своєму широкому розумінні має високу актуальність для сьогодення і широко обговорюється в наукових публікаціях [20, 22]. Трахтенберг І.М. та ін. [20], стосовно техногенних

впливів, які мають місце в реальних умовах вважають, що поняття «низькі концентрації» включає концентрації, які наближені до гранично допустимих. Якщо ж мова йде про низькі концентрації в умовах експериментального моделювання на тваринах, то мають на увазі концентрації на рівні порогових або наближених до них. При цьому в обох випадках припускають такі рівні впливу хімічних речовин, при яких, як правило, відсутні зовнішні ознаки (симптоми) токсичного ефекту.

Функціональні і біохімічні аспекти нефротоксичної дії Pb знайшли своє відображення у ряді наукових публікацій [25, 26]. Однак структурним змінам в нирках, особливо на клітинному і субклітинному рівнях приділяється не виправдано мала увага. У вітчизняній і зарубіжній літературі існують окремі публікації, присвячені аналізу поодиноких випадків Pb-нефропатії у робітників свинцевих виробництв [9, 34], а також токсичних ефектів в гострому експерименті [28]. Це не дозволяє в мовній мірі гігієністам і токсикологам впровадити у практику токсикологічних досліджень методів морфологічного аналізу з використанням стандартизованих критеріїв оцінки при розробці гігієнічних нормативів.

На підставі того, що в патогенезі Pb-нефропатії провідною ланкою є пошкодження проксимальних канальців [7, 25, 26] метою даної роботи було дослідження ультраструктури епітелію проксимальних канальців нирок щурів при субхронічному і хронічному впливі на організм неорганічних сполук Pb в дозах на рівні дії хімічного фактору малої інтенсивності.

Об'єкти і методи дослідження

Об'єктом дослідження були 28 статевозрілих білих аутбредних щурів, самців, 2-ї категорії якості, з середньою масою $210,5 \pm 4,6$ г, які утримувались в стандартних умовах віварію на стандартному харчовому режимі з вільним доступом до водогінної води, що відстоювалась не менше 24 год. Всі роботи були проведені згідно діючих правил і вимог,

що передбачають гуманне ставлення до хребетних тварин [10, 31]. В роботі використано 2-ї серії експериментів. В I-й серії щурам ($n=10$) щодня (5 днів на тиждень), впродовж 3-х місяців, через зонд в шлунок вводили водний розчин $PbCl_2$ в дозі 0,27 мг/кг, яка дорівнює порогу хронічної дії [13]. В II-й серії щурам ($n=8$) так само, впродовж 1-го місяця вводили водний розчин $Pb(CH_3COO)_2$ в дозі 28,5 мг/кг ($1/50 LD_{50}$). Контрольні щури ($n=10$) отримували в шлунок 1,0 мл фізіологічного розчину. З експерименту тварин виводили шляхом декапітації після наркотизації гексеналом (40 мг/кг). Для електронно-мікроскопічних досліджень з коркового шару нирок щурів вирізали шматочки 1×1 мм, які фіксували у суміші 2,5% розчину глютарового альдегіду і 4% параформу на 0,01 М какаділатному буфері (рН 7,2-7,4) та дофіксували у 1% розчині OsO_4 . Після зневоднення в серії етанолів і абсолютному ацетоні зразки заключали в епон-аралдит. З блоків готували напівтонкі зрізи, фарбували їх 1% розчином метиленового синього і за допомогою світлової мікроскопії виявляли проксимальні канальці, після чого проводили прицільну ультрамікротомію блоків. Всі зрізи готували на ультрамікротомі LKB – III (Швеція). Досліджували ультратонкі зрізи після їх контрастування за методом Рейнолдса [5] в електронному мікроскопі ЭМ-125К (SELMI, Україна). В кожному з досліджених зразків нирок відбирали не менше 3-х фрагментів проксимальних канальців, а в них, не менше ніж 3-и епітеліоцита. Виявлені ультраструктурні зміни заносили до протоколу, після чого проводили їх оцінку за показником частоти (ϕ), розрахованого методом кутового перетворення Фішера [6]. Усього до протоколу увійшло даних, що були отримані при дослідженні у контрольних щурів 23-х канальцевих епітеліоцитів, у щурів 1-ї групи – 21-го епітеліоцита, а у щурів 2-ї групи – 27, відповідно. Оцінку достовірності змін проводили шляхом співставлення емпіричних значень ϕ з критичним $\phi_{крит}$.

Результати та їх обговорення

Результати проведених електронно-мікроскопічних досліджень показали, що у всіх піддослідних щурів на відміну від контролю в епітеліоцитах проксимальних каналців нирок виявлялась атрофія щіткової облямівки у вигляді редукції мікроворсинок апікальної поверхні. При цьому у піддослідних щурів 2-ї групи у порівнянні з 1-ю були виявлені пошкодження мембран мікроворсинок у вигляді їх вогнищового набряку і розшарування (рис. а). Завдяки цьому в апікальній мембрані утворювались «вільні проходи», через які Pb здатний проникати в цитоплазму. Разом з цим, на апікальній поверхні епітеліоцитів виявляли надмірне утворення різнокаліберних пухирців і фрагментів цитоплазми, обмежених мембраною, які вистояли у просвіт каналців (рис. б), а в цитоплазмі – надмірне утворення піноцитозних везикул та вакуолей. В порожнинах останніх часто виявляли рідину і помірну кількість дрібно-гранулярного, електронно-щільного матеріалу, сконцентрованого біля обмежувачої мембрани (рис. в). У щурів 2-ї групи на відміну від 1-ї і контролю часто виявляли редукцію цитоплазматичних відростків, утворених численними інтердигітаціями бокової поверхні плазматичної мембрани та розширення міжклітинних просторів, які були заповнені рідиною. Слід відмітити, що такі зміни розвивались при повному збереженні структури міжклітинних з'єднувальних комплексів, представлених в апікальній зоні бокової плазмалеми *zonula occludens*, *zonula adhaerens* і десмосомами [2].

Дані морфометричних досліджень (табл.) засвідчили, що зміни в плазматичній мембрані епітелію проксимальних каналців нирок щурів, які виникали у відповідь на вплив Pb, характеризувались залежністю «ефект-доза-час». Так, при майже повній відсутності в проксимальних каналцях контрольних щурів клітин з будь-якими змінами структури плазматичної мембрани, у щурів 1-ї групи кількість клітин з ознаками редукції мікро-

ворсинок щіткової облямівки і вогнищової деструкції їх мембран становила 24%. У щурів 2-ї групи кількість таких клітин дорівнювала 63%, що достовірно, у 1,8 рази було вище ніж у щурів 1-ї групи ($p < 0,001$; табл.).

Функціональне значення виявлених змін у відповідь на вплив Pb полягає в тому, що вони: по-перше, характеризують первинний афект клітин, зумовлений взаємодією Pb з апікальною мембраною; по-друге, визначають шляхи транспорту Pb в цитоплазму клітин (ендоцитоз і дефекти структури апікальної мембрани), а також елімінації металу з клітин (екзоцитоз і мікроклазматоз); по-третє, свідчать про порушення обміну речовин і циркуляції рідини в клітинах, що сприяє розвитку набряку клітин, а по-четверте, визначають розвиток клітинної патології, яка характеризується дефіцитом поверхні цитоплазматичної мембрани («мінус мембрана») в наслідок надмірних витрат її матеріалу для утворення пухирців на поверхні клітин і цитоплазматичних везикул [2, 14, 27].

При дії Pb в ядрах каналцевих епітеліоцитів спостерігали гіпертрофією, помірний набряк, гіпертрофію ядерця, розширення ядерних пор, виражену звивистість контуру ядерної мембрани та утворення внутрішньоядерних включень. За рахунок вираженої звивистості ядерної мембрани в клітинах збільшувалась площа контакту між ядром і цитоплазмою, що сприяло інтенсивному обміну між ними [2, 17]. Більшість виявлених змін в ядрах епітеліоцитів мали не специфічний характер, але такі з них, як утворення внутрішньоядерних включень були специфічними, бо виявлялись виключно в ядрах каналцевих епітеліоцитів після впливу Pb (табл.). Виражена звивистість контуру ядерної мембрани у піддослідних щурів, зумовленої, імовірно, порушенням її структури, супроводжувалась достовірно високою частотою появи в ядрах хибних внутрішньоядерних включень, які утворювались шляхом інвагінації ядерної мембрани в нуклеоплазму В наслідок цього

вони завжди були відмежовані трьохшаровою мембраною і містили окремі фрагменти цитоплазматичних структур. Разом з цим у піддослідних щурів в ядрах виявлялись справжні гранулярні включення,

які характеризувались наявністю одинарної лімітуючої мембрани і електроннощільного дрібно-гранулярного матеріалу, зануреного у фібрилярний (рис. г). Такі гранулярні включення в більшій були ха-

Таблиця

Частота ультраструктурних змін в епітелії проксимальних каналців нирок щурів при впливі свинцю

№ п/п	Ультраструктурні зміни	Частота змін, φ		
		Контроль (n=23)	Група 1 (n=21)	Група 2 (n=27)
1	Редукція мікроворсин щітчастої облямівки і деструкція апікальної мембрани;	-	1,019	1,832 $p_2 \leq 0,001$
2	Мікроклазматоз і надмірне утворення апікальною мембраною піноцитозних везикул і пухирців;	0,595	1,426*	2,158** $p_2 \leq 0,05$
3	Гіпертрофія ядра і ядерець з розширенням ядерних пор;	0,595	1,713*	1,832** $p_2 \geq 0,05$
4	Ускладнення контуру ядерної мембрани;	0,738	1,811*	1,909* $p_2 \geq 0,05$
5	Хибні і справжні мембранні внутрішньоядерні включення;	-	0,902	1,459 $p_2 \leq 0,05$
6	Справжні гранулярні внутрішньоядерні включення;	-	-	0,981
7	Гіпертрофія і гіперплазія мітохондрій з утворенням молодих органел;	0,595	1,026*	1,308** $p_2 \geq 0,05$
8	Набухання мітохондрій;	0,861	1,617*	1,681** $p_2 \geq 0,05$
9	Гранулярні мітохондріальні включення;	-	-	1,384 $p_2 \leq 0,05$
10	Дезорганізація і деструкція крист мітохондрій з утворенням в них вогнищ парціального некрозу;	-	0,902	1,384 $p_2 \leq 0,05$
11	Розширення профілів і цистерн цитоплазматичної сітки;	-	0,776	0,889 $p_2 \geq 0,05$
12	Гіперплазія первинних лізосом;	-	1,617	1,756 $p_2 \geq 0,05$
13	Гіперплазія вторинних лізосом, аутофагосом і фаголізосом;	-	1,230	2,074 $p_2 \leq 0,01$
14	Білкова інфільтрація цитоплазми;	-	1,426	2,349 $p_2 \leq 0,001$
15	Парціальні некрози цитоплазми;	-	1,026	1,459 $p_2 \geq 0,05$
16	Апоптоз	-	0,437	0,790 $p_2 \geq 0,05$

Примітки:

1. - * – достовірно з контролем ($\leq 0,05$)
2. - ** - достовірно з контролем ($\leq 0,01$)
3. - p – достовірність між групами.

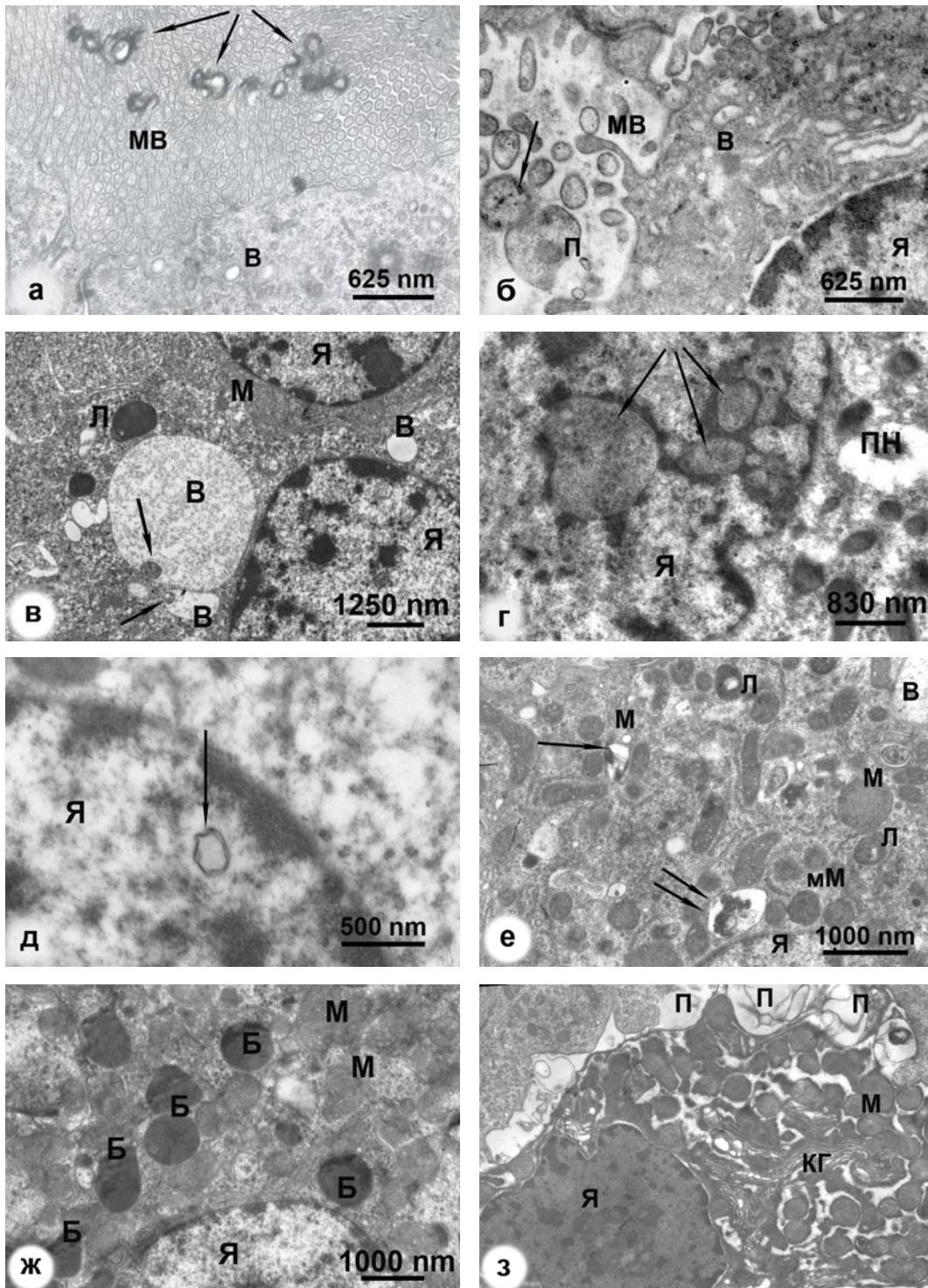


Рис. Ультраструктурні зміни в епітеліоцитах проксимальних каналців нирок щурів при впливі Рb. TEM. MB – мікроборсинки, В – цитоплазматичні вакуолі, Я – ядро, М – мітохондрії, Л – лізосоми, ПН – парціальний некроз цитоплазми, П – пухирці, Б – білкові цитоплазматичні включення. Стрілками вказано: а) – вогнищева деструкція мембран MB; б, в, г) – щільний гранулярний матеріал; г) – справжнє мембранне внутрішньядерне включення, е) – одинарною стрілкою – парціальний некроз в мітохондрії, подвійною стрілкою – вогнище парціального некрозу цитоплазми.

рактерними для щурів 2-ї групи. У щурів 1-ї групи переважали справжні мембранні включення, представлені фібрилярним,

помірної електронної щільності матеріалом, відмежованим від нуклеоплазми одинарною осміфільною мембраною. Їх

діаметр, як правило, не перевищував 250 нм (рис. д).

Відомо, що утворення внутрішньоядерних включень в різних типах клітин спостерігається при старінні, наприклад в нейронах кори головного мозку і підкоркових структур, при алкогольній інтоксикації у кардіоміоцитах, при вірусних інфекціях та інших патологічних станах [2, 3, 14]. В матеріалі біопсій нирок і секційному матеріалі, отриманому від хворих на Pb-інтоксикацію було виявлено утворення в епітелії проксимальних каналців нирок переважно гранулярних внутрішньоядерних включень, що дало підстави дослідникам визначити їх, як одну з патогномонічних морфологічних ознак Pb-нефропатії [1, 9, 34]. Утворення гранулярних внутрішньоядерних включень пояснюють проникненням Pb через ядерну мембрану [28] в нуклеоплазму, де він взаємодіє з ядерними білками і утворює своєрідний білковий матрикс з відкладенням на ньому Pb [1, 2]. Щодо хронічного впливу Pb на рівні дії хімічного фактору малої інтенсивності, то утворення мембранних включень в ядрах ниркових епітеліоцитів може бути пояснено з позицій розвитку окислювального стресу, який ініціюється Pb, що у свою чергу спричинює ушкодження ядерного хроматину [8, 18, 21] з утворенням у ядрах дрібних вогнищ парціального некрозу, відмежованих одинарною осміфільною мембраною.

На відміну від контролю вплив Pb характеризувався змінами ультраструктури мітохондрій, які визначались у вигляді їх гіпертрофії, гіперплазії і набухання. Набухання мітохондрій зазвичай характеризує інтенсивність синтезу і вивільнення в цитоплазму АТФ [2, 17]. При впливі Pb відмічали збільшення поліморфізму мітохондрій, яке було зумовлено переходом органел з ортодоксальної у конденсовану конфігурацію і навпаки. Збільшувався також і пул молодих мітохондрій, які відрізнялись округлою формою, невеликими розмірами, наявністю в них ущільненого матриксу і поодиноких, завжди коротких і рідко розташованих крист. Окре-

мого значення при впливі Pb набували деструктивні зміни органел, які характеризувались вогнищевим або тотальним просвітленням матриксу, дезорганізацією і деструкцією крист, утворенням у просвітленому матриксі мієліноподібних структур та дрібних електронно-щільних гранул (рис. е). Утворення останніх пов'язують з надмірним поглинанням мітохондріями Ca^{2+} або інших двохвалентних катіонів [30]. З літератури відомо, що Pb проявляє властивості до мімікрії [29, 32]. Це забезпечує його транспортування через іонні канали мембран, де він здатний конкурувати з Ca^{2+} . На підставі цього утворення дрібних електронно-щільних гранулярних включень в мітохондріях разом з деструктивними змінами органел може визначати ефекти токсичної дії металу.

Нефротоксичність Pb при впливі на організм щурів визначалась також за ефектом дистрофічних і деструктивних змін, що розвивались в епітелії проксимальних каналців. Вони характеризувались інфільтрацією цитоплазми білком, у вигляді появи надмірної кількості поліморфних, електронно-щільних цитоплазматичних включень, діаметром 250 – 1000 нм, відмежованих одинарною мембраною, (рис. ж.) та утворенням вогнищ парціального некрозу цитоплазми з формуванням мієліноподібних структур (рис. е). При цьому такі зміни завжди супроводжувались вираженою гіперплазією лізосом, які за даними літератури відіграють провідну роль у процесах токсикокінетики і токсикодинаміки Pb [25, 26]. Взаємодія білкових цитоплазматичних включень і лізосом супроводжувалась збільшенням кількості вторинних лізосом і залишкових тілець, які містили гомогенний, високої електронної щільності матеріал білкових включень. У фаголізосомах, кількість яких завжди збільшувалась в цитоплазмі клітин, які зазнавали дистрофічних і деструктивних змін часто виявляли фібрилярний і дрібногранулярний матеріал, а також окремі фрагменти цитоплазматичних структур. Якісні характеристики лізосомальних ультраструктур,

їх кількісний склад і частота виявлення в епітеліоцитах ниркових каналців піддослідних щурів, порівняно з контролем визначали дозо-залежний характер процесів внутрішньоклітинної біодеградації фагоцитованого матеріалу. Так, при майже однаковій частоті виявлення гіперплазії первинних лізосом в каналцевих епітеліоцитах щурів обох піддослідних груп, у щурів 2-ї групи, порівняно з 1-ю достовірно, майже в 1,7 рази збільшувалась частота виявлення гіперплазії вторинних лізосом, аутофагосом і фаголізосом (табл.). Це свідчить про те, що збільшення дози діючої на організм хімічної речовини спричинює порушення в процесах внутрішньоклітинної біодеградації фагоцитованого матеріалу і його затримку в клітинах. Таким чином, гіперплазія вторинних лізосом, фаголізосом і залишкових тілець в каналцевих епітеліоцитах при впливі Pb, з одного боку може свідчити про розгортання внутрішньоклітинних адаптаційних перебудов, а з другого – про кумуляцію Pb в клітинах у складі фагоцитованого матеріалу, що представляє собою метал-протеїнові комплекси [17, 25].

Як показали проведені електронно-мікроскопічні дослідження, вплив Pb часто супроводжувався гіперплазією і гіпертрофією зернистої і незернистої ендоплазматичної сітки, а також їх фрагментацією і розширенням цистерн. При цьому в зернистій ендоплазматичній сітці нерідко відмічали ознаки її дегрануляції, в наслідок чого в цитоплазмі помітно збільшувалась кількість розсіяних рибосом і поодиноких полісом. Такі зміни свідчили про порушення синтезу білку в епітеліоцитах, внаслідок впливу Pb на активність ферментів [22] та збільшення інтенсивності дезінтоксикаційних процесів, що слід розцінювати, як активацію внутрішньоклітинних адаптаційних процесів.

Атрофічний і дистрофічний характер змін в епітеліоцитах часто зумовлював загибель клітин, яка відбувалась не тільки шляхом некрозу клітин, але також шляхом

апоптозу. Це визначалось за появою вилучених з проксимальних каналців нирок епітеліоцитів у яких відмічали ущільнення цитоплазми і органел, гіперконденсацію хроматину в ядрі, розширення міжядерного простору, а також утворення на поверхні клітин великих мембранних пухирів, нерідко заповнених рідиною (рис. 3).

Таким чином проведені електронно-мікроскопічні дослідження та їх оцінка дозволили встановити основні морфологічні ознаки цитопатичної дії Pb в епітелії проксимальних каналців нирок щурів, які характеризуються змінами плазматичної мембрани клітин у вигляді не тільки порушень її структури (вогнищевий набряк і розшарування), але і розвитком патології у вигляді дефіциту її поверхні («мінус мембрана»), що пов'язано з надмірним використанням мембранного матеріалу для утворення мікропіноцитозних везикул, вакуолей і пухирців. При цьому було встановлено, що метал може додатково потрапляти в цитоплазму клітин через вільні проходи, утворені в наслідок вогнищевої деструкції апікальної мембрани. Ультраструктурні зміни ядер епітеліоцитів також, з одного боку характеризують механізми надходження Pb у ядро (через розширені пори, шляхом утворення хибних внутрішньоядерних включень та через іонні канали ядерної мембрани [36]), а з другого боку, механізми пошкодження ядерного апарату (шляхом активації ПОЛ, з утворенням вогнищ парціального некрозу в нуклеоплазмі і, можливо, коагуляції ядерних білків при утворенні справжніх внутрішньоядерних включень). Виявлені зміни мітохондрій характеризують високу тропність металу до цих органел, навіть на рівні дії хімічного фактору малої інтенсивності, що може бути пов'язано з конкурентною взаємодією Pb^{+2} і Ca^{+2} . При цьому було встановлено особливості токсичної дії Pb на органели, які характеризуються деструкцією їх внутрішніх мембран та утворенням дрібно-гранулярних, електронно-щільних включень у вогнищево просвітленому

матриці. Конфірмаційні зміни молекулярної будови білку в наслідок його взаємодії з Pb зумовлюють розвиток білкової дистрофії епітеліоцитів та кумуляцію металу в клітинах, бо ферментні системи первинних лізосом не спроможні забезпечити повну біодеградацію такого, структурно зміненого, Pb-білкового комплексу. Гіперплазія первинних лізосом, що виникає, як слідство внутрішньоклітинних компенсаторно-приспосувальних і адаптаційних перебудов підтверджує таке припущення. В той же час гіперплазія вторинних лізосом, фаголізосом і залишкових тілець є свідченням внутрішньоклітинної кумуляції Pb, що накопичується в цих структурах у складі електроннощільного гомогенного, гранулярного і/або фібрилярного матеріалу. На пряму токсичну дію Pb по відношенню до епітелію проксимальних канальців нирок, навіть в умовах впливу на організм хімічного фактору малої інтенсивності вказують вогнища парціального некрозу цитоплазми з утворенням мієліноподібних фігур і збільшення в цитоплазмі числа аутофагосом. Особливої уваги заслуговує апоптоз епітеліоцитів. Його роль в патогенезі токсичних нефропатій широко обговорюється в літературі [26]. З нашого погляду ініціація апоптозу епітелію проксимальних канальців металом є свідченням безпосередньої цитотоксичної дії Pb, а також захисної реакції епітеліальної тканини, яка шляхом свого «клітинного суїциду» позбавляється надлишку металу, накопиченого клітинами.

Висновки

1. Ультраструктурні зміни епітелію проксимальних канальців нирок у відповідь на вплив Pb виникають одночасно, разом з метаболічними і функціональними. Вони відображають суперечливий процес пошкодження і захисту (компенсації і адаптації), що відбувається на молекулярному, субклітинному і клітинному рівнях та визначають просторово-часові взаємозв'язки при формуванні усього спектру Pb-металопатії, що

характеризується розвитком гематологічного і абдомінального синдромів, порушенням функції нервової системи та ін.

2. При експонуванні тварин Pb в епітелії проксимальних канальців нирок щурів морфологічних змін зазнавали, перш за все, плазматична мембрана, ядро клітини, мітохондрії та лізосоми. Їх структурні зміни характеризують не тільки безпосередню токсичну дію металу, його внутрішньоклітинну токсикокінетику і токсикодинаміку, але і адаптаційно-приспосувальні перебудови, що розвиваються у відповідь на тривалий вплив Pb.
3. При різних рівнях впливу неорганічних сполук Pb на організм щурів ультраструктурні зміни епітелію проксимальних канальців нирок є надто близькими за своєю номенклатурою, але їх фізіологічна і патогенетична значимість різна. Так при хронічному впливі $PbCl_2$ в дозі, наближеній до порогу хронічної дії, виявлені зміни відображають в більшій мірі адаптаційно-приспосувальні процеси, що реалізуються на молекулярному, субклітинному і клітинному рівнях. При субхронічному впливі ацетату Pb в дозі $1/50 LD_{50}$ виявлені зміни в більшій мірі характеризуються, як ініціальні патологічні, бо визначають пошкодження клітин на молекулярному, субклітинному і клітинному рівнях.
4. Нефротоксичність Pb при його впливі на організм на рівні дії хімічного фактору малої інтенсивності визначається за ультраструктурними ознаками, що характеризують токсичне ушкодження епітелію проксимальних канальців нирок. До них мають бути віднесені: атрофічні і деструктивні зміни плазматичної мембрани (атрофія щіточкової облямівки, вогнищевий набряк і розшарування апікальної мембрани); зміни структури ядер і ядерної мембрани (ускладнення контуру ядерної мембрани з утворенням хибних внутрішньоядерних включень,

вогнища парціального некрозу нуклеоплазми, утворення справжніх гранулярних включень); деструктивні зміни мітохондрій у вигляді дезорганізації і деструкції крист, утворення вогнищ парціального некрозу з формуванням мієліноподібних структур та дрібних щільних гранулярних включень у вогнищево-просвітленому матриксі; дистрофічні і деструктивні зміни цитоплазми клітин у вигляді білкової інфільтрації, утворення вогнищ парціального некрозу цитоплазми з активацією аутофагоцитозу, а також апоптоз.

Література

1. Авцын А. П. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / [Авцын А. П., Жаворонков А. А., Риш М. А., Строчкова Л.С.]. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
2. Авцын А. П. Ультраструктурные основы патологии клетки / Авцын А. П., Шахламов В. А. – М.: Медицина, 1979. – 316 с.
3. Бакеева Л. Е. Митохондрии приходят в ядро (еще одна проблема хронических алкоголиков) / Л. Е. Бакеева, В. П. Секлачев, Ю. В. Судариков и др. // Биохимия. – 2001. – № 12. – С. 1651-1658.
4. Болезни почек / [Пухлев А., Гылабов Г., Митров Г и др.] : под ред. Г. Маджракова, Н. Попова. – [4-е изд]. – София. : Медицина и физкультура, 1980. – 804 с.
5. Гайер Г. Электронная гистохимия / Гайер Г. : [Перевод с англ. И. Б. Бухвалова, Под ред. проф. Н. Т. Райхлина]. – М.: Мир, 1974. – 488 с.
6. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов / Е. В. Гублер. – Л.: Медицина, 1978. – 296 с.
7. Гоженко А. И. Патогенез токсических нефропатий / Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2006. – № 2. – С. 9-15.
8. Губский Ю. И. Токсическая гибель клетки : свободо-радикальное повреждение ДНК и апоптоз / Лікування та діагностика. – 2001. – № 4. – С. 8-13.
9. Зербіно Д. Д. Патоморфологія хронічної свинцевої нефропатії / Д. Д. Зербіно, Ю. О. Поспішиль // Доклади Академії наук України. – 1994. – № 2. – С. 182-185.
10. Кожем'якін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко та ін. – К.: Авіцена, 2002. – 156 с.
11. Луговський С. П. Умови праці робітників основних професій на підприємстві з рекуперації свинцю та оцінка професійного ризику / Луговський С. П., Последніченко І. П. // Укр. журн. з проблем медицини праці. – 2007. – № 2. – С. 21-30.
12. Луговський С. П. Умови праці та професійний ризик робітників основних професій акумуляторних підприємств / Луговський С. П., Последніченко І. П. // Укр. журн. з проблем медицини праці. – 2008. – № 3. – С. 71-80.
13. Неорганические соединения элементов I–IV группы : справочное издание / [Балуман А. Л., Гудзовский Г. А., Дубейковская Л. С., и др.] : под ред. В. А. Филова и др. – Л.: Химия, 1988. – 512 с.
14. Общая патология человека : руководство для врачей / [под ред. А. И. Струкова, В. В. Серова, Д. С. Саркисова]. – М. : Медицина, 1990. – [2-е изд]. – Т. 1. – 1990. – 446 [2] с.
15. Перов Ю. Л. Тубулоинтерстициальная патология почек (к 25-летию классификации комитета экспертов ВОЗ) / Арх. пат. – 2008. – № 1. – С. 13-16.
16. Ступина А. С. Внутрядерные включения в клетках различных тканей крыс при старении / А. С. Ступина,

- Т. Ю. Квитницкая-Рыжова, Н. А. Межиборская и др. // *Арх. анат.* – 1987. – № 2. – С. 24-30.
17. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций : руководство / [Аруин Л. И., Бабаева А. Г., Гельфанд В. Б. и др.] : под ред. Д. С. Саркисова. – М. : Медицина, 1997. – 445 [1] с.
 18. Трахтенберг И. М. Влияние свинца на развитие окислительного стресса / Трахтенберг И. М., Утко Н. А., Короленко Т. К. и др. // *Токсикологический вестник.* – 2002. – № 3. – С. 22-26.
 19. Трахтенберг И. М. К проблеме носительства тяжелых металлов / И. М. Трахтенберг, В. А. Тычинин, Ю. Н. Талакин и др. // *Журн. АМН України.* – 1999. – № 1. – С. 87-95.
 20. Трахтенберг И. М. Проблема экзогенных токсических воздействий малой интенсивности / И. М. Трахтенберг, В. А. Тычинин, Ю. А. Талакин // *Вестник АМН СССР.* – 1991. – № 2. – С. 5-12.
 21. Трахтенберг И. М. Свинец и окислительный стресс: экологический и производственный аспекты / Трахтенберг И. М., Утко Н. А., Короленко Т. К. и др. // *Соврем. проблемы токсикологии.* – 2001. – № 4. – С 50-53.
 22. Трахтенберг И. М. Тиоловые яды / И. М. Трахтенберг, Л. М. Шафран / *Общая токсикология* [Под ред. Б. А. Курляндского, В. А. Филова]. – М.: Медицина, 2002. – С. 111-175.
 23. Трахтенберг И. М. Тяжелые металлы во внешней среде: Современные гигиенические и токсикологические аспекты. / Трахтенберг И. М., Колесников В. С., Луковенко В. В. – Мн.: Навука і тэхніка. – 1994. – 285с.
 24. Трахтенберг И. М. Свинец в умовах промислових міст, зовнішня експозиція, біомоніторинг, механізми дії та ефекти, профілактика / Трахтенберг І. М., Білецька Е. М., Демченко В. Ф. та ін. // *Довкілля та здоров'я.* – 2002. – № 3. – С. 10-12.
 25. Л. М. Шафран, Д. В. Большой, Е. Г. Пыхтеева и др. Роль лизосом в механизме защиты и повреждения клеток при действии тяжелых металлов / Л. М. Шафран, Д. В. Большой, Е. Г. Пыхтеева и др. // *Современные проблемы токсикологии* – 2004. – № 3. – С. 17-24.
 26. Шафран Л. М. Роль апоптоза в патогенезе токсических нефропатий / *Актуальные проблемы транспортной медицины.* – 2006. – № 2. – С. 15-25.
 27. Шахламов В. А. Капилляры / Шахламов В.А. [Под общ. ред. С. В. Савельева]. – М.: Веди, 2007. – 288 с.
 28. Beaver D. L. The ultrastructure of the kidney in lead intoxication with particular reference to intranuclear inclusions // *Am. J. Pathol.* – 1961. – Vol. 39. – № 2. – P. 195-208.
 29. Bridges C. C. Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals [Электронный ресурс] / Bridges C. C., Zalups R. K. // *Toxicol Appl. Pharmacol.* – 2005. – Vol. 204. – № 3. – P. 274-308. – Режим доступу до журн. : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15845419?itool=EntrezSystem2>.
 30. Cloues R. K. Ion interactions in the high-affinity binding locus of a voltage-gated Ca²⁺ channel / Cloues R. K., Cibulsky S. M., Sather W. A. – *J. Gen. Physiol.* – 2000. – Vol. 116. – P. 569-586.
 31. European convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasburg, 1986.-53 p.
 32. Garza A. Cellular mechanisms of lead neurotoxicity [Электронный ресурс] / Anibal Garza, Rosario Vega, Enrique Soto // *Med. Sci. Monit.* – 2006. – Vol. 12. – № 3. – P. 57-65. Режим

- доступу до журн. <http://www.medscimonit.com/fulltxt.php?IDMAN=8015>
33. Inorganic lead. WHO Environmental Health Criteria Series [Электронный ресурс] / – WHO. – 1995. – №. 165. – Режим доступа: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc165.htm>
 34. Kim J. Y. Nephropathy in chronic lead poisoning / Joon Youn Kim, Kap Yeol Jang, Seo Hee Rha et al. // J. Occup. Health – 1998. – Vol. 40. – P. 81-82.
 35. Renal disease. Classification and atlas of tubulointerstitial and vascular diseases / S. V. Seshan, V. D. D'Agatti, G. A. Appel et al. / Baltimor: Williams & Wilkins, 1999. – 399 p.
 36. Shahin V. Evidence for Ca²⁺- and ATP-sensitive peripheral channels in nuclear pore complexes / Shahin V., Danker T., Enss K. et al. / FASEB J. – 2001. – Vol. 15. – № 11. – P. 1895-1901.
 37. Tong S. Environmental lead exposure: a public health problem of global dimension / S. Tong, Y. E. von Schirnding, T. Prapamontol // Bulletin of the World Health Organization. – 2000. – Vol. 78. – № 9. – P. 1068-1077.

Резюме

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИТЕЛИЯ
ПРОКСИМАЛЬНЫХ КАНАЛЬЦЕВ ПОЧЕК
КРЫС ПРИ СВИНЦОВОЙ
ИНТОКСИКАЦИИ

Луговской С.П.

В эксперименте на крысах, получавших в желудок хлорид Pb в дозе 0,27 мг/кг в течение 3-х месяцев и ацетат Pb в дозе 28,5 мг/кг в течение 1-го месяца, было показано, что нефротоксическое действие малых доз металла проявляется ультраструктурными изменениями со стороны плазматической мембраны,

ядра, митохондрий и других органелл. При этом были обнаружены изменения, которые характеризуют развитие первичного аффекта, обусловленного рецепцией Pb на апикальной мембране, дистрофических и атрофических изменений в клетке и её структурах, проникновение Pb в цитоплазму, ядро и митохондрии, а так же основные пути его внутриклеточного транспорта, биodeградации и элиминации. Морфометрические исследования позволили оценить нефротоксическое действие малых доз Pb и выявить характерные для него морфологические признаки.

Summary

THE ULTRASTRUCTURAL
CHARACTERISTIC OF EPITHELIOCYTES
OF RENAL PROXIMAL TUBULES IN RATS
KIDNEYS OF RATS AT A LEAD
INTOXICATION

Lugovskoy S.P.

The results of the experiment on rats which were intrastomachically administrated Pb chloride (0,27 mg/kg) within 3 months and Pb acetate (28,5 mg/kg) within a month showed that nephrotoxic action of lead in low doses caused ultrastucture changes in plasma membrane, nucleus, mitochondria and other organelles. There were found changes proving primary affect's development due to Pb reception on apical membrane, dystrophic and atrophic cell alterations, Pb penetration into cytoplasm, nucleus and mitochondria as well as main ways of Pb intracellular traffic, biodegradation and elimination. Morphometric studying allowed to estimate a nephrotoxic action of lead in low doses and to define its morphologic signs.

*Впервые поступила в редакцию 29.11.2009 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*