

УДК 616.61+616.89-008.441.13

© Коллектив авторов, 2009.

## СОСТОЯНИЕ КОМПЕНСАТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЕДИНСТВЕННОЙ ПОЧКЕ И УРОВЕНЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ В ПЛАЗМЕ КРОВИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Т. П. Сатаева, К. Л. Лазарев, А. Н. Захарова, В. А. Житова**

*Кафедра медицинской биологии (зав. – проф. К. Л. Лазарев) Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского, г. Симферополь.*

### THE STATE OF COMPENSATORY OF PROCESSES OF THE SINGLE-LEFT KIDNEY IN EXPERIMENT AND THE LEVEL OF PEROXIDASE OXIDIZATION IN BLOOD PLASMA

**T. P. Sataeva, K. L. Lazarev, A. N. Zakharova, V. A. Zhitova**

#### SUMMARY

The increase of the functional loading on an organ (in particular on a kidney which was left after nephrectomy) is accompanied by a disbalance of oxidation restorage processes in its tissues. The hypertrophy of organ and its function reaches maximal sizes to the end of supervision (90 days) within the framework of individual vibrations. The intensity and depth of morphological changes in the kidney in the process of its hypertrophy correlates with a dynamics of the amounts of freely radical oxidization afterproducts of lipids (malony dialdehyde) and by the level of oxidation modification of albumens in blood plasma.

### СТАН КОМПЕНСАТОРНИХ ПРОЦЕСІВ В ЄДИНІЙ НИРЦІ І РІВЕНЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ В ПЛАЗМІ КРОВІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

**Т. П. Сатаєва, К. Л. Лазарєв, А. М. Захарова, В. А. Житова**

#### РЕЗЮМЕ

Підвищене функціональне навантаження на орган (зокрема на нирку, що залишилася після контрлатеральної нефрэктомії) супроводиться дисбалансом окислювально-відновних процесів в його тканинах. Компенсаторна гіпертрофія органу і його функція досягає максимальних величин, зберігаючись до кінця спостереження (90 діб) в рамках індивідуальних коливань. Вираженість і глибина морфологічних змін в нирці в процесі її компенсаторної гіпертрофії корелює з динамікою кількості вторинних продуктів вільно-радикального окислення ліпідів (малоновий діальдегід) і рівнем окислювальної модифікація білків в сыворотке крові.

**Ключевые слова:** почка, нефрэктомия, гипертрофия, окислительно-восстановительные процессы.

Повышенная функциональная нагрузка на орган (в частности на почку, оставшейся после контрлатеральной нефрэктомии) сопровождается дисбалансом окислительно-восстановительных процессов в его тканях [3, 4].

Однако в литературе отсутствуют сведения о морфофункциональном состоянии тканей единственной почки в процессе ее компенсаторной гипертрофии во взаимосвязи с уровнем перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в плазме крови.

Целью работы было изучение закономерностей развития компенсаторно-адаптационных процессов в единственной почке и состоянии прооксидантно-антиоксидантной системы крови.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для экспериментальных исследований были использованы 30 трехмесячных белых крыс (самцов и самок) массой 160-200 г, которые содержались в стандартных условиях согласно рекомендациям И.П. Западнюка с соавт. [2]. Эксперимент состоял в удалении левой почки при сохранении другой.

Морфологические исследования проводились через 7, 14, 30, 60 и 90 суток после операции. До и после операций взвешивали крыс и их удаленные

почки. Микропрепараты окрашивали гематоксилин-эозином, по Ван-Гизон, по методу Маллори. Исследования микропрепаратов проводили на специализированном компьютерном комплексе MICRO-C4-2200 (микроскоп Olympus CX 31) для получения, обработки, архивирования и печати цифровых микрофотографических изображений. Морфометрический анализ отделов нефрона почки осуществлялся с помощью компьютерной программы Image Tool.

Биохимические исследования проводили в сыворотке крови в норме до операции и после нее через 30, 60 и 90 суток. В ходе проведения экспериментов исследовали следующие биохимические показатели:

1. Содержание малонового диальдегида (МДА), как вторичного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ), определяли при помощи диагностических наборов ТБК-Агат по методике М. Mihara [6]. Метод определения вторичных продуктов перекисного окисления липидов основан на реакции МДА с тиобарбитуровой кислотой. Оптическую плотность измеряли при 535 и 570 нм.

Расчет ТБК-активных продуктов производили по формуле:

$$C = \frac{D535 - D570}{0,156} \times 16$$

где  $C$  - оптическая плотность;  $D535$  - длина волны равная 535 нм;  $D570$  - длина волны равная 570 нм. Содержание ТБК-активных продуктов выражали в мкмоль/л.

2. Изучение спонтанной окислительной модификации белков (ОМБ) проводилось по методу Levine R. L. в модификации Дубининой Е. Е. [1, 5]. Спектрофотометрирование проводили при длинах волн 270, 274 и 363 нм. Результаты измерения представлены в единицах оптической плотности (усл. ед.). Изучение биохимических показателей проводили на спектрофотометре СФ 2000.

Цифровой материал обработан методом вариационной статистики. Вычислялся  $t$ -критерий Стьюдента с определением вероятности различия «Р» по таблице Фишера-Стьюдента. Различие признавалось существенным, если вероятность превышала 95% (0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После удаления одной почки, в оставшейся развиваются закономерные изменения в её структуре. Масса крыс после операции недостоверно увеличилась. На первой неделе после операции при макроскопическом исследовании размеры и вес почки несколько возросли по сравнению с левой удаленной почкой. Так, к 7-м суткам после операции отмечается прирост веса органа в среднем на  $19,81 \pm 0,60\%$  ( $P < 0,05$ ).

При микроскопическом исследовании определяется умеренное кровенаполнение клубочковых и внеклубочковых кровеносных капилляров. При морфометрическом исследовании обнаруживается, что площадь почечных телец в связи с этим на 7-е сутки после операции увеличилась в 1,06 раза ( $P < 0,1$ ). Площадь клубочков почечных телец увеличивается в большей степени – в 1,08 раза ( $P < 0,05$ ), отчего просвет капсулы клубочков сужается в 1,08 раза (Таб. 1). Количественные параметры отделов нефрона представлены в таблицах 1 – 3.

Таблица 1

Площадь отделов нефрона единственной почки после удалением другой у крыс ( $\bar{X} \pm S_x$ , мкм<sup>2</sup>)

Сроки (сутки)	К-во крыс	Почечное тельце		
		почечное тельце	сосудистый клубочек	ширина просвета капсулы
Норма	18	3424,80±1,43	2354,85±1,40	1270,85±2,40
7	6	3624,80±2,43	2554,85±1,40	1170,21±3,10
14	6	5896,04±3,36 <sup>111</sup>	3995,89±3,29 <sup>111</sup>	1901,11±2,28 <sup>111</sup>
30	6	6116,03±2,36 <sup>111</sup>	4029,28±2,13 <sup>111</sup>	2087,72±4,86 <sup>111</sup>
60	6	6206,04±3,72 <sup>111</sup>	4173,43±3,63 <sup>111</sup>	2067,23±4,35 <sup>111</sup>
90	6	6005,54±3,65 <sup>111</sup>	4075,65±4,65 <sup>111</sup>	1987,86±3,56 <sup>111</sup>

Примечание к таблице 1: значимость отличий от нормы - <sup>1</sup> -  $p_n < 0,05$ ; <sup>11</sup> -  $p_n < 0,01$ ; <sup>111</sup> -  $p_n < 0,001$ .

Таблица 2

Площадь отделов проксимального извитого канальца единственной почки после удалением другой у крыс ( $\bar{X} \pm S_x$ , мкм<sup>2</sup>)

Сроки (сутки)	К-во крыс	Проксимальный извитой каналец (ПИК)			
		ПИК	Эпителиоциты	Просвет	Ядра
Норма	18	827,36±1,40	578,11±1,34	251,25±1,23	18,14±0,25
7	6	900,55±3,56	700,61±1,39 <sup>11</sup>	200,14±1,25 <sup>1</sup>	21,15±1,15
14	6	1310,38±3,41 <sup>11</sup>	786,62±2,26 <sup>11</sup>	574,32±3,29 <sup>11</sup>	31,05±1,70 <sup>11</sup>
30	6	1387,05±2,25 <sup>111</sup>	802,70±3,32 <sup>111</sup>	585,23±2,34 <sup>11</sup>	34,85±3,70 <sup>111</sup>
60	6	1476,21±2,56 <sup>111</sup>	875,96±4,78 <sup>111</sup>	608,45±4,67 <sup>111</sup>	33,56±2,45 <sup>111</sup>
90	6	1432,65±3,56 <sup>111</sup>	854,43±3,52 <sup>111</sup>	597,65±3,43 <sup>111</sup>	34,34±2,54 <sup>111</sup>

Примечание к таблице 2: значимость отличий от нормы - <sup>1</sup> -  $p < 0,05$ ; <sup>11</sup> -  $p < 0,01$ ; <sup>111</sup> -  $p < 0,001$ .

Площадь поперечного среза проксимальных извитых канальцев сравнима по размерам с нормой, эпителиоциты проксимальных извитых канальцев набухшие, высокие. В связи с этим их площадь достоверно увеличивается к 7-ым суткам в 1,21 раза

((Таб. 2,  $P < 0,01$ ). Площадь поперечного среза дистальных извитых канальцев достоверно возросла в 1,29 раза ( $P < 0,05$ , Таб. 3), в связи с чем площадь их просвета достоверно увеличилась в 1,65 раза ( $P < 0,05$ ).

Таблица 3

Площадь отделов дистального извитого канальца единственной почки после удалением другой у крыс ( $X \pm S_x$ ,  $\mu\text{м}^2$ )

Сроки (сутки)	К-во крыс	Дистальный извитой каналец (ДИК)			
		ДИК	Эпителиоциты	Просвет	Ядра
Норма	18	598,46±2,40	363,21±1,94	235,25±1,73	14,54±1,25
7	6	771,45±3,32 <sup>1</sup>	442,78±2,34 <sup>1</sup>	387,14±1,45 <sup>1</sup>	16,34±1,42 <sup>1</sup>
14	6	961,42±3,56 <sup>11</sup>	575,64±2,77 <sup>1</sup>	400,57±2,52 <sup>11</sup>	20,89±1,22 <sup>11</sup>
30	6	995,85±2,25 <sup>11</sup>	580,53±1,77 <sup>111</sup>	419,22±2,34 <sup>111</sup>	22,81±2,54 <sup>111</sup>
60	6	978,65±3,67 <sup>111</sup>	543,87±2,56 <sup>111</sup>	425,34±3,56 <sup>111</sup>	21,96±2,54 <sup>111</sup>
90	6	988,65±2,56 <sup>111</sup>	576,56±3,56 <sup>111</sup>	413,67±3,21 <sup>111</sup>	23,56±3,51 <sup>111</sup>

Примечание к таблице 3: значимость отличий от нормы - <sup>1</sup> -  $p < 0,05$ ; <sup>11</sup> -  $p < 0,01$ ; <sup>111</sup> -  $p < 0,001$ .

Площадь ядер эпителиоцитов проксимальных и дистальных извитых канальцев недостоверно больше нормы, соответственно, в 1,2 и в 1,12 раза ( $P < 0,1$ ).

Стенка артериол коркового вещества не отличается от нормы. Просвет вен коркового вещества несколько расширен в первые 7 суток после операции. Отмечается незначительное полнокровие мозгового вещества единственной почки в первую неделю после операции.

На второй неделе после операции (через 7-14 суток после операции) по сравнению с семью сутками увеличивается прирост веса почки на  $67,77 \pm 1,51\%$  ( $P < 0,01$ ). Гиперемии почечной ткани не определяется. Площадь почечных телец достоверно возрастает в 1,72 раза. Темпы прироста размеров сосудистых клубочков отстают в связи с чем площадь просвета капсулы клубочков достоверно увеличивается в 1,5 раза ( $P < 0,01$ ). Площадь проксимальных извитых канальцев достоверно возрастает в 1,58 раза ( $P < 0,01$ ), а эпителиоцитов – возрастает в меньшей степени по сравнению с предыдущим сроком наблюдения - в 1,36 раза ( $P < 0,01$ ). Поэтому канальцы выглядят расширенными. Эта же тенденция отмечается и у дистальных извитых канальцев.

Площадь ядер эпителиоцитов проксимальных и дистальных извитых канальцев увеличивается по сравнению с предыдущим сроком наблюдения, соответственно, в 1,72 и в 1,44 раза ( $P < 0,01$ ). В корковом веществе стенки междольковых артерий выглядят утолщенными. Уменьшается число расширенных междольковых вен.

Относительный объем интерстициального пространства остается несколько увеличенным. В мозговом веществе почки явления полнокровия проходят.

В следующие сроки наблюдения (30 - 90 суток после операции) вес почек еще больше возрос, составляя в среднем  $0,856 \pm 0,0517$  г. Его прирост равен  $82,50 \pm 3,85\%$ .

Отчетливо выявляется гипертрофия отделов нефрона. Площадь сосудистых клубочков выросла в 1,74, а почечных телец - в 1,79 раза ( $P < 0,01$ ). В связи с этим площадь просвета капсулы клубочков достоверно возрастает в 1,64 раза ( $P < 0,001$ ).

Обнаруживается незначительное слушивание щеточной каемки эпителия проксимальных канальцев. Площадь поперечного сечения проксимальных извитых канальцев возрастает в большей степени – в 1,78 раза ( $P < 0,001$ ), чем площадь эпителия в 1,50 раза ( $P < 0,01$ ), поэтому просвет указанных канальцев достоверно расширяется в 2,33 раза. Параметры дистальных извитых канальцев остаются такими же, как и в предыдущем сроке наблюдения. Площадь ядер эпителиоцитов проксимальных и дистальных извитых канальцев увеличивается по сравнению с предыдущим сроком наблюдения, соответственно, в 1,85 и в 1,57 раза ( $P < 0,001$ ).

Объем интерстициального пространства к 1-му месяцу после операции в корковом веществе увеличен. Стенка междольковых артерий остается утолщенной при неизменном их просвете. Междольковые вены не расширены. Отмечается некоторое полнокровие мозгового вещества почки. Строма мозгового вещества несколько разрыхлена и образует более широкие прослойки, чем в норме.

Для изучения состояния обменных процессов определяли биохимические маркеры свободнорадикального окисления липидов и белков в плазме крови. При изучении показателей, характеризующих степень окислительного стресса, в проведенной серии экспериментальных наблюдений имелся ряд изменений (таб. 4). Содержание продуктов липопероксидации фиксировалось по количеству вторичных продуктов (малоновый диальдегид - МДА). Уровень МДА оказался повышенным во всех сроках наблюдения.

Так превышение МДА в плазме крови через 30 суток после удаления почки составляло  $6,80 \pm 0,64$   $\mu\text{моль/л}$ , что было на 2,47 раза больше, чем в норме ( $P < 0,001$ ). Через 60 суток - в 2,4 раза больше по сравнению с нормой, а через 90 суток после операции уровень МДА составил  $4,58 \pm 1,71$   $\mu\text{моль/л}$ , что превышало норму в 1,66 раза ( $P < 0,001$ ).

С целью изучения процессов окислительной модификации белков (ОМБ), нами были проведены исследования по определению карбонильных соединений, образующихся при модификации белков в состоянии окислительного стресса, вызванного уда-

Таблица 4

Показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) и окислительной модификации белков (ОМБ) сыворотки крови после односторонней нефрэктомии

Сроки (сутки)	К-во крыс	ПОЛ ( $X \pm S_x$ , мкмоль/л)	ОМБ ( $X \pm S_x$ , усл. ед.)
Норма	10	2,75±0,79	0,17±0,01
30	6	6,80±0,64 <sup>111</sup>	0,38±0,02 <sup>111</sup>
60	6	6,61±0,14 <sup>111</sup>	0,37±0,01 <sup>111</sup>
90	6	4,58±1,71 <sup>111</sup>	0,33±0,02 <sup>111</sup>

Примечание к таблице 4: значимость отличий от нормы - <sup>111</sup> - p < 0,001.

лением почки, в различные сроки. Так, превышение токсичных продуктов окислительной модификации белков через 30 суток было в 2,24 раза больше, чем в норме (P < 0,001). Превышение уровня окислительной модификации белков через 60 суток составило 0,37 ± 0,01 усл. ед., что превышало уровень нормы в 2,16 раза, а через 90 суток наблюдения уровень ОМБ был 0,33 ± 0,02 усл. ед., что было в 1,94 раза выше нормы (P < 0,05).

Полученные данные свидетельствуют о качественных и количественных морфофункциональных изменениях в единственной почке, оставшейся после нефрэктомии контрлатеральной по сравнению с процессами, происходящими в интактной почке.

#### ВЫВОДЫ

1. В единственной интактной почке происходят процессы поэтапного развития компенсаторной гипертрофии органа.

2. В развитии компенсаторной гипертрофии почки мы выделяем три периода.

I период - период послеоперационных изменений (до 14 суток после операции). II период - период восстановления (от 14 до 30 суток после операции), в котором начинается развитие компенсаторной гипертрофии и усиления функции единственной почки. III период - период максимально выраженной компенсаторной гипертрофии (начиная с 30-х суток после операции). Характерен тем, что компенсаторная гипертрофия органа и его функция достигает максимальных величин, сохраняясь до конца наблюдения (90 суток) в рамках индивидуальных колебаний.

3. Выраженность и глубина морфологических изменений в почке в процессе ее компенсаторной гипертрофии коррелирует с динамикой количества вторичных продуктов свободно-радикального окисления липидов (малоновый диальдегид) и уровнем окислительной модификации белков в сыворотке крови.

**Перспективы.** Исходя из вышеизложенного возникает необходимость производить коррекцию метаболических нарушений в плазме крови и в тканях единственной почки веществами, которые обладают универсальными протекторными свойствами.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопросы мед. химии. – 1995. – № 1. – С.24-26.
2. Западнюк И.П. с соавт. Лабораторные животные. Киев, «Вища школа», 1983. – 350 с.
3. Лазарев К.Л., Шпак С. И. Характеристика адаптивных возможностей клеточных систем организма под воздействием ксенобиотиков. // Морфология, 1993. – Т. 105, вып. 9-10. – С. 180–181.
4. Лазарев К.Л., Шпак С. И., Вербов А. А. Морфофункциональная характеристика паренхиматозных органов в экологически неблагоприятных условиях. Наукові записки з литань медицини, біології, хімії та сучасних технологій навчання. Київ, 1997, с. 282-283.
5. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N. et al. // Meth. Enzymol. – 1990/ - V. 186. – P. 464-478.
6. Mihara M., Uchiyama M. et al. // Biochem. Med. – 1980. – V. 23. – P. 302.