

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ЗМІН НЕФРОНУ В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ВРОДЖЕНОГО ГІПОТИРЕОЗУ

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця (м. Київ)

Робота виконана в рамках держбюджетної теми інституту проблем патології НМУ імені О. О. Богомольця «Морфофункціональний стан органів, найбільш чутливих до дефіциту гормонів щитоподібної залози за умов гіпотиреозу та його корекції» № державної реєстрації 0106U004081

Вступ. Серед безлічі ендогенних факторів, що ушкоджують різні структури нирок і визначають великий поліморфізм клінічних і морфологічних проявів захворювань, інтерес представляють гормони щитоподібної залози. За своїм різнобічним впливом на функцію нирок щитоподібна залоза, ймовірно, займає третє місце після гіпофіза і кори надниркових залоз. Оскільки тиреоїдні гормони регулюють метаболізм в усіх тканинах та органах, то їх дефіцит призводить до важкої і різноманітної патології всього організму [1, 3], в тому числі, супроводжується порушеннями функції нирок [4, 7]. Гормони щитоподібної залози відіграють важливу роль в організмі ще в період ембріогенезу, їх дія позначається на рості, розвитку і фізіології нирки [5]. У дітей з вродженим гіпотиреозом (ВГТ) відзначається висока частота вроджених ниркових аномалій [6].

Точний патогенез ушкоджень нирок при гіпотиреозі дотепер неясний і вважається багатофакторним [8], а відомості про характер, механізми виникнення, клінічну значимість ниркових дисфункцій при гіпотиреозі малочисельні і суперечливі [2]. Розкриття цих нез'ясованих моментів неможливо без даних про морфологічні основи розвитку гіпотиреоїдної нефропатії, яким приділялося недостатньо уваги.

Метою дослідження було встановити особливості структурних та біохімічних змін нефрону в динаміці розвитку вродженого гіпотиреозу.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводилися на щурах лінії Вістар, які утримувалися у віварії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця згідно «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», що затверджені І Національним Конгресом з біоетики (Київ, 2001). Матеріалом для дослідження були нирки 7-ми, 45-ти та 100 добових інтактних щурів (18 тварин) та щурів цього ж віку, яким моделювали ВГТ (18 тварин). Вроджений гіпотиреоз у тварин моделювали шляхом пригнічення щитоподібної залози за допомогою тиреостатика – мерказоліла. Вагітним самкам перорально вводили препарат починаючи з 14-ї доби перинатального розвитку, після народження

піддослідні тварини отримували його з молоком матері, а в подальшому – при самостійному харчуванні. На протязі усього експерименту препарат вводили щоденно у дозі 20 мг/кг маси тіла, розчиненим у воді. Тварини виводились з експерименту через 14, 50 та 100 діб після початку розвитку ВГТ. Стан гіпотиреозу визначали імуноферментним методом за вмістом рівня вільного тироксину у плазмі крові на приборі «Sunrise RC» фірми TEKAN.

Морфометричні дослідження площі ниркового тільця (НТ), об'ємну та кількісну щільності гломерулярних капілярів та їх площу проводили на напівтонких зрізах, забарвлених за методом Наята. Оцінку кількісних змін в подоцитах здійснювали на електронномікроскопічних фото за програмою «Органела». В нирках визначали об'ємну та кількісну щільність цитотрабекул і цитоподій у нирковому тільці, площі та фактор форми цитотрабекул і цитоподій. Довжину щільної діафрагми, довжину базальної поверхні подоцита та кількісну щільність діафрагм визначали на електронному мікроскопі ПЕМ-125K за програмою «Карра».

Статистична обробка отриманого матеріалу проводилася за допомогою параметричного критерію Ст'юдента та непараметричного критерію Колмогорова–Смірнова згідно принципам варіаційної статистики.

Результати досліджень та їх обговорення.

Рівень вільного тироксину у плазмі крові вже на початкових етапах дефіциту гормонів щитоподібної залози удвічі менший, ніж у віковому контролі; залишається на тому ж рівні по мірі збільшення терміну спостережень і зазнає подальшого зниження (утричі) при довготривалій нестачі цих гормонів, що дає підстави вважати дану модель ВГТ адекватною.

У ювенільних (7-ми добових) щурів через 14 діб від початку розвитку ВГТ в нирці відмічається відставання в дозріванні всіх структурних компонентів нирки. Ниркові тільця не досягають розмірів, характерних для вікового контролю: площа їх зрізу значущо менша, ніж у віковому контролі (табл. 1). В 1 мкм³ НТ розміщується $(15,95 \pm 1,49) \cdot 10^{-6}$ капілярів, при цьому їх середня площа складає $(3,16 \pm 0,431) \cdot 10^2$ мкм², що значуще більше, ніж у інтактних ювенільних щурів (табл. 1).

В значній частині судинних клубочків ще не завершуються процеси диференціювання ендотеліоцитів та подоцитів. В останніх це проявляється

Таблиця 1

Морфометричні показники ниркового тільця нирок 7-ми добових інтактних щурів (К) та щурів через 14 днів розвитку ВГТ

Групи тварин	Площа НТ * 10 ² мкм ²	Об'ємна щільність капілярів у НТ, %	Кількісна щільність капілярів у НТ * 10 ⁻⁶ мкм ³	Площа капілярів * 10 ² мкм ²
контроль	432,6±23,81	6,82±0,97	19,42±1,61	3,60±0,21
ВГТ	381,3±19,02 *	5,79±1,82	15,95±1,49*	4,16±0,23*

Примітка: * значуще відрізняється від контролю (P≥ 0,05).

Таблиця 2

Стереологічні показники, які характеризують подоцити нирок 7-ми добових інтактних щурів (К) та щурів через 14 днів розвитку ВГТ

Групи тварин	Довжина щілинної діафрагми, нм	Відсоток базальної поверхні подоцита, яка зайнята щілинними діафрагмами, %	Кількісна щільність діафрагм, 10 ⁻⁴ /нм
Контроль	66,4±6,1	6,32±1,79	11,5±2,2
ВГТ-14д	56,9±8,5	4,02±1,06*	5,7±1,6*
Групи тварин	Довжина цитоподій, нм	Відсоток базальної поверхні подоцита, яка зайнята цитоподіями, %	Кількісна щільність цитоподій, 10 ⁻⁴ /нм
Контроль	465,6±19,3	93,12 ±1,70	12,4±1,6
ВГТ-14д	570,3±34,*1	93,6±3,01	7,7±1,9*

Примітка: * значуще відрізняється від контролю (P≥ 0,05).

Таблиця 3

Морфометричні показники ниркового тільця нирок 45-ти добових інтактних щурів та щурів через 50 днів розвитку ВГТ

Групи тварин	Площа НТ * 10 ² мкм ²	Об'ємна щільність капілярів у НТ, %	Кількісна щільність капілярів у НТ * 10 ⁻⁶ мкм ³	Площа капілярів * 10 ² мкм ²
контроль	561,3±32,02	11,74±2,20	33,35±4,34	3,64±0,32
ВГТ	481,6±29,13*	9,56±1,92	29,51±2,63	3,16±0,28

Примітка: * значуще відрізняється від контролю (P≥ 0,05).

зниженням, у порівнянні з віковим контролем, утворенням цитоподій, що підтверджується збільшеною довжиною цитоподій та удвічі меншим числом щілинних діафрагм (табл. 2). Це, безумовно, відображається на інтенсивності фільтраційних процесів.

Про затримку процесів диференціювання свідчить недостатня сформованість щітинкової облямівки в проксимальних каналцях. В дистальних каналцях ядра та мітохондрії ще не набувають типову для них топографію. Все це позначається на процесах реабсорбції.

У 45-ти добових щурів з вродженим гіпотиреозом через 50 днів дефіциту гормонів щитоподібної залози в ниркових тільцях якісні відмінності від вікового контролю не мають значної поширеності, а зміни кількісних показників не набувають критичних величин. Площа зрізу ниркового тільця на 15 % нижче показника у контролі, тоді як кількісна щільність капілярів залишається статистично незмінною (табл. 3).

На електронно-мікроскопічному рівні НТ різняться між собою за ультраструктурою їх клітинних та неклітинних компонентів. В одних клубочках, яких більшість у нирці, клітини без виражених деструктивних ознак. І хоча в ендотеліоцитах і подоцитах органели мають добре збережену структуру, кількість їх дещо менша, ніж у віковому контролі. Інші НТ більш мозаїчні за ультраструктурою, що проявляється чергуванням клітин з різним ступенем змін. Одні ендотеліоцити мають стоншені периферичні ділянки з великою кількістю фенестр, а ядровмісні зони відмічаються зрідка. В подоцитах

подекуди відбувається злиття цитоподій з утворенням суцільних ділянок подоцитів, які не містять щілин. Це призводить до зменшення кількісної щільності діафрагм і, відповідно, до збільшення довжини цитоподій у порівнянні з віковим контролем (табл. 4).

Спостерігаються також НТ з клітинами клубочків на різних стадіях ущільнення. Подекуди електронне ущільнення набуває значного ступеню, що дає підставу віднести ядра цих клітин до піноморфних, а самі клітини до проапоптозних. В проксимальних каналцях деструктивно-дистрофічні процеси поширюються на більшу частину епітеліоцитів. Це проявляється зміною клітинної форми, втратою типової топографії та фрагментацією мікроворсинок щітинкової облямівки, зменшенням числа, а часто і повним зникненням електроннощільних гранул, які переносять молекули до лізосом, накопиченням в цитоплазмі дрібнодисперсної темної речовини.

Серед епітеліоцитів дистальних каналців не спостерігається електронно-ущільнених клітин. В цитоплазмі розташовуються мітохондрії, які мають структуровану зовнішню мембрану, матрикс незначно підвищеної щільності та кристи. Канальці ендоплазматичної сітки та комплексу Гольджі дещо розширені, але вакуолоподібні утворення

Таблиця 4

Морфометричні показники ниркового тільця нирок 45-ти добових інтактних щурів та щурів через 50 діб розвитку ВГТ

Групи тварин	Довжина щілинної діафрагми, нм	Відсоток базальної поверхні подоцита, яка зайнята щілинними діафрагмами, %	Кількісна щільність діафрагм, $10^{-4}/\text{нм}$
Контроль	70,4±8,1	12,24±1,49	20,1±1,1
ВГТ	66,9 ± 5,1	8,32±1,19*	13,3±2,8*
	Довжина цитоподій, нм	Відсоток базальної поверхні подоцита, яка зайнята цитоподій, %	Кількісна щільність цитоподій, $10^{-4}/\text{нм}$
Контроль	421,1±17,1	86,37±2,03	20,7±1,5
ВГТ	479,3±19,1*	91,6±1,01*	16,3±1,9*

Примітка: * значуще відрізняється від контролю ($P \geq 0,05$).

відмічаються рідко. Тобто, в дистальних канальцях на перший план виходять пристосувальні процеси.

Через 100 діб розвитку вродженого гіпотиреозу в нирках відбувається атрофія частини ниркових тілець, внаслідок чого середня площа їх зрізу знижується. Спостерігається руйнування гломерулярних капілярів, що призводить до зменшення їх кількісної та об'ємної щільностей (табл. 5).

Таблиця 5

Морфометричні показники ниркового тільця нирок 100 добових інтактних щурів та щурів через 100 діб розвитку ВГТ

Групи тварин	Площа НТ * 10^2 мкм^2	Об'ємна щільність капілярів у НТ, %	Кількісна щільність капілярів у НТ * 10^{-6} мкм^3	Площа капілярів * 10^2 мкм^2
контроль	598,56±31,2	16,9±0,90	33,69±1,92	3,15±0,17
ВГТ	471,6±27,3*	9,15±1,09*	20,17±2,16*	2,21±0,18*

Примітка: * значуще відрізняється від контролю ($P \geq 0,05$).

Зміни ультраструктури подоцитів повсюдно носять дистрофічний та деструктивний характер. Це проявляється зменшенням розмірів їх тіл та відростків – і цитотрабекул, і цитоподій, кількісного представництва щілинних діафрагм, у порівнянні з віковим контролем (табл. 6). Дещо зменшуються розміри ядер, а їх каріоплазма ущільнюється.

Таблиця 6

Морфометричні показники ниркового тільця нирок 100 добових інтактних щурів та щурів через 100 діб розвитку ВГТ

Групи тварин	Довжина щілинної діафрагми, нм	Відсоток базальної поверхні подоцита, яка зайнята щілинними діафрагмами	Кількісна щільність діафрагм, $10^{-4}/\text{нм}$
Контроль	86,9±12,0	14,50±3,82	17,1±1,6
ВГТ	75,3 ± 7,2	8,13±1,92*	11,4±3,1*
	Довжина цитоподій, нм	Відсоток базальної поверхні подоцита, яка зайнята цитоподій	Кількісна щільність цитоподій, $10^{-4}/\text{нм}$
Контроль	418,1±11,7	88,37±0,03	21,3±2,3
ВГТ	491,1±15,6*	92,11±0,41*	15,6±1,7*

Примітка: * значуще відрізняється від контролю ($P \geq 0,05$).

В проксимальних канальцях практично не спостерігається незмінених епітеліоцитів. Щітинкова облямівка або фрагментована, або повністю редукована. Частина клітин змінюється за світлим типом, що обумовлено лізисом цитоплазми та органел. Інші клітини, їх переважна більшість, мають електронну ущільненість різного ступеню виразності; спостерігаються також апоптозні тіла в просвіті канальців.

В дистальних канальцях епітеліоцити мають більшу збереженість ультраструктури, ніж в проксимальних. Світлі клітини чергуються із темними, але ці відмінності ні в тих, ні в інших не набувають патологічної виразності і пов'язані, скоріш усього, з різним функціональним станом.

Висновки. При вродженому гіпотиреозі у ранні терміни спостережень нестача тиреоїдних гормонів позначається на дозріванні всіх структурних компонентів нирки. В частині судинних клубочків ще не завершуються процеси диференціювання ендотеліоцитів та подоцитів. При цьому в усіх структурних компонентах нирки гіпотиреоїдних ювенільних щурів відсутні реактивні, дистрофічні або деструктивні зміни.

1. При збільшенні термінів розвитку гіпотиреозу до 50 діб в ниркових тільцях компенсаторні процеси переважають над деструктивно-дистрофічними. Збільшення ниркових тілець обумовлено віковими змінами, але відставання від контролю у молодих тварин підвищується до 15% проти 11% у ювенільних. Якісні відмінності від вікового контролю не мають значної поширеності, а зміни кількісних показників не набувають критичних величин. В проксимальних канальцях деструктивно-дистрофічні процеси поширюються на більшу частину епітеліоцитів, що суттєво погіршує реабсорбційні можливості цих клітин, тоді як в дистальних канальцях на перший план виходять пристосувальні процеси.

2. Через 100 діб розвитку ВГТ зміни в нирці набувають більшої виразності у порівнянні з попереднім терміном. Відбувається атрофія частини ниркових тілець, спостерігається руйнування гломерулярних капілярів та подоцитів. В останніх зменшується кількісне представництво щілинних діафрагм. Все це суттєво позначається на швидкості та інтенсивності фільтраційних процесів. Найбільших пошкоджень зазнають проксимальні канальці, в яких деструктивні процеси відбуваються шляхом некрозу

і апоптозу. Дистальні каналці виявляються досить стійкими до дефіциту гормонів щитоподібної залози при довготривалому вродженому гіпотиреозі; в них в цей період переважають пристосувальні процеси.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати будуть використані при оцінці можливості та ефективності використання фармакологічних засобів для попередження розвитку змін у нирці при вродженому гіпотиреозі.

Література.

1. Герасимов Г. А. Заболевания щитовидной железы / Г. А. Герасимов, Н. А. Петунина. – М.: Здоровье, 1998. – 38 с.
2. Орлова М. М. Вікові особливості функції нирок у пацієнтів з маніфестних гіпотиреозом / М. М. Орлова, Т. І. Родіонова // Журнал фундаментальні дослідження. – 2012. – № 4. – С. 347 – 351.
3. Фадеев В. В. Гипотиреоз (руководство для врачей) / В. В. Фадеев, Г. А. Мельниченко. – М.: РКСиСеверопресс, 2002. – 16 с.
4. Changes in renal function in primary hypothyroidism / J. Montenegro, O. González, R. Saracho [et al.] // Am. J. Kidney Dis. – 1996. – Vol. 27(2). – P. 195-198.
5. Effects of thyroid hormone on the neonatal renal cortical Na⁺/H⁺ antiporter. // M. Baum, V. Dwarakanath, R. J. Alpern, O. W. Moe // Kidney Int. – 1998. – Vol. 53. – P. 1254–1258.
6. Increased prevalence of renal and urinary tract anomalies in children with congenital hypothyroidism / J. Kumar, R. Gordillo, F. J. Kaskel [et al.] // J. Pediatr. – 2009. – Vol. 154. – P. 263–266.
7. Roberts C. G. Hypothyroidism / C. G. Roberts, P. W. Ladenson // Lancet. – 2004. – Vol. 363. – P. 793–803.
8. Trimetazidine, a metabolic modulator, preserves renal function in heart failure patients with coronary artery disease: a pilot study (abstracts) / P. Di Napoli, A. A. Taccardi, A. Barsotti [et al.] // Eur. J. Heart Failure. – 2009. – Vol. 9. – P. – 140.

УДК 611. 61.:57. 087. 1: 616. 441-008. 64-053. 7

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ЗМІН НЕФРОНУ В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ВРОДЖЕНОГО ГІПОТИРЕОЗУ

Кузьменко Ю. Ю., Божко О. Г.

Резюме. Методом електронної мікроскопії та морфометричного аналізу вивчені структурні зміни нефрону нирок щурів у віковому аспекті та динаміці розвитку вродженого гіпотиреозу. Встановлено, що у ранні терміни спостережень нестача тиреоїдних гормонів позначається на дозріванні всіх структурних компонентів нирки, при цьому реактивні, дистрофічні або деструктивні зміни відсутні. При збільшенні термінів розвитку гіпотиреозу до 50 діб в нефронах компенсаторні процеси переважають над деструктивно-дистрофічними. При довготривалому дефіциті гормонів дистрофічно-деструктивні зміни в фільтраційному та реабсорбційному апаратах нирки посилюються та розвиваються ознаки зриву компенсації.

Ключові слова: нирка, щури, вроджений гіпотиреоз, електронна мікроскопія, морфометричний аналіз

УДК 611. 61.:57. 087. 1: 616. 441-008. 64-053. 7

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ НЕФРОНА В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ВРОЖДЕННОГО ГИПОТИРЕОЗА

Кузьменко Ю. Ю., Божко Е. Г.

Резюме. Методом электронной микроскопии и морфометрического анализа изучены структурные изменения нефрона почек крыс в возрастном аспекте и динамике развития врожденного гипотиреоза. Установлено, что в ранние сроки наблюдений дефицит тиреоидных гормонов влияет на созревание всех структурных компонентов почки, при этом реактивные, дистрофические или деструктивные изменения отсутствуют. При увеличении сроков развития гипотиреоза до 50 суток в нефронах компенсаторные процессы преобладают над деструктивно-дистрофическими. При длительном дефиците гормонов дистрофически-деструктивные изменения в фильтрационном и реабсорбционном аппаратах почки усиливаются и развиваются признаки срыва компенсации.

Ключевые слова: почка, крысы, врожденный гипотиреоз, электронная микроскопия, морфометрический анализ

UDC 611. 61.:57. 087. 1: 616. 441-008. 64-053. 7

Features of Structural Changes of Nephron in the Dynamics of Congenital Hypothyroidism

Kuzmenko Y., Bozhko E.

Summary. By the method of electron microscopy and morphometric analysis studied the structural changes in the nephron kidney of the rats in age aspect and dynamics of congenital hypothyroidism. Found that in the early time of observation deficiency of thyroid hormones affects on the maturation of all structural components of the kidney, and the reactive, degenerative and destructive changes are absent. With increasing of the periods of hypothyroidism to 50 days in nephrons compensatory processes prevail over the destructive and degenerative. At the long-term hormone deficiency dystrophic-destructive changes in the filtration and reabsorption devices of the kidney increases and develop signs of failure of compensation.

Key words: kidney, rat, congenital hypothyroidism, electron microscopy, morphometric analysis.

Стаття надійшла 28. 01. 2013 р.

Рецензент – проф. Рибаків С. Й.