

УДК 611.61-018.1-053.02:57.012.4

© Ю.Ю. Кузьменко, 2012.

МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ УЛЬТРАСТРУКТУРНИХ ЗМІН ПОДОЦИТІВ НИРКИ ЩУРІВ У ВІКОВОМУ АСПЕКТІ

Ю.Ю. Кузьменко

Кафедра анатомії людини (зав. каф. – проф. В.Г. Черкасов),
Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, м. Київ.

MORPHOMETRICAL ANALYSIS OF ULTRASTRUCTURAL AGE CHANGES IN PODOCYTES OF RAT'S KIDNEY

Y.Y. Kuzmenko

SUMMARY

Morphometrical analysis of ultrastructure of the kidney's podocytes shows that in the 7-days rats these cells don't acquire definitive condition: large nucleus and cytotrabecules, part of which stay fixed to the glomerular membrane, on the background insignificant number of slottal diaphragms, what affirm incomplete differentiation of podocytes in the kidney corpuscles. Podocytes of 45-days rats have signs of definition condition and don't differ considerably from these structures in the 100-days rats: size of nuclear part and cytotrabecules decreases with synchronous rise of the number of slottal diaphragms and decreasing of the contacts' length with basal membrane through cytopodes. Decreasing size of podocytes leads to rising of urinal space in the kidney corpuscles. These facts affirm that filtrational ability of kidney of young and pubescent rats is higher, then in the kidney of juvenal animals.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОДОЦИТОВ ПОЧКИ КРЫС В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

Ю.Ю. Кузьменко

РЕЗЮМЕ

Морфометрический анализ ультраструктуры подоцитов почки показал, что у 7-ми суточных крыс эти клетки еще не приобретают дефинитивного состояния. Больших размеров ядра и цитотрабекулы, часть из которых остается прикрепленной к гломерулярной мембране на фоне незначительного числа щелевых диафрагм свидетельствуют о незавершенной дифференцировке подоцитов в почечных тельцах. У 45-ти суточных крыс подоциты имеют признаки дефинитивного состояния и существенно не отличаются от аналогичных структур у 100 суточных крыс. Уменьшаются размеры ядросодержащих участков и цитотрабекул при одновременном увеличении количества щелевых диафрагм и уменьшении длины контактов этих клеток с базальной мембраной через цитоподии. Уменьшение размеров подоцитов приводит к увеличению мочевого пространства в почечных тельцах. Все это свидетельствует, что у молодых и половозрелых крыс фильтрационная возможность почек более усилена, по сравнению с ювенильными животными.

Ключові слова: нирки, морфометрія, електронна мікроскопія, онтогенез, щури.

Загальновідомо, що вісцеральні епітеліальні клітини, так звані подоцити – один із трьох компонентів ниркового тільця, який відіграє важливу роль у фільтраційному процесі. Подоцити – високоспеціалізовані клітини, яким притаманна унікальна будова. Їх крупне тіло вільно розташовується у сечовому просторі, від нього відходять багаточисельні, різного розміру відростки – цитотрабекули та цитоподії [1,3,4 та ін.]. Між цитоподіями існують фільтраційні щілини перекриті щільними діафрагмами (ЩД), шириною яких дорівнює при нормальному тиску 30-40 нм [2,3] і змінюється при його підвищенні або зниженні [5]. Не дивлячись на багаточисельні дослідження нирки загалом та подоцитів зокрема, дані відносно кількісних показників їх структурних складових, зміни яких відображаються на фільтраційній спроможності нирок, обмежені.

У зв'язку з цим, метою даного дослідження було проведення порівняльного аналізу кількісних та якіс-

них змін подоцитів нирок ювенільних (7-ми добових), молодих (45-ти добових) та статевозрілих (100 добових) щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Методом електронної мікроскопії досліджені нирки 7-ми, 45-ти та 100 добових щурів лінії Вістар, які утримувалися та виводилися із експерименту згідно "Загальним етичним принципам експериментів на тваринах".

Ділянки кіркової речовини нирок фіксували у 2,5 % розчині глутарового альдегіду на фосфатному буфері з дофіксацією в 1 % розчині OsO₄ та обробляли згідно загально прийнятої методики. Морфометричний аналіз проводили за допомогою напівавтоматичного пристрою обробки графічних зображень. Показники кількісної щільності, довжини ЩД та цитоподій, відсотку ГМБ, зайнятої цими структурами, визначалися за допомогою програми "KAPPA Image Base Metreo 2.7.2". Отримані цифрові дані обробля-

ли методом варіаційної статистики з використанням програми Statistica for Windows 6.0 (Microsoft Corporation, USA). Середні показники оцінювали за критерієм Ст'юдента. Результати вважали достовірними при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У 7-ми добових щурів подоцити знаходяться на різних стадіях диференціації. Вони містять округле ядро з дрібногранулярним еухроматином, рівномір-

но розташованим у каріоплазмі. Ядерна оболонка добре контурується, наявні невеликі вип'ячуння та інвагінації. Органели, які спостерігаються і у тілі подоцитів, і цитотрабекулах, представлені полісомами, мітохондріями округлої форми або дещо витягнутої форми з матриксом помірної електронної щільності та незначним числом крист, каналцями ендоплазматичної сітки та комплексу Гольджі, великою кількістю цистерн і вакуолей, окремими лізосомами, мікрофібрилами (рис. 1).

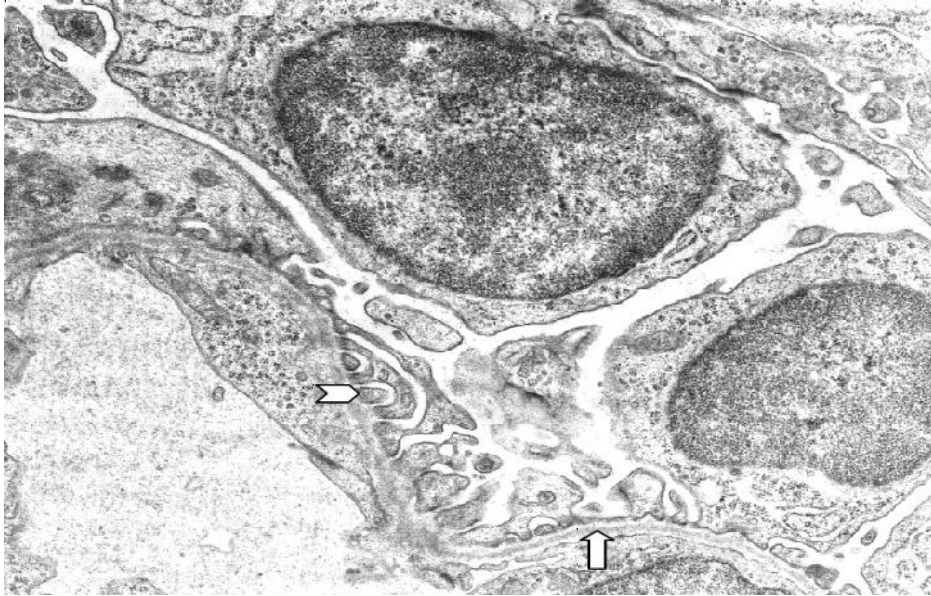


Рис. 1. Нирка 7-ми добового щура. Ядра (1) у тілі подоцитів. Цитотрабекули (2). Цитоподії (Σ). Щілинні діафрагми (\uparrow). Електронномікроскопічне фото.

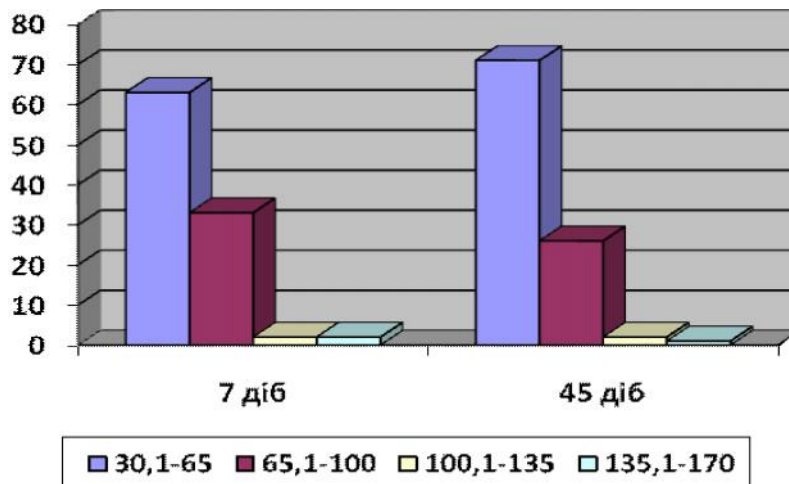


Рис. 2. Розподіл ЩД за довжиною у 7-ми та 45-ти добових щурів. По осі абсцис – довжина щілинних діафрагм у нм. По осі ординат – кількість щілинних діафрагм у %.

Щілинні діафрагми займають $12,24 \pm 0,0\%$ базальної поверхні подоцитів. Їх кількісна щільність дорівнює $(20,1 \pm 6,1) \cdot 10^{-4}/\text{нм}$ при середній довжині $60,4 \pm 8,1$

нм. Як і серед цитоподій, переважають найменші за довжиною щілини (рис. 2). У 45-ти добових подоцити диференційовані, фігури мітозу не визначаються, як

у ювенільних щурів. Від тіла подоцита відходять цитотрабекули, які дають початок дрібним і тонким ніжкоподібним виросткам – цитоподіям, що прилягають своєю розширеною основою до спільної для них і гломерулярних капілярів базальної мембрани. Подоцити містять електроннопрозору цитоплазму, ядро круглої або овальної форми, з дрібногранулярним, рівномірно розташованим у нуклеоплазмі хроматином. Каріолема містить невеликі вип'ячування та інвагінації, чітко контурується. Органели біосинтетичного плану добре виражені і містяться у достатній кількості. Мітохондрії круглої або овальної форми, рівномірно розміщені по всій цитоплазмі, мають невелику кількість крист. Апарат Гольджі утворений великою кількістю дрібних круглих пухирців, для нього не характерна специфічна локалізація. Ендоплазматична сітка добре розвинена, представлена вузькими каналцями, виявляються поодинокі лізосоми.

У цитотрабекулах майже не виявляються органели, тільки окремі мітохондрії, проте для них характерна наявність великої кількості цистерн і вакуолей (рис.3).

Морфометричний аналіз показав, що значуще, у порівнянні з ювенільними щурами, збільшується кількісна щільність діафрагм та цитоподій. При цьому довжина діафрагм залишається статистично однотипною з показником у 7-ми добових щурів (табл.; рис. 2), тоді як довжина цитоподій значуще зменшується як за середнім показником, так розподілом (табл; рис. 4). Збільшення числа діафрагм при їх незмінній довжині призводить до суттєвого (майже удвічі) підвищення показника довжини базальної поверхні подоцита, яка зайнята щільними діафрагмами (табл.).

Таблица

Зміни морфометричних показників подоцитів нирок щурів у віковому аспекті

	Довжина щільної діафрагми, нм	Довжина базальної поверхні подоцита, яка зайнята щільними діафрагмами, %	Кількісна щільність діафрагм, $10^{-4}/\text{нм}$
7 діб	66,4±6,1	6,32±1,79	11,5±2,2
45діб	70,4±8,1	12,24±1,49	20,1±1,1
100 діб	86,9±12,0	14,50±3,82	17,1±4,6
	Довжина цитоподій, нм	Довжина базальної поверхні подоцита, яка зайнята цитоподіями, %	Кількісна щільність цитоподій, $10^{-4}/\text{нм}$
7 діб	465,6±19,3	93,12 ±1,70	12,4±1,6
45діб	421,1±17,1*	88,37±2,03*	20,7±1,5
100 діб	418,1±11,7*	88,37±0,03*	21,3±2,3



Рис. 3. Нирка 45-ти добового щура. Цитотрабекули (1). Цитоподії (Σ). Щільні діафрагми (↑). Електронномікроскопічне фото.

Зворотньо залежні зміни кількості та довжини цитоподій призводить до зменшення відсотку базальної поверхні подоцита, зайнятої цитоподіями (табл.). Це свідчить про те, що у більш зрілих 45-ти добових

щурів подоцити набувають вже диференційованого стану, ознакою чого є відшарування цитотрабекул від базальної мембрани з утворення більшої кількості цитоподій і відповідно діафрагм.

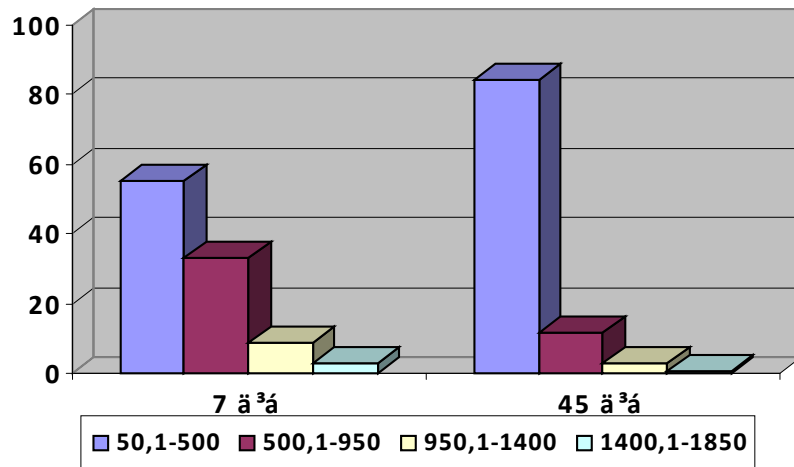


Рис. 4. Розподіл цитоподій за довжиною у 7-ми та 45-ти добових щурів. По осі абсцис – довжина цитоподій у нм. По осі ординат – кількість цитоподій у %.

У 100 добових щурів подоцити щільно прилягають до базальної мембрани. Цитоплазма їх світла, представлена тілами, від яких відходять цитотрабекули, та цитоподії, що утворюють підподоцитарний простір і мають тісні контакти із гломерулярною базальною мембраною. Цитоплазма подоцита нерівномірної електронної щільності, містить ядро з добре вираженою зоною розташування гетерохроматину. Каріоплазма тонкогранулярна, перинуклеарна цитоплазма електропрозора. Ендоплазматична сітка представлена короткими каналцями та дрібними

цистернами. Наявні невелика кількість дрібних мітохондрій, рівномірно розташованих у цитоплазмі. Спостерігаються розвинений комплекс Гольджі, представлений пухирцями круглої форми, окремі рибосоми та цитосоми (рис. 5). У цитотрабекулах, окрім поодиноких органел та міофібрил, розташовуються електроннощільні депозити (рис. 5). Цитоподії сполучені між собою мембраною, яка є діафрагмою фільтраційних щілин.

Не відрізняються від попереднього вікового терміну подоцити і за кількісними показниками (табл.).

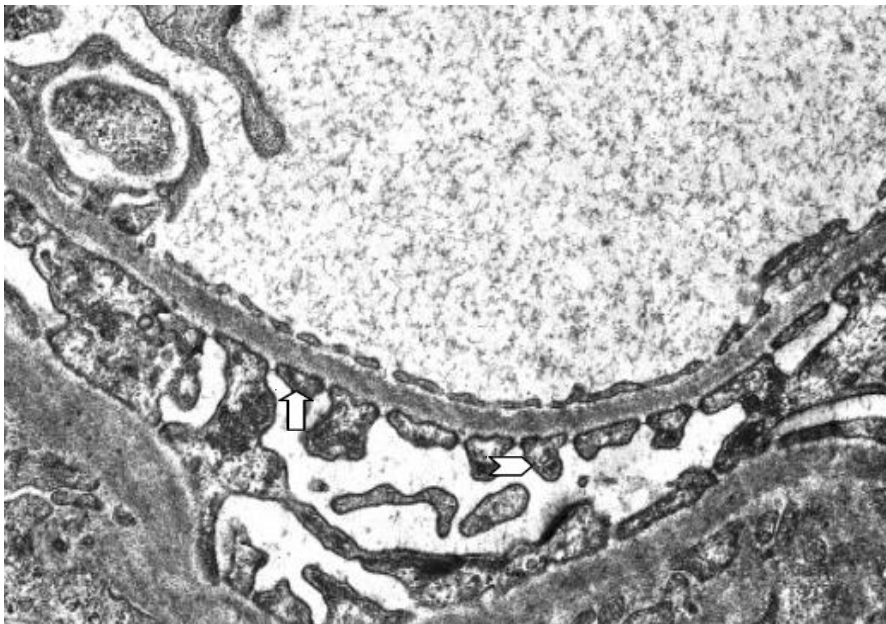


Рис. 5. Нирка 100 добового щура. Цитотрабекули (1). Цитоподії (Σ). Щілинні діафрагми (↑). Електронномікроскопічне фото.

ВИСНОВКИ

У ювенільних (7-ми добових) щурів подоцити нирки ще не набувають дефінітивного стану. Великі за розмірами ядра та цитотрабекули, частина з яких залишається прикріпленою до гломерулярної мембрани на фоні незначного числа щілинних діафрагм свідчать про незавершене диференціювання клітин в ниркових тільцях. У молодих (45-ти добових) щурів, які є ще статеві- та фізіологічно незрілими, структури нефрону мають ознаки дефінітивного стану і суттєво не відрізняються від аналогічних структур у 100 добових щурів. В подоцитах зменшуються розміри ядровмісних ділянок та цитотрабекул при одночасному збільшенні кількості щілинних діафрагм та зменшенні довжини контактів цих клітин з базальною мембраною через цитоподії. Зменшення розмірів подоцитів призводить до збільшення сечового простору в ниркових тільцях. Все це свідчить, що у молодих та статевозрілих щурів фільтраційна спроможність нирок більш посилена, ніж у ювенільних тварин.

Отримані результати можуть бути використані при оцінці змін, які розвиваються в подоцитах нирки тварин різних вікових груп при патологічних станах.

Перспективи подальших досліджень. В подальших роботах планується проведення комплексного ультраструктурного та морфометричного аналізу нирки молодих щурів з набутим гіпотиреозом.

ЛІТЕРАТУРА

- 1.Петросян Э.К. Подоцит: строение и роль в развитии нефротического синдрома / Э.К.Петросян // Нефрология и диализ.- 2006.- т. 8.- N 2.- С. 112-121.
- 2.Morphometric study of glomerular slit diaphragms fixed by rapid-freezing and freeze-substitution/[Furukawa T, Ohno S, Oguchi H et al.]//. Kidney Int 40: 621-624, 1991
- 3.Pavenstadt H. Cell Biology of the Glomerular Podocyte./ H.Pavenstadt, K.Wilhelm, K.Matthias// Physiol. Rev. 83: 253-307, 2003.
- 4.Quaggin S.E. Development of the renal glomerulus: good neighbors and good fences./ S.E. Quaggin, J.A. Kreidberg //Development 135, 609-620 (2008).
- 5.Ultrastructural study of glomerular capillary loops at different perfusion pressures as revealed by quick-freezing, freeze-substitution and conventional fixation methods/[Yu Y., Leng C.G., Kato Y., Ohno S.]// Nephron. - 1997. - V. 76, №4. - P. 452-459.