

## Структурні зміни кіркової речовини нирок щурів у пізні терміни після опікової травми шкіри за умов інфузії HAES-LX-5%

**Резюме.** У статті наведені та проаналізовані результати експериментального дослідження щодо структурних змін кіркової речовини нирок щурів у пізні терміни після опікової травми шкіри за умов інфузії розчину HAES-LX-5%. Інфузія HAES-LX-5% викликає чітко виражені нефропротекторні ефекти, але кіркова речовина нирок характеризується наявністю морфологічних змін у складових клубочкового і трубчатого апаратів. До позитивних показників належать структурні ознаки наявності функціонального потенціалу подоцитів за рахунок збереженості клітинних ніжок та стабілізації товщини основної перетинки. У щурів з опіком шкіри відбуваються мітоптоз та мікроавтофагічні зміни мітохондрій епітеліоцитів трубочок нефронів. Мікроавтофагічні зміни включають злиття лізосом із невеликими ушкодженими мітохондріями або з невеликими відокремленими фрагментами розгалужених мітохондрій. Утворені таким чином автофаголізосоми проходять шлях поетапного перетворення, що у просторовому вимірі може бути визначене як «базоапикальний градієнт трансформації». Відповідно до цього градієнта трансформація автофаголізосом відбувається в напрямку від електронно-щільної автофаголізосоми у базальній зоні цитоплазми епітеліоцита до вакуолі з електронно-прозорим вмістом в апікальній зоні цитоплазми. Інфузія розчину HAES-LX-5% призводить до стабілізації зазначеного градієнта, що є віддзеркаленням протекторних властивостей розчину щодо мітохондрій. Мітоптозу належить провідна роль в адаптації кількості та якості мітохондрій в епітеліоцитах ниркових трубочок до нових умов мікрооточення, спричинених опіковою хворобою. Масовий мітоптоз, що призводить до автофагії, може закінчитися загибеллю клітини. Проведене дослідження дозволило розкрити одну з ланок патогенезу ускладнень опікової травми шкіри, з'ясувати особливості морфологічних змін кіркової речовини нирок та виявити позитивний вплив проведення своєчасної внутрішньовенної інфузії HAES-LX-5% на структуру одного з головних органів щодо виведення з організму токсинів, яким є нирка.

**Ключові слова:** опікова травма шкіри; інфузійна терапія; HAES-LX-5%; структурні зміни; кіркова речовина нирок

### Вступ

Структурно-функціональні порушення відбуваються практично в усіх органах і системах при глибоких та значних за площею опіках шкіри, що призводить до розвитку опікової хвороби. Чинниками цих змін клітин, тканин, органів та систем опеченого організму є дисбаланс водно-сольового гомеостазу та ендогенна інтоксикація. Тому для лікування та профілактики наслідків термічних травм цілком обгрунтованим є застосування інфузійних розчинів для зменшення рівня токсинів в організмі та нормалізації водно-сольового обміну.

Серед колоїдних розчинів оптимальними є препарати групи гідроксигідратованих крохмалів, але щодо доцільності застосування окремих з них у певних клінічних ситуаціях йдуть дебати. Саме тому є потреба у розробці нових колоїдних розчинів цієї групи і у порівняльному вивченні структурних проявів їх дії на внутрішні органи опечених. Тим часом у науковій літературі відсутні дані про структурні зміни кіркової речовини нирок і перебіг у ній регенераторних процесів у пізні терміни після опікової травми шкіри за умов інфузії нового колоїдно-електролітно-гіперосмолярного препарату

HAES-LX-5%, створеного в ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України» (м. Львів), на основі гідроксіетилкрахмалу третьої генерації.

**Метою** роботи було визначення особливостей структурних змін у кірковій речовині нирок шурів через 14, 21, 30 діб після експериментального опіку шкіри II–III ступеня за умов застосування протягом перших 7 діб щодобової внутрішньовенної інфузії HAES-LX-5%.

## Матеріали та методи

Експериментальне дослідження було виконане на білих щурах-самцях масою 155–160 грамів. Піддослідні тварини були розподілені на три групи: 1-ша — інтактні щури; 2-га — щури без опіку шкіри, яким вводили розчин HAES-LX-5%; 3-тя — щури з опіком шкіри, яким вводили розчин HAES-LX-5%.

Утримання та всі маніпуляції з тваринами проводили у повній відповідності до вимог «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (м. Київ, 2001), з неухильним дотриманням рекомендацій «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей», положень методичних рекомендацій «Доклінічне вивчення лікарських засобів».

Опік шкіри (після відповідної премедикації) викликали шляхом прикладання до бічних поверхонь тулуба тварин чотирьох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку), які попередньо тримали протягом шести хвилин у воді з постійною температурою 100 °С. Загальна площа опіку у шурів зазначеної маси становила 21–23 % при експозиції 10 секунд, що є достатнім для формування опіку II–III ступеня та розвитку шокового стану середнього ступеня тяжкості. Динаміка показників ендогенної інтоксикації у піддослідних шурів свідчить, що здійснена за умов експерименту термічна травма шкіри викликає типovu для опікової хвороби ендогенну інтоксикацію, суттєві зміни показників якої відбуваються через 14 діб після опіку. Саме з огляду на ці дані ми зосередилися на вивченні структурних змін кіркової речовини нирок через 14, 21 та 30 діб після опіку.

HAES-LX-5% вводили внутрішньовенно протягом 5–6 хвилин у дозі 10 мл/кг маси тіла. Інфузію проводили у каудальну порожнисту вену, для чого здійснювали її катетеризацію в асептичних умовах через стегнову вену. Катетер, встановлений у стегновій вені, підшивали під шкіру. Його просвіт по всій довжині заповнювали титрованим розчином гепарину (0,1 мл гепарину на 10 мл 0,9% розчину NaCl) після кожного введення речовин. Перше введення розчину здійснювали через 1 годину після моделювання патологічного стану, наступні інфузії виконували щоденно загалом впродовж 7 діб.

Матеріал для морфологічних досліджень обробляли за загальноприйнятими методиками. Для

гістологічного дослідження зрізи тканини забарвлювали гематоксилін-еозином. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікротомі LKB, вивчали та фотографували на електронному мікроскопі ПЕМ-125К. Напівтонкі зрізи забарвлювали толуїдиновим синім та метиленовим синім — азур II.

Зображення з гістологічних препаратів, забарвлених гематоксилін-еозином, на монітор комп'ютера виводили з мікроскопа MICROMed SEO SCAN та за допомогою Vision CCD Camera. Морфометричні дослідження були проведені за допомогою програм «ВидеоТест-5,0», КАРА Image Base та Microsoft Excel на персональному комп'ютері. Статистичну обробку отриманих кількісних даних проводили за допомогою програмного забезпечення Excel та Statistica 6.0 з використанням параметричних методів. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної ( $M$ ), похибки середньої арифметичної ( $m$ ) і стандартне відхилення ( $\sigma$ ). Вірогідність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за  $t$ -критерієм Стьюдента. У всіх випадках  $n = 30$ . Вірогідними вважаються відмінності при  $p < 0,05$ .

## Результати та обговорення

Дослідження нирок шурів з опіком шкіри через 14 діб експерименту показало, що введення розчину HAES-LX-5% не запобігає розвитку морфологічних змін. Також наявні осередкові набрякові зміни у стромі кіркової речовини нирок. В окремих клубочках виявляються ділянки збільшення об'єму простору капсули й ознаки його набряку та ущільнення. В епітелії поодиноких трубочок спостерігаються ознаки гідропічних змін, що мають мозаїчний характер із деструктивними та пристосувально-компенсаторними перетвореннями.

Перитубулярні кровоносні капіляри переважно з розширеним просвітом, заповненим плазмою або сладжованими еритроцитами; у деяких ендотеліоцитах та суміжних епітеліоцитах трубочок нефронів спостерігаються прояви набряку, в інших — ознаки дегідратації. У всіх зазначених випадках свідчень суттєвого набряку інтерстиційних просторів не виявлено.

Структура мітохондрій має різний ступінь збереженості, але переважна частина їх містить чіткі гребені та матрикс помірної електронної щільності. Щіточкова облямівка на апікальній поверхні епітеліоцитів трубочок розвинена добре, але зустрічаються трубочки з повною обтурацією просвіту набряклими елементами стінки. Відзначається збереженість мікроворсинок. Просвіт окремих проксимальних трубочок заповнений дрібногранулярним матеріалом, також у ньому можуть локалізуватися фрагменти щіточкової облямівки та клітинний детрит.

Наявні ділянки вакуолізації цитоплазми епітеліоцитів підвищеної електронної прозорості. В інших епітеліоцитах цитоплазма темна, електрон-

но-щільна, органели візуалізуються важко. Енергетичний апарат виявляє великий спектр змін: помітні мітохондрії, які містять просвітлений матрикс і дисасоційовані гребені. Зустрічаються також гіпертрофовані набряклі мітохондрії з локально або повністю деградованим мітохондріальним матриксом та залишками гребенів. Основна перетинка трубочок переважно стоншена, міжклітинні контакти в епітеліоцитах як проксимальних, так і дистальних трубочок нефрона збережені.

В епітеліоцитах дистальних трубочок виявлені ознаки активних біосинтетичних процесів: епітеліоцити мають кругле ядро з рівномірно розподіленим хроматином, значну кількість мітохондрій та розширених трубочок комплексу Гольджі. Щільні контакти локалізовані переважно ближче до апікальної поверхні і мають подекуди збільшену довжину. В апікальних частинах деяких епітеліоцитів відзначена гіпертрофія та гіперплазія трубочок і мішечків гранулярної ендоплазматичної сітки та комплексу Гольджі.

Ультраструктурними особливості капілярів клубочка після опіку є переважання судин із збільшеним діаметром їх просвіту. Вони вистелені стоншеним ендотелієм, причому зустрічаються як діафрагмовані, так і недіафрагмовані фенестри, які чергуються з вип'ячуваннями цитоплазми. Клітини мають овальне ядро з переважанням еухроматину. Крім того, привертають увагу ядра, в яких переважає гетерохроматин, форма їх неправильна через наявність численних інвагінацій ядерної оболонки.

Ультраструктура подоцитів та їх відростків збережена, хоча й є прояви певних дистрофічних змін. Більшість подоцитів містить велике ядро круглої форми з інвагінаціями ядерної оболонки та переважанням еухроматину. Цитоплазма нерівномірної електронної щільності, з ознаками помірного набряку. Виявлено окремі органели у стані набряку та гіпертрофії або мітохондрії із залишками гребенів і дефектами внутрішньої мітохондріальної перетинки. Гранулярна ендоплазматична сітка та комплекс Гольджі функціонально активні, про що свідчать їх розширені трубочки.

Також збереженість ультраструктурної будови спостерігається і у клітинних ніжках подоцитів. Підшви прикріплення ніжок щільно прилягають до основної перетинки, у фільтраційних щілинах між ними містяться діафрагми. Реєструються лише поодинокі ділянки відшарування підшов прикріплення або злиття клітинних ніжок подоцитів.

Через 21 добу після опікової травми шкіри в нирках щурів, яким вводили розчин НАES-LX-5%, просвіт капілярів клубочка є розширеним, іноді його заповнюють залишки клітинного детриту. Безперервні ділянки цитоплазми ендотелію чергуються зі стоншеним фенестрованим ендотелієм, причому проміжки у фенестрах часто заповнені дрібногранулярним матеріалом, розпущена основна перетинка.

Ядро ендотеліоцитів у більшості випадків велике, в ньому переважає еухроматин. Будова ядра, а також поширеність рибосом, полісом, трубочок гранулярної ендоплазматичної сітки і структура мітохондрій свідчать про активні біосинтетичні процеси в цих клітинах.

Основна перетинка в клубочках рівномірної товщини та помірної електронної щільності. Подоцити виявляють збереженість своєї ультраструктурної організації: руйнація органел клітин не спостерігається, не виявлені також набрякові зміни у цитоплазмі. Збережені клітинні ніжки подоцитів дещо видовжені; підшви прикріплення щільно прилягають до основної перетинки. Локуси злиття та відшарування підшов прикріплення зареєстровані лише в окремих ділянках.

Дослідження нирок щурів з опіком шкіри через 30 діб експерименту дозволило виявити ділянки кіркової речовини, які не відрізняються від таких у контрольних (без опіку) тварин. На напівтонких зрізах добре візуалізуються незначні локальні набрякові зміни у стромі кіркової речовини.

При електронно-мікроскопічному дослідженні реабсорбційного апарату нефрона встановлено, що епітеліоцити проксимальних трубочок проявляють поліморфізм ультраструктурної організації. На фоні функціонально активних епітеліоцитів спостерігаються клітини з ознаками дистрофії. Цитоплазма неушкоджених епітеліоцитів містить ядро із переважанням еухроматину і добре виражену основно-бічну складчасту облямівку. Трубочки гранулярної ендоплазматичної сітки незначно розширені та густо всіяні рибосомами. Необхідно відзначити появу великої кількості дрібних мітохондрій з електронно-щільним матриксом, які, ймовірно, є юними формами цих органел і свідчать про репаративні процеси в клітинах.

Епітеліоцити в стінці дистальних трубочок без виражених ознак структурної альтерації і мають морфологічні прояви функціональної активності. Ядро, де переважає еухроматин, поширеність полісом, трубочок гранулярної ендоплазматичної сітки та складових комплексу Гольджі свідчать про активні біосинтетичні процеси в клітинах. Наявність значної кількості великих мітохондрій та глибоких розгалужених базальних інвагінацій плазмолемі свідчить про активні процеси реабсорбції в епітелії дистальних трубочок.

Мітохондрії варіабельні за розмірами і формою: наявні як великі видовжені органели, так і дрібні круглі їх форми. Цитоплазма клітинних ніжок характеризується меншою електронною щільністю. Підшви прикріплення клітинних ніжок подоцитів щільно прилягають до основної перетинки; ознаки злиття чи відшарування підшов прикріплення не спостерігаються, у фільтраційних щілинах наявні діафрагми. В мезангіоцитах зареєстровані ознаки активних біосинтетичних процесів, про що свідчить велика кількість розширених трубочок гранулярної ендоплазматичної сітки та гіпертрофія комплексу



Гольджі, а також значна поширеність рибосом, полісом та мітохондрій.

Дані гістологічних, електронно-мікроскопічного та морфометричного досліджень свідчать, що HAES-LX-5% чинить цитопротекторний вплив на структуру кіркової речовини нирок щурів з експериментальною опіковою травмою, виявляючи таким чином нефропротекторні властивості. Це стосується як ниркових тілець, так і трубочок нефронів, що підтверджено морфометричними дослідженнями. Такий нормалізуючий вплив дає можливість рекомендувати застосування нового колоїдно-гіперосмолярного розчину HAES-LX-5% для своєчасної профілактики та комплексного лікування шкідливих наслідків тяжких опікових травм шкіри.

## Висновки

Найактивнішими органелами за умов норми та найвразливішими за умов опікової травми є мітохондрії епітеліоцитів. Підвищення функціонального навантаження призводить до прискорення старіння мітохондрій, а за гірших умов — до деструкції не тільки старих, але й дефектних зрілих та юних мітохондрій. Інфузія HAES-LX-5% сприяє упорядкуванню та унормуванню мітоптозу в епітеліоцитах трубочок нефронів.

**Конфлікт інтересів.** Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

## Список літератури

1. Гунас І.В., Кондрацький Б.О., Нурметов І.К. та ін. Динаміка змін рівня ендогенної інтоксикації в організмі щурів протягом місяця після опіку шкіри II–III ступеня, площею 21–23 % поверхні тіла та її корекція інфузійними розчинами

лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX-5%. Український морфологічний альманах. 2012. Т. 10. № 4. С. 29–33.

2. Коваленко О.М. Питання інфузійної терапії опікового шоку. Хірургія України. 2014. № 2. С. 13–19.

3. Дзевульська І.В., Гунас І.В., Черкасов Э.В. и др. Морфологическая характеристика гистогематических барьеров в органах нейроиммуноэндокринной системы при инфузионной терапии ожоговой болезни комбинированными гиперосмолярными растворами. Хирургия. Восточная Европа. 2014. № 2(10). С. 113–124.

4. Семененко О.Н. Оценка энергетического метаболизма и состояния оксидантно-антиоксидантного равновесия в тканях почек в условиях тяжелой термической травмы у крыс на фоне терапии новым коллоидно-гиперосмолярным раствором HAES-LX-5%. Врач-аспирант. 2015. № 2(69). С. 164–170.

5. Черкасов В.Г., Ковальчук А.И., Дзевульська І.В. и др. Структурные особенности адаптации и компенсации нарушенных функций внутренних органов при инфузионной терапии ожоговой болезни. Світ медицини та біології. 2014. № 4(46). С. 165–170.

6. Черкасов В.Г., Гунас І.В., Ковальчук А.И. и др. Ультраструктурные трансформации межклеточного вещества во внутренних органах при лечении ожоговой болезни путем инфузии комбинированных гиперосмолярных растворов. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2015. Т. 14, № 1(51). С. 37–44.

7. Jangamreddy J.R. Mitoptosis, a novel mitochondrial mechanism leading predominantly to activation of autophagy. Hepat. Mon. 2012. Vol. 12(8). P. 6159–6163.

8. Mijalijca D. Mitophagy and mitoptosis in disease processes. Methods Mol. Biol. 2010. Vol. 648. P. 93–106.

Отримано/Received 02.06.2019

Рецензовано/Revised 21.06.2019

Прийнято до друку/Accepted 23.06.2019 ■

Лахтадир Т.В.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

## Структурные изменения коркового вещества почек крыс в поздние сроки после ожоговой травмы кожи при инфузии HAES-LX-5%

**Резюме.** В статье приведены и проанализированы результаты экспериментального исследования структурных изменений коркового вещества почек крыс в поздние сроки после ожоговой травмы кожи при инфузии раствора HAES-LX-5%. Инфузия HAES-LX-5% вызывает четко выраженные нефропротекторные эффекты, но корковое вещество почек характеризуется наличием морфологических изменений в составляющих клубочкового и трубочкового аппаратов. К положительным показателям относятся структурные признаки наличия функционального потенциала подоцитов за счет сохранности клеточных ножек и стабилизации толщины основной перепонки. У крыс с ожогом кожи происходят митоптоз и микроаутофагические изменения митохондрий эпителиоцитов трубочек нефронов. Микроаутофагические изменения включают слияние лизосом с небольшими поврежденными митохондриями или с небольшими обособленными фрагментами разветвленных митохондрий. Образованные таким образом аутофаголизосомы проходят путь поэтапного преобразования, что в пространственном измерении может быть определено как «базоапикальный градиент трансформации». Согласно этому градиенту трансформация аутофаголизосом

происходит в направлении от электронно-плотной аутофаголизосомы в базальной зоне цитоплазмы эпителиоцита до вакуоли с электронно-прозрачным содержанием в апикальной зоне цитоплазмы. Инфузия раствора HAES-LX-5% приводит к стабилизации указанного градиента, что является отражением протекторных свойств раствора относительно митохондрий. Митоптозу принадлежит ведущая роль в адаптации количества и качества митохондрий в эпителиоцитах почечных трубочек к новым условиям микроокружения, вызванным ожоговой болезнью. Массовый митоптоз, приводящий к аутофагии, может закончиться гибелью клетки. Проведенное исследование позволило раскрыть одно из звеньев патогенеза осложненной ожоговой травмы кожи, выяснить особенности морфологических изменений коркового вещества почек и выявить положительное влияние проведения своевременной внутривенной инфузии HAES-LX-5% на структуру одного из главных органов выведения из организма токсинов, каковым является почка.

**Ключевые слова:** ожоговая травма кожи; инфузионная терапия; HAES-LX-5%; структурные изменения; корковое вещество почек

T.V. Lakhtadyr  
Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

### Structural changes of the rat kidney cortical substance in the long-term period after burn injury of the skin under conditions of HAES-LX-5% infusion

**Abstract.** The results of an experimental study on structural changes in the rat kidney cortical substance in the long-term period after burn injury of the skin under infusion of HAES-LX-5% solution are presented and analysed in the article. Infusion of HAES-LX-5% causes significant nephroprotective effects, but the kidney cortical substance is characterized by the presence of morphological changes in the components of the glomerular and tubular apparatus. Positive changes include structural signs of the presence of the functional potential of podocytes due to the preservation of cellular pedicels and stabilization of the thickness of the main septum. In rats with skin burns, there are mitoptosis and microautophagic changes in the mitochondria of epithelial cells of the nephron tubules. Microautophagic changes include fusion of lysosomes with small damaged mitochondria or with small isolated fragments of branched mitochondria. Autophagolysosomes formed undergo a step-by-step transformation that can be defined in spatial dimension as a “base apical transformation gradient”. According to this gradient, the transformation of the autophagolysosome occurs in the direction from the electron-dense autophagolysosome in the basal zone of the cytoplasm of the epithelial cells to the vacuole with electron-transparent content in the apical zone of the cytoplasm. Infusion of HAES-LX-5% solution leads to stabilization of the specified gradient, which is a reflection of the protective properties of the solution relative to mitochondria. Mitoptosis plays a leading role in the adaptation of the quantity and quality of mitochondria in epithelial cells of renal tubules to new microenvironmental conditions caused by burn disease. Massive mitoptosis leading to autophagy may result in cell death. The study made it possible to uncover one of the links in the pathogenesis of complications of burn injury of the skin, to find out the peculiarities of morphological changes of the kidney cortical substance and to reveal the positive effect of timely intravenous infusion of HAES-LX-5% on the structure of one of the main organs excreting toxins, which is kidney.

**Keywords:** burn injury of the skin; infusion therapy; HAES-LX-5%; structural changes; kidney cortical substance