

**СТАНОВЛЕННЯ ЮКСТАГЛОМЕРУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСУ НИРКИ В
ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ****ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет” (м. Івано-Франківськ)**

Дана робота є фрагментом НДР “Генофонд населення Прикарпаття: вплив еколого-географічних, соціально-економічних факторів на його структуру та формування здоров’я людей” № держреєстрації 0108U008811; Фінансування МОЗ України, код 2301020 “Фундаментальні дослідження у сфері профілактичної та клінічної медицини”.

Вступ. Морфологічні та фізіологічні дослідження змін нирок впродовж постнатального періоду життя тварин і людини свідчать, що в ранньому віці і при старінні їх функціональні потенції, порівняно з такими дорослих особин, помітно знижені [1-3]. Це пов’язано зі змінами нейро-гуморальних механізмів регуляції, зокрема ренін-ангіотензинової системи та її морфологічного субстрату юкстагломерулярного комплексу (ЮГК) [7, 11, 12]. Останній забезпечує регуляцію водно-солевого обміну, артеріального тиску та автoreгуляцію ниркового кровоплину [4, 6, 10]. З огляду на важливу роль ЮГК в механізмах гомеостазу організму, вивчення особливостей його формування в онтогенезі є актуальною проблемою морфології та медицини.

Мета дослідження – встановити характер послідовного ускладнення в становленні та організації юкстагломерулярного комплексу нирки в постнатальному періоді онтогенезу білих щурів.

Об’єкт і методи дослідження. Об’єктом дослідження слугували нирки 50 білих рандомбредних щурів (новонароджених, на 14-15 і 30 доби, 3-12-ти і 19-24-місячних), які утримувалися в умовах місцевого віварію при 12-ти годинному світловому дні на натуральному кормі. Для світлооптичного дослідження шматочки тканини нирки фіксували в рідині Буена або ценкер-формолі. Парафінові зрізи, товщиною 5-7 мкм, фарбували гематоксилін-еозинном, за Массоном, Harada, за допомогою PAS-реакції. Для електронномікроскопічного вивчення ЮГК підготовку матеріалу здійснювали за загальноприйнятими методиками. Ультратонкі зрізи контрастували уранілі ацетатом і цитратом свинцю з наступним дослідженням на мікроскопі ПЕМ-125 К. Морфометричні показники визначали за допомогою окуляр-мікрометра МОВ-1-16. Підрахунок індексів гранулярності ЮГК здійснювали за формулою Р. Hartroft, W. Hartroft [5]. Для визначення статистичної значущості (P) та кореляцій між показниками використовували комп’ютерну програму „Excel”, що входить до складу пакету Microsoft Office.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати дослідження показали, що процеси дозрівання і формування структурно-функціональних одиниць нирки – нефронів охоплюють доволі тривалий для щурів період (2-3 місяці їх порівняно короткого життя). При цьому в різні строки після народження

основні процеси диференціювання та їх інтенсивність перебігають неоднаково у часі. Постнатальний розвиток ЮГК корелював з інтенсивним ростом і дозріванням нефронів. Так, відносна маса нирки новонароджених тварин складала $0,43 \pm 0,01$, на 15 і 30 доби вірогідно зростала відповідно до $0,60 \pm 0,01$ і $0,55 \pm 0,01\%$ ($p < 0,001$) і поступово знижувалася в 3-12-ти та 24 місячних щурів (відповідно $0,44 \pm 0,01$ і $0,43 \pm 0,02\%$). Збільшення маси нирки відбувалося за рахунок проліферації клітин, які утворюють каналіци та клубочки. У взаємозв’язку з розвитком структурних елементів нирки формується ЮГК залежно від топографії в кірковій речовині.

У новонароджених тварин, як і в дорослих, кіркову речовину можна розділити на зовнішню (периферійну) та внутрішню (юкстамедулярну) зони. Однак у подальшому для детальнішої характеристики локалізації ЮГК доцільно виділяти три зони: субкапсулярну, середню та юкстамедулярну. В юкстамедулярній зоні виявлялися зрілі клубочки з поодинокими міюїдними ендокриноцитами (юкстагломерулоцитами). Останні локалізувалися в середній оболонці приносячої клубочкової артеріоли, рідше в стінках міждолькових артерій. В субкапсулярній і середній зонах ці клітини ідентифіковано на 1-3 доби після народження паралельно з диференціацією каналіцив. Індекс гранулярності у новонароджених щурів дорівнював $5,73 \pm 0,36\%$ і був в 5,38 і 5,02 рази меншим, ніж в одномісячних і дорослих (відповідно $30,70 \pm 2,74$ і $26,60 \pm 1,50\%$). Визначення вищезазначеного показника базувалося на різному ступені заповнення клітин гранулами. За даною ознакою встановлено три типи юкстагломерулоцитів: перший – з незначною кількістю гранул навколо ядра; другий – гранули дифузно розміщені в цитоплазмі у невеликій кількості; третій – об’єм цитоплазми густо заповнений гранулами. Врахування типів клітин дало змогу виділити чотири класи ЮГК за наростанням гранулярності. У новонароджених щурів найчастіше спостерігалися юкстагломерулоцити першого і другого типів, що зумовило наявність ЮГК першого і другого класів гранулярності (**табл.**).

Ультраструктура юкстагломерулоцитів новонароджених тварин подібна до такої дорослих щурів. Їх ядра мали овальну форму, каріолема з неглибокими інвагінаціями. Дрібні грудочки хроматину дифузно заповнювали каріоплазму. Ендоплазматична сітка представлена вузькими каналіцями і дрібними цистернами, порожнини яких заповнені тонкофлюккулентним матеріалом, а зовнішні профілі вкриті рибосомами. Велика кількість міхурців вакуолей комплексу Гольджі містила скупчення електроннощільного матеріалу протогранул реніна. Мітохондрії гранулярних клітин на перерізі мали неправильну

Розподіл юкстагломерулярних комплексів за класами гранулярності $M \pm m$

Вік тварин	Типи комплексів за класами гранулярності,%			
	перший	другий	третій	четвертий
1-3 доба	73,60±1,42*	26,40±2,54*	-	-
14-15 доба	54,82±3,25*	30,24±4,96*	7,64±1,81*	5,49±1,18*
30 доба	41,87±3,88	30,97±3,58*	23,08±4,53	5,08±0,97*
3-12 місяців	41,05±1,45	38,41±1,32	19,25±1,43	1,32±0,10
19-24 місяці	40,50±0,77	36,49±0,94	18,65±0,64	13,71±0,25*

Примітка: * - достовірність відмінності від дорослих тварин, $p < 0,05$

конфігурацію, їх кристи рідкі, розміщені невпорядковано. Матрикс помірної електронної щільності. Поодинокі гранули юкстагломерулоцитів новонароджених щурів характеризувалися поліморфізмом (рис. 1). Серед зрілих гранул зустрічалися протогранули і утвори на стадії дозрівання. Рідше виявлялися вільні від вмісту гранули, які були оточені групами міхурців діаметром 30-50 нм.

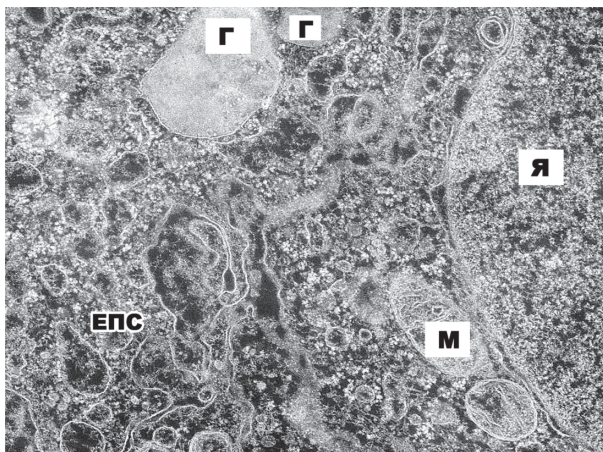


Рис. 1. Фрагмент юкстагломерулоцита новонародженого щура. Я – ядро; Г - гранули; М – мітохондрія; ЕПС – ендоплазматична сітка. $\times 36.15000$.

Цікавим виявився той факт, що у новонароджених щурів на зовнішній стінці капсули клубочка поблизу судинного полюса виявлено гранульовані клітини подібні до периполярних клітин інших хребетних. Специфічною ознакою цих клітин була наявність гранул, які забарвлювалися позитивно за Массоном, PAS-реакцією. Відмінністю від міоїдних ендокриноцитів були більші розміри гранул та їх інтенсивніше забарвлення.

На 14-15 доби після народження в усіх зонах кіркової речовини реєструвалися дозрівання нефронів і диференціація ЮГК. Гранульовані клітини знаходили в приносних артеріолах на всьому їх протязі. Контури ядер цих клітин набували виражену звивистість через інвагінації каріолеми. Особливостей будови органел порівняно з вищеписаними не відмічено. Спостерігався значний поліморфізм гранул – від протогранул окремих або оточених спільною мембраною до гомогенних зрілих і таких, що виділили свій вміст.

Найбільш виражені зміни юкстагломерулоцитів виявлено в одномісячних щурів. В стінці приносної артеріоли при її розгалуженні на капіляри гладкі міоцити відсутні. Середня оболонка судини виглядала потовщеною через збільшення кількості і розмірів ендокриноцитів. Ядра останніх з глибокими інвагінаціями, в каріоплазмі виявлялися 1-2 ядра. Внутрішньоклітинні органели реорганізувалися, збільшувалася кількість зв'язаних рибосом, з'являлися численні полісоми. Гетероморфізм гранул різко виражений. Частіше, ніж в попередні строки онтогенезу, зустрічалися спустошені гранули. В цитоплазмі біля ядра розподілені юні гранули і гранули на ранніх стадіях дозрівання. Міофіламенти і щільні тільця знайдено лише в деяких юкстагломерулоцитах. Останні, як правило віддалені від ниркового тільця і містили мало гранул. Сумарний індекс гранулярності у одномісячних щурів найвищий, хоча відрізнявся від такого дорослих тварин невірогідно.

Юкстагломерулоцити в старих (19-24 місячних) щурів набували характерних змін. При цьому визначення індексу гранулярності затруднене, оскільки в цитоплазмі ендокриноцитів присутні включення, які забарвлювалися подібно до секреторних гранул. Зниження даного показника поєднувалося з виявленням ЮГК четвертого класу, що містять клітини, цитоплазма яких густо заповнена гранулами. В юкстамедулярній, а рідше в середній зоні кіркової речовини зустрічалися окремі клубочки без ЮГК. Сумарний індекс гранулярності в старих щурів ($16,68 \pm 1,76\%$) менший в 1,72 разу, ніж у дорослих, що корелювало з особливостями будови юкстагломерулоцитів. Ядра останніх переважно гіперхромні, гранулярні компоненти каріоплазми розподілені нерівномірно. Окремі цистерни ендоплазматичної сітки локалізувалися поблизу плазмолем, вільні рибосоми зустрічалися рідко. Елементи комплексу Гольджі скупчені біля ядра. Специфічні гранули моногенні, круглої або овальної форми, кількість юних та дозріваючих гранул обмежена.

Другий компонент ЮГК – епітеліоцити щільної плями починали диференціюватися на першу добу після народження, а на третій день вже відрізнялися від інших клітин дистального звивистого каналця в юкстамедулярній зоні. Їхні ядра витягнуті, хоча не так тісно прилягали одне до одного як у дорослих щурів. Складчатість базальної частини плазмолем менш виражена, мітохондрії розміщені в бокових відділах цитоплазми клітин. В судинному полюсі

юкстамедулярних нефронів між приносяюю і виносною клубочковими артеріолами іноді зустрічалися 2-3 овальні або витягнуті клітини. Саме вони належали до третього компонента ЮГК – клітин Гурмагтіга або периваскулярного острівця мезангію.

У двох-тижневих щурів клітини щільної плями і периваскулярного острівця добре диференціювалися в юкстамедулярних нефронах і були менш сформованими в субкапсулярній зоні кіркової речовини. В одномісячних тварин епітеліоцити щільної плями повністю сформовані, їх структурні та функціональні характеристики подібні до таких дорослих щурів [7]. Між клубочковими артеріолами всіх зон кіркової речовини визначалися клітини Гурмагтіга, диференціація яких до цього строку онтогенезу завершувалася.

В епітеліоцитах щільної плями старих щурів відмічено зменшення вгинань базальної плазмолемми, звивистості її бокових профілів, мікрворсинки апікальної поверхні поодинокі, короткі. В цитоплазмі містилися рідкі розширені цистерни ендоплазматичної сітки, комплекс Гольджі розвинений слабо, базальна орієнтація його порушена. Мітохондрії поліморфні, розсіяні по всій цитоплазмі. Клітини периваскулярного острівця мали меншу кількість відростків, ніж у дорослих тварин. Вони були оточені розширеними базальними мембранами. В цитоплазмі виявлялися поодинокі електроннощільні гранули.

Отримані результати про світлооптичні та ультраструктурні зміни на етапах постнатального періоду онтогенезу засвідчили збільшення кількості юкстагломерулоцитів, раннє їх диференціювання (1-3 доби) та посилення гранулярності (14-15 доби). До першого місяця життя дозрівання клітинних органел закінчувалося, процеси формування і виділення вмісту гранул урівноважувалися, юкстагломерулоцити набували особливостей структури подібних до таких дорослих щурів (рис. 2).

Впродовж подальшого розвитку (19-24 місяці) функціональна активність біосинтетичних органел поступово пригнічувалася, процеси утворення гранул сповільнювалися, що супроводжувалося гіалінозом приносяюю клубочкової артеріоли. Диференціація клітин щільної плями і периваскулярного острівця мезангію (клітин Гурмагтіга) починалася в новонароджених щурів і завершувалася до кінця першого місяця життя. У старих тварин функціональна активність цих двох компонентів ЮГК, як і юкстагломерулоцитів, пригнічувалася.

Таким чином, наростання кількості ЮГ-клітин і їх гранулярності залежить від віку і топографії нефронів. Про постійне утворення реніну і його виділення свідчать виражений структурний поліморфізм гранул, та встановлене іншими авторами підвищення активності ренін-ангіотензинової системи [9, 11]. Ці показники досягали свого максимуму в одномісячних щурів. Співставлення наших даних з

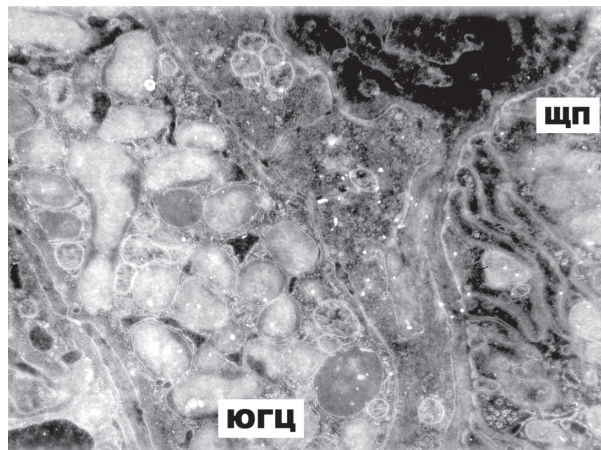


Рис. 2. Ділянка контакту базальної частини епітеліоцитів щільної плями (ЩП) з юкстагломерулоцитом (ЮГЦ) дорослого щура. Цитоплазма ЮГЦ, заповнена гранулами на різних стадіях формування. Зб. 20 000.

результатами про високу реабсорбцію натрію у молодих щурів дає змогу припустити, що ренін необхідний для підтримання функції нефрона, зокрема регуляції водно-солевого обміну.

З формуванням клітин щільної плями і периваскулярного острівця процеси авторегуляції нефронів ускладнюються. Формування канальцево-клубочкового зворотного зв'язку, диференціювання натрієвих рецепторів щільної плями сприяють підтримці гомеостазу організму на вищому рівні, ніж у новонароджених тварин [6-7].

Висновки.

1. Формування компонентів ЮГК (юкстагломерулоцитів, епітеліоцитів щільної плями клітин периваскулярного острівця або Гурмагтіга) залежить від віку і топографії нефронів.

2. Диференціювання юкстагломерулоцитів встановлено у новонароджених тварин, переважно в юкстамедулярних нефронах, збільшення їх кількості та посилення гранулярності – на 14-15 доби, повне дозрівання клітинних органел, формування і виділення вмісту гранул в юкстагломерулоцитах усіх зон кіркової речовини – у одномісячних тварин. Пригнічення функціональної активності біосинтетичних органел, процесів утворення гранул виявлено при старінні.

3. Епітеліоцити щільної плями та клітини Гурмагтіга ідентифікувалися у новонароджених щурів, їх дозрівання завершувалося до першого місяця постнатального періоду.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку полягають у вивченні цитометричних характеристик різних типів юкстагломерулоцитів та епітеліоцитів щільної плями у взаємозв'язку з індексом гранулярності та функціональною активністю нефрона.

Список літератури

1. Соленов Е.И. Влияние вазопрессина на водную проницаемость клеток эпителия собирательных трубок почки в постнатальном онтогенезе крыс [Текст] / Е.И. Соленов, Г.С. Батурина, Л.Н. Иванова // Рос. Физиол. Журн. Им.И.М. Сеченова. – 2001. – Т. 87, № 7. – С. 965-972.
2. Терещук Б.П. Возрастные особенности реакции почки на действие неспецифических факторов трансплантации [Текст] / Б.П. Терещук // Вісник морфології. – 2002. – Т. 8, № 2. – С. 180-185
3. Ходус Г. Р. Регуляция водной проницаемости собирательных трубок почки мыши в постнатальном развитии [Текст] / Г. Р. Ходус, Е. И. Соленов, Л. Н. Иванова // Онтогенез. – 2009. – Т.40, №3. – С.215-221.

- Cupples W.A. Assessment of renal autoregulation / W.A. Cupples, B. Braam // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2007. – Vol.292(4). – F1105-F1123.
- Hartroft P.M. Studies on renal juxtaglomerular cells. I. Variations produced by sodium chloride and desoxycorticosterone acetate / P.M. Hartroft, W.S. Hartroft // *J. exper. Med.* – 1953. – Vol.97. – P.415-428.
- Just A. Mechanisms of renal blood flow autoregulation: dynamics and contributions / A. Just // *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* – 2007. – Vol.292(1). – R1-R17.
- Preserved macula densa-dependent renin secretion in A1 adenosine receptor knockout mice / F. Schweda, C. Wagner, B. K. Krdmer, J. Schnermann, and A.Kurtz // *Am J. Physiol. Renal Physiol.* – 2003. – Vol.284, Issue 4. – F770-F777.
- Renin Release / F. Schweda, U. Friis, C. Wagner, O. Skott, A. Kurtz // *Physiology.* – 2007. – Vol. 22, No. 5. – P. 310-319.
- Role of the renin-angiotensin system in regulation and autoregulation of renal blood flow / C. M. Sorensen, P.P.Leyssac, O. Skott, N.-H. Holstein-Rathlou // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2000. – Vol. 279, Issue 3. – R1017-R1024.
- The renin-angiotensin system and the third mechanism of renal blood flow autoregulation / E. Seeliger, T. Wronski, M. Ladwig, L. Dobrowolski and al. // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2009. – Vol.296(6). – F1334-F1345.
- Upregulation of juxtaglomerular NOS1 and COX-2 precedes glomerulosclerosis in fawn-hooded hypertensive rats / W. Weichert, A. Paliege, A.P. Provoost, S. Bachmann // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2001. – Vol. 280, Issue 4. – F706-F714.
- Sinn P. L. JG cell expression and partial regulation of a human renin genomic transgene driven by a minimal renin promoter / P. L. Sinn, X. Zhang, C. D. Sigmund // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 1999. – Vol. 277, Issue 4 – F634-F642.

УДК 616-071+616.61+575.16

СТАНОВЛЕННЯ ЮКСТАГЛОМЕРУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСУ НИРКИ В ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ

Швец Л.С., Ковальчук Л.Є.

Резюме. Формування секреторної активності юкстагломерулярного комплексу нирки здійснюється в чотири фази: I – накопичення його компонентів (юкстагломерулярних клітин, клітин щільної плями і юкставаскулярного острівця) від народження до 15 доби; II – диференціювання цих компонентів з наростанням активності фільтраційно-реабсорбційних процесів (від 15 до 30 доби); III фаза - дозрівання і стабілізація юкстагломерулярних клітин, клітин щільної плями і юкставаскулярного острівця, формування взаємозв'язків між ними і з аксонами ниркових нервів (від 30 доби до трьох місяців); IV фаза - поступове зниження функціональної активності юкстагломерулярного комплексу паралельно з функціональними потенціями нирок (16-24 міс).

Ключові слова: структура, юкстагломерулярний комплекс, нирки, онтогенез.

УДК 616-071+616.61+575.16

СТАНОВЛЕНИЕ ЮКСТАГЛОМЕРУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА ПОЧКИ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА

Швец Л.С., Ковальчук Л.Е.

Резюме. Формирование секреторной активности юкстагломерулярного комплекса почки в постнатальном периоде онтогенеза осуществляется в четыре фазы: I – накопление его компонентов (юкстагломерулярных клеток, клеток плотного пятна и юкставаскулярного островка) от рождения до 15 суток; II – дифференциация этих компонентов с нарастанием активности фильтрационно-реабсорбционных процессов (от 15 до 30 суток); III фаза - созревание и стабилизация гранулированных юкстагломерулярных клеток, клеток плотного пятна и юкставаскулярного островка, формирование взаимосвязей между ними и с аксонами почечных нервов (от 30 суток до трех месяцев); IV фаза – постепенное снижение функциональной активности юкстагломерулярного комплекса параллельно с функциональными потенциями почек (16-24 мес).

Ключевые слова: структура, юкстагломерулярный комплекс, почки, онтогенез.

UDC 616-071+616.61+575.16

Formation Of Juxtaglomerular Complex Of Kidney In Postnatal Period Of Ontogenesis

Shvets L. S., Kovalchuk L. Ye.

Summary. The formation of secretorial activity of juxtaglomerular complex of kidney is done in four phases: the first phase – accumulation of its components (juxtaglomerular cells, cells of macula densa and juxtavascular insula) from its birth to 15 days; the second phase – differentiation of these components with increasing activity of filter-reabsorptional process (from 15 to 30 days); the third phase – maturation and stabilization of juxtaglomerular cells, cells of macula densa and juxtaglomerular insula; formation of relationships between them and with axons of renal nerves (from 30 days to 3 months); the fourth phase – gradual increasing of functional activity juxtaglomerular complex parallel to functional potentialities of kidneys (from 16 to 24 months).

Key words: structure, juxtaglomerular complex, kidneys, ontogenesis.

Стаття надійшла 28.07.2011 р.