

В. А. Козлов, О. С. Бусова

Научное издание

Козлов Вадим Авенирович, Бусова Ольга Сергеевна

**Тучноклеточная популяция почки
и почечной капсулы**

Редактор Е. А. Хохлова

Подписано в печать 26.08.09. Формат 60×84/16.
Бумага газетная. Гарнитура Times. Печать офсетная.
Учл. печ. л. 6,5. Тираж 1000 экз., перв. завод 100 экз.
Заказ № 1595

**ТУЧНОКЛЕТОЧНАЯ ПОПУЛЯЦИЯ
ПОЧКИ И ПОЧЕЧНОЙ КАПСУЛЫ**

2009

УДК 616.155.361 + 612.014.31

Рецензенты:

Доктор биологических наук, профессор Л. Н. Воронов

Доктор биологических наук, профессор В. Е. Сергеева

В. А. Козлов, О. С. Бусова

Тучноклеточная популяция почки и почечной капсулы. – Москва, Щербинская типография. – 2009. 104 с., ил. 64. Библиогр. 84.

В результате изучения популяции тучных клеток почки белых лабораторных крыс обнаружено два пула тучных клеток: 1) почечная популяция лаброцитов с преимущественной локализацией клеток в субкапсулярной зоне коркового слоя и единичными мастоцитами мозгового вещества; и 2) более многочисленная популяция мастоцитов почечной капсулы. Тучные клетки почки, как функционально подвижный клеточный пул способны к активным быстрым, целенаправленным и закономерным реакциям в ответ на изменения гомеостаза, вызванные внешними воздействиями: такими как увеличение объема воды в организме, изменение микроэлементного статуса (цинк, медь, молибден). Механизм реализации клеточного ответа, очевидно, связан как с прямым влиянием на тучные клетки, так и опосредован индуцированным этими воздействиями адаптивным изменением тканевых концентраций трансммиттеров: ацетилхолина, катехоламинов, серотонина, гистамина.

Монография предназначена для специалистов в области биологии, физиологии, морфологии, фармакологии, практикующих врачей, студентов медицинских и биологических специальностей.

83. Javier Pardo Mast cells in chronic rejection of human renal allografts / Javier Pardo // Virchoows arch. – 2000. – P. 167-171.

84. Wingren U. L. Amines of the mucosal mast cell of the gut in normal and nematode infected rats / U. L. Wingren [et al.] // Histochemistry. – 1983, N 77. – P. 145-158.

© Козлов В. А., Бусова О. С., 2009

72. Kozlov V.A. Water diuresis and choline influence on biogenic regulators kidneys level and kidney mastocytes behavior in acute experiment / V. A. Kozlov [et al.] // 21th Workshop: The biological essentiality of macro and trace elements. – Germany : Jena, 2002. – P. 831-839.
73. Majored S. K. Mast cell distribution in rats / S. K. Majored // *Arzneimittelforschung*. – 1994. – Vol. 44, №3. – P. 370-374.
74. Newson B. Suggestive evidence for a direct innervation of mucosal mast cells / B. Newson [et al.] // *Neurosci*. – 1983, N 10. – P. 565-570.
75. Patterson W. P. The pathophysiology of thrombosis in cancer / W. P. Patterson, Q. S. Ringenber // *Semin. Oncol.* – 1990, Vol. 17. – P. 140-146.
76. Pirola C. J. Evidence for cholinergic innervation in dog renal tissue / C. J. Pirola [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1989. – V. 257, N 5 (Pt 2). – F746-754.
77. Pirola C.J. Release of acetylcholine from isolated canine renal tissue / C. J. Pirola [et al.] // *Am. J. Physiol.* 1991. – V. 260, N 2 (Pt 2). – F198-203.
78. Roberts I. S. D. Mast cells: the forgotten cells of renal fibrosis / I. S. D. Roberts, P. E. C. Brenchley // *J. Clin. Pathol.* – 2000. – Vol. 53. – P. 858-862.
79. Shore P. A. A method for the fluorometric assay of histamine in tissues / P. A. Shore, A. Burkhalter, V. H Cohn // *J. Pharmacol. And Exp. Ther.* – 1959, V. 127. – P. 182.
80. Soares-da-Silva P. A comparative study on the synthesis of the natriuretic hormone dopamine in OK and LLC-PK1 cells / P. Soares-da-Silva, M. P. Serrao, M. A. Vieira-Coelho // *Cell Biol. Int.* – 1996. – V. 20, N8. – P. 539-544.
81. Stead R. H. Intestinal mucosal mast cells in normal and nematode-infected rat intestine are in intimate contact with polypeptide nerves / R. H. Stead [et al.] // *Proc. NAS USA.* – 1987, N 84. – P. 2975-2979.
82. Suzuki H. Excretion and metabolism of dopa and dopamine by isolated perfused rat kidney / H. Suzuki [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1984, V. 247, N 3 (Pt. 1). – E285-E290.

Оглавление

Введение	4
Глава 1. Тучные клетки: общая характеристика, классификация, роль в реализации почечных функций	7
Глава 2. Популяция тучных клеток почки и почечной капсулы интактных крыс	17
Глава 3. Влияние водной нагрузки на тучно-клеточную популяцию и транзиттерный статус почки и почечной капсулы	23
3.1. Влияние водной нагрузки на тучно-клеточную популяцию почки	23
3.2. Влияние водной нагрузки на тучноклеточную популяцию почечной капсулы	27
Глава 4. Реакция тучноклеточной популяции почки и почечной капсулы на хроническое потребление ионов металлов и гидратацию на их фоне	33
4.1. Влияние водной нагрузки на популяцию тучных клеток почки и почечной капсулы на фоне предшествующего потребления Zn^{++}	34
4.2. Влияние водной нагрузки на тучноклеточную популяцию почки и почечной капсулы на фоне потребления Cu^{++}	38
4.3. Влияние водной нагрузки на тучноклеточную популяцию почки на фоне предшествующего питьевого потребления Mo^{++}	45
Глава 5. Взаимосвязь популяции тучных клеток почечной капсулы и почки с транзиттерным статусом	50
5.1. Взаимосвязь транзиттерного статуса и популяции тучных клеток почки и почечной капсулы на фоне гидратации	50
5.2. Взаимосвязь транзиттерного статуса и тучноклеточной популяции почки и почечной капсулы на фоне питьевого потребления Zn^{++}	59
5.3. Взаимосвязь транзиттерного статуса и популяции тучных клеток почки и почечной капсулы на фоне питьевого потребления Cu^{++}	68
5.4. Взаимосвязь транзиттерного статуса и тучноклеточной популяции почки и почечной капсулы на фоне питьевого потребления Mo^{++}	80
Заключение	93
Список литературы	95

*Приносим благодарность нашим Учителям
Валентине Ефремовне Сергеевой и
Любови Алексеевне Любовцевой
за помощь в осуществлении нашего исследования, без своевремен-
ных консультаций которых эта работа не была бы выполнена.
Авторы*

ВВЕДЕНИЕ

В ходе проведенных ранее экспериментов [71, 70, 67, 72] на лабораторных крысах в препаратах почки и почечной капсулы нами были обнаружены тучные клетки, которые, как оказалось, очень активно и довольно разнообразно реагируют на физиологические, фармакологические и стрессорные воздействия.

Тучные клетки являются уникальными в своем роде образованиями – обладая способностью к активному передвижению, проникают везде, где имеется хотя бы незначительная прослойка соединительной ткани, синтезируют огромное количество биологически активных веществ: гепарин, гистамин, серотонин, катехоловые амины, мелатонин, эозинофильный хемотоксический фактор анафилаксии, медленно реагирующую субстанцию анафилаксии, оксид азота, простагландины, фактор, активирующий тромбоциты, нейтрофильный хемотаксический фактор анафилаксии, протеолитические ферменты, а также удаляют избыток биоаминов из межклеточного пространства. Вышеперечисленное позволяет считать лаб-роциты компонентом межклеточной (паракринной) и внутри-

62. Kaliner M. A. The Mast Cell in Health and Disease / M. A. Kaliner, D. D. Metcalfe. – New York : Dekker. – 1983.
63. Kampf C. Mast cells accumulate in the renal capsule adjacent to transplanted pancreatic islets in rats / C. Kampf, L. Jansson // Cell Biol. Int. – 2006, Vol. 30, N 12. – P. 1054-1056.
64. Kim D. H. Mast cells decrease renal fibrosis in unilateral ureteral obstruction / D. H. Kim, S. O. Moon, Y. J. Jung [et al.] // Kidney Int. – 2009. – Vol. 75, N 10. – P. 1031-1038.
65. Koelle G. B. A new general concept of the neurohumoral functions of acetylcholine and acetylcholinesterase / G. B. Koelle // J. Pharm. And Pharmacol. – 1962, V. 14. – P. 65-90.
66. Kondo S. Role of mast cell tryptase in renal interstitial fibrosis / S. Kondo [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. – 2001. – Vol. 8. – P. 1668-1676.
67. Kozlov V. A. Fluorescent method of Acetylcholine detection / V. A. Kozlov [et al.] // 20th Workshop: The biological essentiality of macro and trace elements. – Germany : Jena, 2000. – P. 895-899.
68. Kozlov V.A. Choline and L-Dopa influence on biogenic regulators kidney level and kidney mastocytes behavior / V. A. Kozlov [et al.] // 21th Workshop: The biological essentiality of macro and trace elements. – Germany : Jena, 2002. – P. 846-856.
69. Kozlov V.A. Influence of chronic consumption Cu 10 maximum concentrations limits on rats kidney mast cells population / V. A. Kozlov, O. S. Glazirina // 4 th International symposium on trace elements in human: new perspective. – Greece : Athens, 2003. – P. 674-679.
70. Kozlov V.A. Influence of chronic consumption Zn 10 maximum concentrations limits on rats kidney mast cells population / V. A. Kozlov, O. S. Glazirina // 4 th International symposium on trace elements in human: new perspective. – Greece : Athens, 2003. – P. 716-720
71. Kozlov V.A. Influence of copper and molybdenum on kidney capsules mast cells a population / V. A. Kozlov, O. S. Glazirina // 22th Workshop: The biological essentiality of macro and trace elements. – Germany : Jena, 2004. – P. 1128-1133

The chromaffin cells in the liver capsule and gut of ungulates / R. E. Coupland, E. D. Heath // *J. Endocrinol.* – 1961, N 22. – P. 71-76.

52. Cross S. A. M. A study of methods available for cytochemical localization of histamine by fluorescence induced with o-phtaldehyde or acetaldehyde / S. A. M. Cross, S. W. Even, F. W. D. Rost // *Histochemistry*. 1971. Vol. 3, N 6P. 471-476.

53. Cutz E. Release of vasoactive intestinal polypeptide in mast cells by histamine liberators / E. Cutz [et al.] // *Nature.* – 1978, N 275. – P. 661-662.

54. Dimitriadou V. Ultrastructural evidence for a functional unit between nerve fibers and type II cerebral mast cells in the cerebral vascular wall / V. Dimitriadou [et al.] // *Neuroscience.* – 1987, N 22. – P. 621-630.

55. Evans S. Synthesis and release of acetylcholine in the rabbit kidney cortex / S. Evans, L. C. Garg, E. M. Meyer // *Life Sciences.* – 1992. V. 51, N 22. – P. 1699-1703.

56. Falck B. Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde / B. Falk [et al.] // *J. Histochem. and Cytochem.* – 1962. – V. 10. – P. 348-354.

57. Falk B. Dopamine and mast cells in ruminants / B. Falk [et al.] // *Acta Pharmacol. (Copenhagen).* – 1964, N 21. – P. 51-58.

58. Fellman J. H. Determination of acetylcholine: Its application in a study of presynaptic release and a choline acetyltransferase assay / J. H. Fellman // *J. Neurochem.* – 1969. – P. 135-143.

59. Galli S. J. The two faces of the mast cell / S. J. Galli, B. K. Wershil // *Nature.* – 1996, N 381. – P. 21-22.

60. Ghanem N. Cardiac and renal mast cells: Morphology, distribution, fixation and staining properties in the guinea pig and preliminary comparison with human / N. Ghanem [et al.] // *Inflam. Res.* – 1988, N 23. – P. 223-226.

61. Guimaraes J. T. Opossum kidney (OK) cells in culture synthesize and degrade the natriuretic hormone dopamine: a comparison with rat renal tubular cells / J. T. Guimaraes [et al.] // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 1997, V. 4. – P. 681-688.

тканевой регуляции и рассматривать тучные клетки как «одноклеточную железу». Поэтому тучные клетки должны бы присутствовать во всех органах и принимать активное участие в их функциональных ответах на изменение гомеостаза. В самом деле, в различных органах и тканях, кроме почек, описаны популяции тучных клеток, закономерно реагирующие на функциональные нагрузки, предъявляемые к этим органам [4, 7, 8, 10, 11, 20, 22, 23, 24].

Проведенный нами анализ доступных литературных источников, посвященных изучению почечного пула тучных клеток, позволяет заключить, что сведения о тучных клетках почки очень скудны, в основном им отводится роль участника воспалительного процесса [62, 73, 78]; сведения о популяции тучных клеток почечной капсулы нами в доступных литературных источниках не найдены. Более того, популяция тучных клеток почки прямо называется «забытыми клетками» [78]. То есть, судя по литературным данным, почки – единственный орган, присутствие тучных клеток в котором представляет собой случайное, единичное и незакономерное явление, чего явно не может быть.

Нельзя не упомянуть еще одну известную нам работу, выполненную на кафедре фармакологии Чувашского госуниверситета в 1976 г. В. И. Смирновой, в которой показано, что аутолюминесцирующие клетки в капсуле почки на сагиттальных срезах не что иное, как тучные клетки. Однако, поскольку автор ставила целью своего исследования изучение влияния адренергических препаратов и серотонина на состояние адренергической иннервации почки, она не стала подробно исследовать популяцию тучных клеток капсулы почки, ограничившись констатацией факта их присутствия в капсуле [38].

Возобновление интереса к тучным клеткам А. Воденичаров объясняет тем, что тучные клетки секретируют ряд биологически активных веществ (гистамин, серотонин, допамин, вазоактивные кишечные полипептиды и др.), некоторые из которых регулируют активность нервной системы [11]. По-

этому автор вместе с рядом других исследователей [11, 47, 51, 53, 54, 57, 74, 81, 84], обосновывает необходимость изучения функциональных связей тучных клеток и нервной системы. Однако согласно исследованиям Г. А. Бузникова [5, 6], а также нашим данным [25, 26, 27, 28, 29, 30], эти же вещества (кахоламины, серотонин, ацетилхолин), традиционно считающиеся исключительным атрибутом нервной регуляции, синтезируются не нервными клетками и выполняют роль аутокоидов, представляя собой первичную донервную регуляторную систему.

Эта система находится в состоянии функционального синергизма с нервной регуляцией, но в то же время в значительной мере представляет собой функциональную автономию. Более того, значительная, если не большая часть высвобождаемых на периферии нервными окончаниями медиаторов синтезируется не нейронами, синтетическая активность которых очень ограничена и способна обеспечить лишь непродолжительную спайковую активность, а захватывается нейронами из тканей в результате *reuptake II* [65].

Перечисленные обстоятельства послужили причиной нашего целенаправленного исследования популяции тучных клеток почки и ее капсулы.

40. Сусликов В. Л. Геохимическая экология болезней: В 4 т. Т. 3: Атомовитозы / В. Л. Сусликов. – М. : Гелиос АРВ. – 2002. – 670 с.
41. Трахтенберг И. М. Проблемы нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / И. М. Трахтенберг [и др.] // Под ред. проф. И. М. Трахтенберга М. : Медицина, 1991. – 208 с.
42. Хрущов Н. Г. Кроветворное происхождение перитонеальных тучных клеток / Н. Г. Хрущов, Э. В. Чернышева, Т. В. Васильев // Доклады АН СССР. – 1980, Т. 225, №2. – С. 463-365.
43. Хэм А. Гистология / А. Хэм, Д. Кормак. – Т. 5, М. : Мир, 1983. – 296 с.
44. Юрина Н. А. Тучные клетки и их роль в организме / Н. А. Юрина, А. И. Радостина. – М. : изд-во РУДН, 1977. – 74 с. (Учебное пособие).
45. Юрина Н. А. Соединительная ткань: развитие, строение и функции клеток и межклеточного вещества / Н. А. Юрина, А. И. Радостина. – М. : Изд-во УДН, 1987. – 88 с.
46. Юрина Н. А. Морфофункциональная гетерогенность и взаимодействие клеток соединительной ткани / Н. А. Юрина, А. И. Радостина. – М. : Изд-во УДН, 1990. 398 с.
47. Ястребова С. А. Механизмы гидрокортизоновой иммуномодуляции биоаминной клеточной системы тимуса / С. А. Ястребова, В. Е. Сергеева. – Чебоксары, 2000. – 83 с.
48. Ball S. G. The effect of carbidopa administration on urinary sodium excretion in man, is dopamine on intrarenal natriuretic hormone / S. G. Ball, M. R. Lee // Brit. J. Clin. Pharmacol. – 1977. V. 4. – N6. – P. 115-119
49. Bachmann S., Mundel P. Nitric oxide in the kidney: synthesis, localization, and function / S. Bachmann, P. Mundel // Am. J. Kidney Diseases. – 1994, Vol. 24, N 1. – P. 112-129.
50. Barret K. Heterogeneity of mast cells. In: Uvs B. (Ed.). / K. Barret, F. Pearce // Histamine and Histamine Antagonists. – 1991. – V. 97. – P. 93-116.
51. Coupland R. E. Chromaffin cells, mast cells and melanin. II.

2001, Т. 5, N 3. – С. 103.

30. Козлов В.А. Содержание некоторых медиаторов в интактных почках крыс / В. А. Козлов, О. С. Глазырина, А. Ю. Толмачева // Нефрология и диализ. – 2003, Т. 5, № 3. – С. 232-233.

31. Крохина Е. М. Симпатический (адренергический) компонент эффекторной иннервации сердечной мышцы / Е. М. Крохина, П. Н. Александров // Кардиология. – 1969. N 3. – С. 97-102.

32. Кукес В. Г. Клиническая фармакология / В. Г. Кукес. – М. : Медицина, 2000. – 528 с.

33. Малкоч А. В. Физиологическая роль оксида азота в организме / А. В. Малкоч, В. Г. Майданник, Э. Г. Курбанова // Нефрология и диализ. – 2000, Т. 2, №1-2. – С. 69-75.

34. Мосаклева Е. С. Состояние иммунной системы при идиопатическом нефротическом синдроме / Е. С. Мосаклева [и соавт.] // Нефрология и диализ. – 2000, Т. 2, №3. С. 36-40.

35. Ноздрюхина Л. Р. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека / Л. Р. Ноздрюхина. – М. : Наука. – 1977. 184 с.

36. Ноздрюхина Л. Р. Микроэлементы и атеросклероз / Л. Р. Ноздрюхина, Е. М. Нейко, И. П. Ванджура. М. : Наука, 1985. 220 с.

37. Патент N 2159433 Российская Федерация, МПК⁷ G 01 N 33/49, 33/50. Способ определения ацетилхолина / В. А. Козлов, А. Ю. Уфукова, А. С. Толмачев; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова». – № 99122530/14(023906); заявл. 27.10.99; опубл. 20.11.2000, Бюл. № 32.

38. Смирнова В. И. Люминесцентно-гистохимический анализ действия адренотропных препаратов и серотонина на почку: автореф. дис. ... канд. мед. наук / В. И. Смирнова; Чебоксары, 1976. – 24 с.

39. Сусликов В. Л. Геохимическая экология болезней: В 4 т. Т. 2: Атомовиты / В. Л. Сусликов. – М. : Гелиос АРВ. – 2000. – 672 с.

ГЛАВА 1. Тучные клетки: общая характеристика, классификация, роль в реализации почечных функций

Тучные клетки впервые описаны Р. Ehrlich в 1887 г. Это функционально лабильная группа клеток, расположенная во всех органах и тканях, задачей которых является регуляция состояния гистиона [17, 62], где они выполняют две основные функции: 1) образование межклеточного вещества путем синтеза сульфатированных гликозамингликанов, а также 2) синтез, накопление и экзоцитоз биологически активных веществ, влияющих на микроокружение [18, 21]. Тучные клетки являются одним из клеточных элементов соединительной ткани и встречаются всюду, где имеется хотя бы незначительная прослойка этой ткани. Наиболее богаты тучными клетками кожа и подкожная клетчатка. В паренхиматозных органах они в основном локализуются в капсуле или трабекулах [4, 10, 12, 14, 15]. Популяция тучных клеток серозных оболочек, видимо, является самостоятельным образованием, гистохимически отличным от тучных клеток кожи и органов [7].

Молодые мастоциты, вероятно, происходят из клеток, подобных средним лимфоцитам, которые также активно синтезируют гепарин, и с током крови распределяются по органам и тканям, и рассматриваются как разновидность макрофагальных элементов, способных поглощать избыток биогенных аминов [10].

Поскольку тучные клетки – обязательный компонент соединительной ткани, количество их у различных животных сильно варьирует: много тканевых базофилов у крысы, мыши, кошки, собаки, лошади, мало – у морской свинки, зайца, кролика. Их количество и распределение в организме в достаточной степени индивидуально, зависит от возраста и видовой принадлежности [10, 44, 45, 46].

Некоторые виды и роды животных обладают определенной стабильностью содержания тучных клеток, даже, несмотря на достаточно большой количественный разброс у различных особей одного вида. Пределы колебания числа клеток у

особей одного рода ограничены и четко отличаются от таких же пределов у других родов того же семейства [10].

Определение абсолютного количества тучных клеток на единицу объема ткани – трудная задача. Обычно подсчет клеток ведется в процентах от общего количества клеток или путем подсчета общего количества клеток на определенную площадь исследуемого препарата (число мастоцитов на каждые n полей зрения микроскопа при выбранном увеличении) [10]. Последний вариант нам показался более информативным, поэтому мы в нашей работе подсчитывали количество тучных клеток в поле зрения, указывая кратность объектива.

Классификация тучных клеток. Выделяют различные типы тучных клеток в зависимости от локализации, происхождения, строения и функциональных особенностей [44, 45, 46]. Наиболее распространенными являются типичные тучные клетки (I тип), располагающиеся в соединительной ткани большинства органов, ко II типу относятся атипичные мастоциты (интестинальные), расположенные в слизистой оболочке кишечника [59].

Цитохимически тканевые базофилы различаются стадией развития и функционирования [3, 10, 14, 15]. В связи с чем, существует несколько классификаций различных форм тучных клеток. Выделяют три типа тучных клеток:

I – относительно небольшие, ортохроматичные при окраске толуидиновым синим (метод Унна), с ШИК-позитивной зернистостью;

II – более крупные с обильной метахромазией, ШИК-позитивной зернистостью;

III – клетки с выраженной дегрануляцией (выход гранул в межклеточное пространство).

Выделяют также и IV тип – опустошенные в результате секреции клетки, которые почти или совсем не содержат гранул и дают лишь мелкую гомогенную метахромазию или ШИК-положительную окраску цитоплазмы.

21. Зуга М. В. Тучные клетки и их значение в физиологии и патологии легких / М. В. Зуга, В. А. Невзорова, Б. И. Гельцер // Терап. архив. – 1999, Т. 71, № 3. – С. 76-80.

22. Зуфаров К. А. Возрастная динамика популяции и плотности расположения тучных клеток в слизистой оболочке бронхов у человека / К. А. Зуфаров и соавт. // Морфология. – 2002, № 2. – С. 78-80.

23. Клименко Н. А. Взаимодействие тучных клеток с лейкоцитами в повышении проницаемости сосудов очага воспаления / Н. А. Клименко // Бюл. эксперимент. биол и мед. – 1992, № 3. – С. 28-30.

24. Клименко Н. А. Влияние тучных клеток на костномозговые механизмы регуляции гемопоза при воспалении / Н. А. Клименко, А. М. Дыгай // Бюл. эксперимент. биол и мед. – 1991, № 4. – С. 16-19.

25. Козлов В. А. Ацетилхолин, серотонин и гистамин – недоучтенные факторы патогенеза сердечной недостаточности / В. А. Козлов, О. С. Глазырина, А. Ю. Толмачева // Третья всероссийская с международным участием школа-конференция по физиологии кровообращения: сб. научн. тр. МГУ. – Москва, 2004. – С. 41-42.

26. Козлов В. А. Водная депривация влияет на экстранейрональный медиаторный пул почек белых крыс и почечную популяцию тучных клеток / В. А. Козлов, О. С. Глазырина, А. Ю. Толмачева // Нефрология. – 2003. – Т. 7, N 2. – С. 76-81.

27. Козлов В. А. К вопросу о морфофункциональных отношениях в почке / В. А. Козлов, О. С. Глазырина, А. Ю. Толмачева // Механизмы функционирования висцеральных систем: сб. научн. тр. – С.П-б, 2005. – С. 111-117.

28. Козлов В. А. Локализация и состояние тканевых транмиттерных систем в норме и эксперименте / В. А. Козлов. – М. : ОАО Щербинская типография 2006. – 124 с.

29. Козлов В.А. Влияние фамотидина на активность некоторых почечных дегидрогеназ при водной нагрузке / В. А. Козлов, А. Ю. Уфукова, А. С. Толмачев // Нефрология. –

12. Гиреев Г. И. Роль соотношения меди к молибдену в метаболизме нуклеиновых кислот в организме животных / Г. И. Гиреев, С. Г. Луганова // Геохимическая экология и биогеохимическое изучение таксонов биосферы: Материалы четвертой российской биогеохимической школы / Отв. редактор В. В. Ермаков. – М. : Наука, 2003. С. 283-285.
13. Гордон Д. С. Тучные клетки в эксперименте. Методические указания к выполнению факультативных практических и лабораторных работ / Д. С. Гордон. – Чебоксары : изд-во Чув. ун-та, 1983. 44 с.
14. Гордон Д. С. Активность и распределение биогенных аминов в структурах тимуса и селезенки при введении изо- и гетерологических эритроцитов / Д. С. Гордон, В. Е. Сергеева, Н. Н. Голубева // Бюл. эксперим. биол. – 1978, № 8. – С. 245-247.
15. Гордон Д. С. Нейромедиаторы лимфоидных органов / Д. С. Гордон, В. Е. Сергеева, И. Г. Зеленова. – Ленинград : Наука, 1982. – 128 с.
16. Гуревич К. Г. Нарушения обмена микроэлементов / К. Г. Гуревич // Вопр. биол., мед. и фармацевт. химии. – 2002, № 2. – С. 7-15.
17. Дзодзикова М. Э. Органная гетерогенность тучных клеток в норме и при воздействии постоянных магнитных полей: автореф. дис. ... канд. биол. наук / М. Э. Дзодзикова; Москва, 1999. – 32 с.
18. Дзодзикова М. Э. Тучные клетки молочной железы в процессе формирования рака молочной железы в эксперименте / М. Э. Дзодзикова [и др.] // Вестник кавказского научного центра. – 2003, Т. 3., № 4. – С. 37-43.
19. Западнюк И. П. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. – Киев, 1983. – 383 с.
20. Зуга М. В. Активность НАДФ-диафоразы и состояние тучных клеток бронхов при вагусной деафферентации легкого крысы / М. В. Зуга [и др.] // Пульмонология. – 1997, № 3. – С. 39-46.

По другой классификации определяют следующие клеточные формы мастоцитов [3]:

- I – обычные, зрелые тучные клетки, цитоплазма которых заполнена высокосульфатированными метахроматическими гранулами,
- II – тучные клетки с ореолом метахромазии вокруг;
- III – дегранулирующие;
- IV – тучные клетки с лизированными гранулами-вакуолями;
- V – распадающиеся тучные клетки.

По морфологическим признакам различают следующие типы лейкоцитов [10]:

- I – нормальные,
- II – дегранулирующие,
- III – с глыбчатой недифференцированной гранулярностью,
- IV – разрушенные.

Кроме того, тучные клетки дифференцируют по степени зрелости (юные, средней степени зрелости, зрелые), по степени дегрануляции (гранулирующие, частично дегранулирующие, дегранулированные). Явления дегрануляции и гранулолизиса, наличие митозов свидетельствует о том, что процесс вызревания, секреции и дегрануляции есть результат циклических изменений клетки.

При окраске по Унна (толуидиновым синим) по метахромазии выделяют следующие типы тучных клеток [44]:

- α -ортохроматические – голубая цитоплазма с несульфатированным незрелым гепарином;
- β_1 -метахроматические – фиолетовая цитоплазма с гранулами сульфатированного незрелого гепарина;
- β_2 -метахроматические – фиолетовая цитоплазма с красноватым оттенком с сульфатированным созревающим гепарином;
- β_3 -метахроматические – красно-фиолетовая цитоплазма с почти зрелым гепарином;
- γ -метахроматические – пурпурные гранулы со зрелым, полностью сульфатированным гепарином.

По степени дегрануляции [3, 10, 44, 46] различают:

T₀ – гранулы плотно располагаются в цитоплазме и визуально

не просматриваются;

T₁ – гранулы внутри клетки, хорошо просматриваются, мембрана не повреждена;

T₂ – гранулы частично выходят за пределы неповрежденной цитоплазматической мембраны;

T₃ – цитоплазматическая мембрана разорвана, клетка полностью дегранулирована.

При окраске альциановым синим и сафранином по Спайсеру [44, 46] тучные клетки типизируют как:

1) развивающиеся – сафраниновое ядро и сафранинофильная цитоплазма;

2) реализующие программу – альцианофильное ядро и альцианофильная цитоплазма;

3) завершающие свою программу – сафраниновое ядро и альцианофильная цитоплазма;

4) абортивно гибнущие – частичная или полная дегрануляция с разрушением цитомембраны.

Функциональные особенности тучных клеток. На численность тучных клеток оказывает влияние огромное количество факторов. Изменение популяции тучных клеток происходит как в условиях повышенной физиологической активности, так и при различной внутренней патологии и действии внешних дестабилизирующих факторов [2, 3, 10, 12, 14, 44, 46, 47]. В межсосудистых участках соединительной ткани у большинства видов животных тучные клетки располагаются поодиночке или небольшими группами. Нередко образуют пары, как результат митотического деления. Часто организуются в цепочки без связи с кровеносными сосудами или нервами. Способны образовывать компактные группы по 25-30 тучных клеток, что говорит о тесном контакте между собой [2, 3, 10].

Тканевые базофилы способны образовывать группы с другими клетками соединительной ткани [10, 32, 44, 46]. При иммунизации они выстраиваются в цепочки [16]. Образуют мастолимфоцитарные розетки [10, 16]. Характеризуются выраженным полиморфизмом, различием размеров даже в пре-

Список литературы

1. Авцын А. П. Микроэлементозы человека / А. П. Авцын [и др.]. – М.: М, 1991. – 496 с.
2. Азнаурян А. В. Тканевые базофилы в тимусе / А. В. Азнаурян, Э. С. Акопджанян, С. Ц. Чилингарян // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1984. – Т. 86, № 4. – С. 45-47.
3. Бородин Ю. И. Морфофункциональная оценка воздействия биологически активной добавки «Литовит» на органы и системы организма / Ю. И. Бородин [и др.]. – Новосибирск, 2000. – 216 с.
4. Бочкарев В. А. Сравнение гистохимических свойств различных популяций (перитонеальных и мезентериальных) тучных клеток в условиях дисбаланса биогенных аминов: автореф. дис. ... канд. мед. наук / В. А. Бочкарев; Москва, 1988. – 20 с.
5. Бузников Г. А. Нейротрансмиттеры в эмбриогенезе / Г. А. Бузников. – М.: Наука, 1987. – 352 с.
6. Бузников Г. А. Низкомолекулярные регуляторы эмбрионального развития / Г. А. Бузников. – М.: Наука, 1967. – 256 с.
7. Быков В. Л. Развитие и гетерогенность тучных клеток / В. Л. Быков // Морфология 2000, т. 117, № 2. – С. 86-92.
8. Быков В. Л. Секреторные механизмы и секреторные продукты тучных клеток / В. Л. Быков // Морфология. – 1999. – Т. 115, № 2. – С. 64-72.
9. Быков В. Л. Развитие и гетерогенность тучных клеток / В. Л. Быков // Морфология. – 2000, т. 117, № 2. – С. 86-92.
10. Виноградов В. В. Тучные клетки (генез, структура, функции) / В. В. Виноградов, Н. Ф. Воробьева. – Новосибирск: Наука, 1973. – 126 с.
11. Воденичаров А. Тучные клетки в автономном ганглии и нервах, а также в мелких кровеносных сосудах ворот почек свиньи / А. Воденичаров // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2008, № 3. – С. 31-33.

клеток почечной капсулы и кортикального слоя почки связаны, как это имеет место и в других тканях и органах [4, 14, 15, 47], с изменением трансмиттерного статуса. Однако если у интактных животных наблюдается положительная корреляция между тканевыми концентрациями трансмиттеров и количеством тучных клеток в условиях реализации ответа на изменение водного баланса, то хроническое питьевое потребление микроэлементов ломает эти отношения, что свидетельствует о прямом влиянии микроэлементов на функциональную способность тучных клеток.

Способность тучных клеток почечной капсулы и почки к закономерной реакции в наших экспериментах подтверждается получением противоположных реакций на питьевое потребление ионов антагонистов [1] цинка и меди. Наблюдается увеличение количества тучных клеток у крыс, потреблявших ионы меди и полное опустошение мастоцитарного пула почки и ее капсулы в результате гидратации на фоне приема Zn^{++} . Если потребление ионов меди индуцировало увеличение количества тучных клеток и степень их зрелости (увеличивается доля γ -метахроматичных клеток), усиливающиеся водной нагрузкой, то в присутствии цинка наблюдалось «омоложение» популяции в ответ на водную нагрузку (появление T_0 форм тучных клеток – клетки с четко дифференцируемым ядром и малым количеством гранул).

Представленные данные позволяют сделать вывод, что тучно-клеточная популяция почки и ее капсулы является еще одной особой, ранее не изученной регуляторной системой почки, выполняющей адаптивную саногенную функцию.

делах одной локализации. Могут быть округлыми, веретеновидными, иногда отростчатыми. У различных видов животных размеры тучных клеток варьируют в широких пределах, однако, различия в величине тканевых базофилов у представителей одного и того же вида, как правило, невелики, в пределах 5-10 мкм [10]. Пополнение тучноклеточной популяции в тканях происходит путем дифференциации из предшественников, а также путем митотического и amitotического деления молодых форм [10].

Характерная особенность тучных клеток – содержание в цитоплазме специфических базофильных метахроматичных гранул. Количество и величина гранул варьирует в широких пределах. У большинства животных на них приходится 93 % массы всей клетки. В одной и той же тучной клетке можно заметить гранулы различных размеров, что связано с различным их возрастом [1, 3, 10].

Одной из важнейших функций тучных клеток является способность к секреции, морфологически проявляющаяся дегрануляцией и гранулолизисом (внутриклеточное растворение и слияние гранул) [10]. Секреция тканевых базофилов может быть мерокриновой (выделение биологически активных веществ без дегрануляции), апокриновой (дегрануляция) и голокриновой (протекает с разрушением клетки) [44, 45, 46]. Мастоциты продуцируют, депонируют и выделяют гепарин, кислые гликозаминогликаны, протеолитические ферменты, гистамин, и другие биологически активные вещества [3], а также активно поглощают тканевые трансмиттеры из межклеточного пространства. Тучные клетки являются огромным по емкости депо гистамина, серотонина и катехоловых аминов [47].

Все биологически активные вещества, содержащиеся в тучных клетках, можно подразделить на 2 группы: 1) постоянно присутствующие в клетке и 2) образующиеся вновь в период сенсibilизации после взаимодействия тучной клетки с антигеном. К первой группе относятся гепарин, гистамин, эозинофильный хемотаксический фактор анафилаксии, серо-

тонин; ко второй – медленно реагирующая субстанция анафилаксии, простагландины, фактор, активирующий тромбоциты, нейтрофильный хемотаксический фактор анафилаксии [42, 78].

Одним из основных компонентов тучноклеточных гранул является гепарин, который и обуславливает интенсивную окраску основными красителями. Большая часть гепарина прочно связана внутри гранул и высвобождение его возможно только после разрушения мастоцитов. Структура гранулы напоминает слоеный пирожок, в центре которого располагается липопроteid, с ним связывается биогенный амин, который покрывается слоем гепарина [47]. Спектр биологической активности гепарина очень широк – он обладает антикоагулянтным, антилипидемическим, антимитотическим свойствами, регуляторным влиянием на ряд ферментных систем [32]. Благодаря высоким антикоагулянтным и гидрофильным свойствам, гепарин, выделяемый тучными клетками, поддерживает стабильное состояние коллоидов основного вещества соединительной ткани и регулирует насыщенность ее водой, то есть, обеспечивает определенный уровень локальных тканевых обменных процессов [10].

Мастоциты также содержат гистамин, синтез которого происходит в межгранулярной цитоплазме, затем включается в состав гранул, где связывается с комплексом белок-гепарин; гистамин связан в гранулах менее прочно и легко удаляется из гранул растворами электролитов [10]. Гистамин является одним из участников нейроэндокринной регуляции ряда функций, как в условиях интактного организма, так и при патологии. Экспериментально доказана четкая положительная связь между числом тучных клеток и количеством гистамина в различных органах разных животных в норме и патологии [15, 20, 23, 44, 46].

Тучные клетки способны не только самостоятельно синтезировать такие биологически активные вещества, как серотонин, дофамин и гистамин, но и захватывать их извне. Экспериментально доказано также, что мастоциты очищают

Заключение

Как и предполагалось, функционирование гистиона в почке тесно связано с жизнедеятельностью тучных клеток. На основе полученных данных можно утверждать, что в почке крысы существует как минимум два пула тучных клеток: 1) почечная популяция лаброцитов с преимущественной локализацией клеток в субкапсулярной зоне коркового слоя и единичными мастоцитами мозгового вещества; и 2) более многочисленная популяция мастоцитов почечной капсулы.

Тучные клетки почки, как функционально подвижный клеточный пул, способны к активным быстрым, целенаправленным и закономерным реакциям в ответ на изменения гомеостаза, вызванные внешними воздействиями, такими как: увеличение объема воды в организме, изменение микроэлементного статуса (цинк, медь, молибден) и индуцированное этими воздействиями адаптивное изменение тканевых концентраций транмиттеров (ацетилхолин, катехоламины, серотонин, гистамин). Это наше мнение подтверждается обнаружением градиента распределения тучных клеток в почке с максимумом в почечной капсуле и кортикальном слое, тогда как в мозговом веществе и в области сосочка мастоциты наблюдались как единичное явление. В то же время, почечная капсула и кортикальная область почки являются наиболее иннервированными областями почки и местами максимального синтеза биологически активных веществ, по крайней мере ацетилхолина [28, 55, 76, 77] и дофамина [48, 61, 80, 82]. Ранее нами было обнаружено, что реакции тканевых транмиттеров почки и почечной капсулы и на предъявляемые воздействия противоположны [28], аналогичную реакцию мы наблюдали и в отношении ответа тучных клеток на аналогичные воздействия. Очевидно, что зафиксированные нами изменения количественного и качественного состава тучных

леточной популяции в реализации интегрального диуретического ответа на увеличение объема циркулирующей крови требует отдельного подробного изучения.

Таким образом, избыточное поступление молибдена инициирует уменьшение люминесценции изучаемых веществ в почечной капсуле (в отличие от эксперимента с цинком, в ходе которого у контрольных крыс произошло увеличение содержания серотонина и катехоламинов). Проведение гидратации у таких животных также приводит к дальнейшему падению уровня медиаторов (при изолированной водной нагрузке наблюдалось увеличение уровня биологически активных веществ).

Как и предполагалось, 24-недельное избыточное поступление двухвалентных ионов Zn^{++} , Cu^{++} и Mo^{++} значительно повлияло на количественный и качественный состав тучноклеточной популяции почки и ее капсулы, а также трансмиттерное обеспечение тканевых структур почки. Причем, наблюдалась худшая переносимость нагрузки медью, чем цинком с 25 % падежом подопытных самок. На этом основании можно предположить, что избыток меди вызывает более грубые нарушения функционирования физиологических систем. Проводимая на этом фоне гидратация сильно изменила содержание тканевых медиаторов и фазность их ответа на нагрузку. Со стороны тканевых базофилов изменения также значительные, как в количественном, так и качественном отношении. Причем, в ответной реакции аутокидов и тучных клеток почки и ее капсулы прослеживается четкий антагонистический ответ на длительный прием Zn^{++} и Cu^{++} .

ткань не только от избытка биогенных аминов (серотонин, гистамин), но и от избытка их предшественников (триптофан, гистидин). При этом, концентрация гистамина или серотонина в окружающей ткани является фактором, индуцирующим или ингибирующим формирование тучных клеток [10].

Серотонин, в отличие от гистамина, не образует с гепарином сколько-нибудь стабильного комплекса, но может выступать в роли гистамин-либератора [10]. В гранулах мастоцитов также было найдено высокое содержание цинка, который образует комплекс гепарин-цинк-гистамин [10].

Наряду с макрофагами, нейтрофилами, эндотелиальными и гладкомышечными клетками, в тканевых базофилах обнаружена индуцибельная NO-синтаза, позволяющая этим клеткам участвовать в таких важных процессах как: вазодилатация, снижение агрегации тромбоцитов, иммунный ответ, регуляция тонуса гладких мышц и ряд патологических процессов [33].

В тучных клетках обнаружен экстрапинеальный (то есть вне шишковидной железы) периферический синтез мелатонина, гормона, обладающего выраженным антиоксидантным, онкопротекторным, иммуномодулирующим эффектом. Выработка в них мелатонина, как и его предшественника – серотонина, не зависит от уровня освещенности. Внеэпифизарный мелатонин играет роль паракринной сигнальной молекулы в местной организации клеточных функций и межклеточных связей, а также может действовать как типичный гормон, достигая отдаленные клетки-мишени с помощью кровотока. Экспериментально доказано, периферический мелатонин способен ингибировать NO-синтазу [33].

Тучные клетки являются одним из важнейших компонентов воспалительной реакции, что обусловлено их способностью к продукции гепарина, гистамина, ряда протеаз, а также стимуляции фибробластов к продукции коллагена в очаге воспаления [62]. Известно также, что процессы ранозаживления и образования рубцовой ткани могут протекать и без участия лейкоцитов, а в самой рубцовой ткани тучных клеток

нет. Однако значительное количество этих клеток обнаруживается в келоидных рубцах (т.е. при измененном коллагенозе), при этом они не стимулируют, а ингибируют развитие грубой коллагеновой ткани [10].

Тучные клетки взаимодействуют (в том числе и путем тесного контакта) с различными клетками организма, фагоцитируют гранулы тканевых базофилов, клетки соединительной ткани (гистиоциты и фибробласты), а также макрофаги, лейкоциты, эпителиальные и гладкомышечные клетки [44, 46].

В опытах *in vitro* гистамин и серотонин, через специфические рецепторы на поверхности лейкоцитов и изменение соотношения циклических нуклеотидов в клетках, могут модулировать различные функции лейкоцитов (хемотаксис, хемокинез, дегрануляцию, образование свободных радикалов) [23]. В свою очередь, лейкоцитарные факторы контролируют высвобождение ими медиаторов-модуляторов и дегрануляцию тучных клеток [23]. Кроме того, интересна роль мастоцитов не только как локальных участников воспаления, но и как дистантного фактора, модулирующего функции различных лейкоцитов и влияющего на гемопоезтиндуцирующее микроокружение [44, 46]. Так, например, гистамин тучных клеток вызывает не только миграцию эозинофилов в ткани, но и стимулирует их продукцию костным мозгом [45, 46]. Одним из примеров дистантного взаимодействия является эксперимент, в котором на тучные клетки кожи воздействовали холодной водой, стимулируя их дегрануляцию, результатом явилась гиперсекреция желез желудка [44, 45, 46].

Мастоциты какого-либо органа (численность и морфофункциональные особенности) могут рассматриваться как своеобразный индикатор функциональной напряженности органа или ткани [10]. Все перечисленные свойства и особенности тучных клеток, в сочетании со способностью к активному движению (хемотаксису), позволяет считать лаброциты компонентом межклеточной (паракринной) и внутритканевой регуляции и рассматривать тучные клетки как «одноклеточную железу». Тучные клетки считаются важным фактором ангио-

цирует увеличение степени зрелости мастоцитов. Как следует из результатов наших экспериментов, молибден наименьшим образом изменил ответную реакцию лаброцитов капсулы на водную нагрузку. Возможно, что Mo^{++} , в какой-то мере, селективно токсичен в отношении деления различных клеток, что требует дополнительного исследования.

Поступление молибдена в организм крыс инициирует уменьшение люминесценции изучаемых веществ в почечной капсуле (в отличие от эксперимента с цинком, в ходе которого у контрольных животных содержание серотонина и катехоламинов увеличивалось). Проведение водной нагрузки у этих животных индуцирует дальнейшее падение уровня транмиттеров, тогда как при водной нагрузке наблюдалось увеличение уровня биологически активных веществ. Возможно, такое поведение транмиттеров связано с прямым токсическим влиянием молибдена на клетки и, как следствие, снижением функциональной активности и секреторного потенциала.

Полученные нами данные позволяют рассматривать тучно-клеточную популяцию почки и ее капсулы как особую, ранее не изученную, регуляторную систему. Которая, в условиях обычной жизнедеятельности, вероятно, выполняет саногенную детоксицирующую функцию, а при гиперстимуляции может являться механизмом, запускающим фиброз почки.

Из наших данных следует, что почечная капсула не является пассивным вместилищем почки. Это функционально активная структура, реагирующая на изменение состояния почки и принимающая участие в ответе данного органа на физиологически привычную нагрузку. Ответ почечной капсулы может запускаться, например, в результате увеличения тургорного давления почки при водном диурезе. Косвенным подтверждением правомочности такого предположения являлось начало ответа в почечной капсуле, как правило, на высоте почечной реакции, когда гидратированность почки при нагрузке объемом максимальна, а, следовательно, максимально тургорное давление. Однако роль почечной капсулы и ее тучнок-

зано, что выделенные из микроорганизмов и органов животных препараты ДНК связывают кальций, марганец, медь, молибден и другие металлы, при этом данные микроэлементы изменяют биохимические и физические свойства ДНК и играют определенную роль в нуклеиновом обмене [12]. Такое взаимодействие с генетическим аппаратом не может не сказаться на функциональных особенностях клетки. Вероятно, поэтому в условиях дополнительной нагрузки (гидратация) их активность снижается. Однако данное утверждение требует дальнейшего изучения.

Наличие только γ -клеток у контрольных животных, длительно потреблявших молибден, свидетельствует о высокой степени зрелости тучных клеток, появление β - и ортохроматичных лаброцитов в препаратах в первые 2 ч гидратации говорит, вероятно, о процессе обновления в популяции тучных клеток с последующим «дозреванием» тучных клеток (исчезновением орто- и появлением γ -клеток). Механизмы такого влияния молибдена на тучные клетки не выяснены и также требуют дальнейшего изучения.

Молибден в почке уменьшал флуоресценцию ацетилхолина, и увеличивал тканевые концентрации гистамина, катехоламинов и серотонина в проксимальных канальцах. Водная нагрузка на фоне длительного приема ионов этого металла резко увеличивала содержание ацетилхолина во всех почечных структурах, причем, в первые же часы после гидратации (в отличие от эксперимента с цинком и медью, где экстремумы флуоресценции совпадали с пиком диуреза). Такое усиление холинэргического обеспечения почечных структур может быть связано напрямую с потреблением молибдена, который является организатором аллостерического центра NADPH-зависимой дегидрогеназы, цитозольная часть которой является NO-синтетазой. Как известно многие эффекты ацетилхолина реализуются посредством синтеза NO [20, 33, 48, 83].

Длительное водное потребление молибдена увеличивает общее число и отдельные морфологические формы тучных клеток почечной капсулы, а водная нагрузка на его фоне ини-

генеза [62]. А пересадка под капсулу почки островковой ткани поджелудочной железы вызывает скопление тучных клеток в капсуле почки над участком трансплантации, то есть, лаброциты, возможно, участвуют в процессе приживления пересаженного органа [62].

Почечная популяция тучных клеток. Сведения о тучно-клеточной популяции почки в доступных литературных источниках очень скудны. Авторы одних публикаций утверждают, что изменение числа тучных клеток почки не постоянно, не закономерно и поэтому не может быть использовано для целей научного или клинического исследования [73], при этом тучные клетки почечной капсулы именуется «... Забытыми клетками» [78]. В обнаруженных нами литературных источниках мастоцитам почки отводится роль участника воспалительного процесса и фиброза [66], например, в развитии почечного фиброза диабетического генеза, а также индуцированного применением цитостатиков [66, 75]. Тучным клеткам отведена не последняя роль в развитии идеопатического нефротического синдрома – выдвинута гипотеза, согласно которой реакции IgE-аллерген происходят не в гломерулах, а на базофилах в русле крови или в тучных клетках, а проникающие в почку медиаторы, выделенные тучной клеткой, вызывают повышение проницаемости гломерулярной базальной мембраны и запускают воспалительный процесс [34].

Однако, обладая столь уникальным набором свойств, сложным циклом созревания и функционирования, являясь, по сути, «одноклеточной железой», мастоциты почки и почечной капсулы, вероятно, участвуют в других сложных процессах, например, в реализации интегрального ответа почки на водную нагрузку. О популяции тучных клеток почечной капсулы и их поведении при каких-либо функциональных, фармакологических или токсических воздействиях нами в доступной литературе сведений обнаружено не было. В связи с чем, нами была предпринята попытка изучения популяции тучных клеток почки и почечной капсулы.

Для изучения была выбрана модель максимально перено-

симой водной нагрузки, поскольку почка, наряду с сердечно-сосудистой системой, в этих условиях является наиболее функционально нагруженным органом. Кроме того, поскольку мастоциты активно перемещающиеся клетки, а движение таких клеток обеспечивается работой микротрубочек, сокращение которых осуществляется цинкзависимым способом [1], то было-бы интересно проследить влияние цинка и его антагонистов – меди и молибдена – на популяцию тучных клеток почки. С другой стороны, тучные клетки, как уже упоминалось выше, являются продуцентами и поглотителями многих биологически активных эндогенных веществ, а медь, цинк и молибден, как микроэлементы, принимают участие в процессах синтеза и биodeградации таких тканевых транsmиттеров, как ацетилхолин, катехоламины, серотонин и гистамин. Роль этих веществ в тканевой паракринной регуляции была показана ранее Г. А. Бузниковым [5, 6] и нами [28].

В то же время обнаружено присутствие тучных клеток в уретре, почках, их кровеносных сосудах и лоханке свиньи [11]. Авторами были обнаружены тучные клетки в воротах почек, причем некоторые из них находились поблизости от автономных нервов и крупных кровеносных сосудов. Значительное количество тучных клеток обнаруживается в периваскулярной ткани почек морской свинки [60].

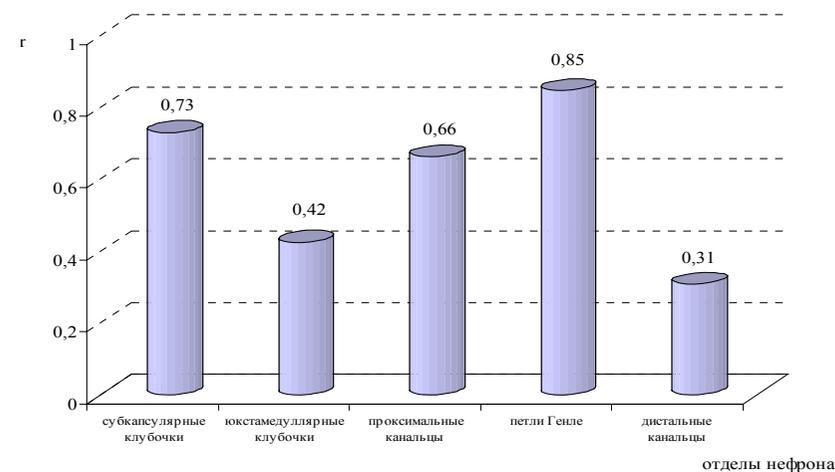


Рис. 54. Влияние водной нагрузки на корреляцию между общим числом мастоцитов и флуоресценцией катехоламинов в структурах почки в условиях предшествующего потребления Mo^{++} . Достоверная положительная средне-сильная связь для катехоламинов субкапсулярных клубочков, проксимальных канальцев и петель Генле.

Корреляционные отношения между свечением серотонина и общим числом тучных клеток носили обратный характер и были средние по силе ($r=-0,63$, $p<0,05$); для катехоламинов выявлена более сильная отрицательная зависимость ($r=-0,75$, $p<0,05$).

Длительное питьевое потребление ионов молибдена в корковой области почки крыс увеличивает общее число и количество целых тучных клеток; в течение первых 2-х ч после проведения гидратации имеет место снижение общего количества мастоцитов и появление форм с дегрануляцией; однако, еще через 1 ч количество тучных клеток поднимается до контрольного значения с охранением в популяции дегранулирующих лаброцитов. Такое поведение тканевых базофилов отличается от реакции тучных клеток в предыдущих экспериментах с водой, цинком и медью. Молибден, по-видимому, являясь тяжелым металлом, обладает прямым цитотоксическим действием на клетки. Так, например, в ряде работ пока-

ГЛАВА 2. Популяция тучных клеток почки и почечной капсулы интактных крыс

Не смотря на то, что гистоморфология тучных клеток описана достаточно полно [2, 3, 4, 7, 8, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 22, 23, 42, 44, 45, 46 и мн. др.], почечная популяция этих клеток, в том числе у лабораторных крыс, как мы упоминали выше, осталась практически без внимания исследователей. То есть, физиология тучных клеток почки остается недостаточно изученной, поэтому следует признать, что поскольку физиологическая норма функционального покоя не определена, то невозможно оценить и физиологическую норму гомеостатической реакции на меняющиеся условия внутренней среды организма. Поэтому мы начали наше исследование с определения места локализации тучных клеток в почке и формирования базы данных, которую можно было с некоторыми допущениями условно считать нормой.

Тучноклеточная популяция почки и ее капсулы в условиях обычной жизнедеятельности нами была исследована на материале 15-ти интактных крыс. Во всех опытах отбор, observation животных и количество проведенных экспериментов осуществляли согласно рекомендациям И. М. Трахтенберга и соавт. [41]. В этом и других наших экспериментах крысы подвергались эфирной эвтаназии, после чего почки были заморожены на предварительно охлажденных до -21°C криостатных блоках. При этом, из одной почки были изготовлены срезы толщиной 20μ , а контрлатеральная почка служила для получения препаратов почечной капсулы, которую снимали с почки после подмораживания и монтировали на предварительно охлажденные предметные стекла. Для выявления тучных клеток криостатные срезы почки и препараты растянутой на стекле капсулы фиксировали 10 % формалином 10 мин, затем ополаскивали в дистиллированной воде и покрывали краской Унна на 15 мин. Краску смывали подкисленным уксусной кислотой спиртом, а затем 96° спиртом, высушивали толуидином и заделывали в бальзам. С помощью световой

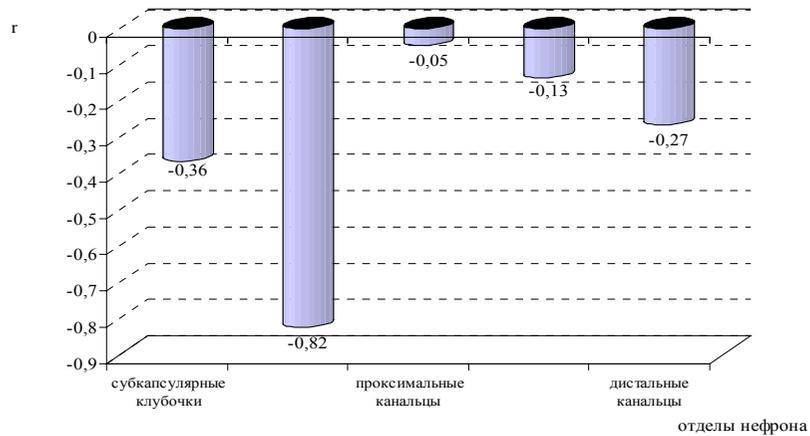


Рис. 52. Влияние водной нагрузки на корреляцию между общим числом мастоцитов и флуоресценцией гистамина в структурах почки в условиях предшествующего потребления Mo^{++} .
Обратная сильная зависимость в проксимальных клубочках

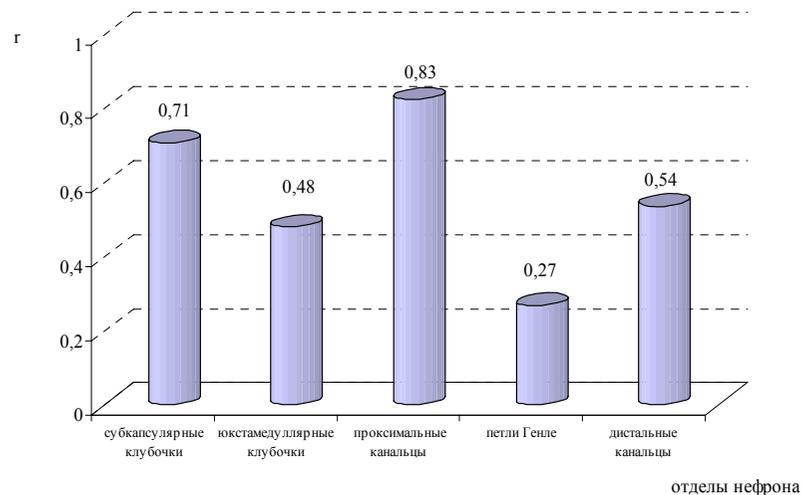


Рис. 53. Влияние водной нагрузки на корреляцию между общим числом мастоцитов и флуоресценцией серотонина в структурах почки в условиях предшествующего потребления Mo^{++} .
Прямая сильная зависимость для амина субкапсулярных клубочков и проксимальных каналцы и средней степени для дистальных каналцев.

микроскопии (объектив 40[×], окуляр 10[×]) производился подсчет количества тучных клеток в поле зрения по степени дегрануляции (целые, дегранулирующие, тотально распавшиеся) и метахромазии (орто-, β- и γ-метахроматичные) с дальнейшей статистической обработкой результатов.

На фронтальных срезах почки лабораторной крысы тучные клетки располагаются градиентно: большая часть локализована в капсуле (Фото 1), небольшое количество мастоцитов располагается в субкапсулярной зоне коркового вещества, иногда образуя цепочки из нескольких клеток, (Фото 2), единичные мастоциты обнаруживаются в паренхиме мозгового вещества почки (Фото 3). Все выявляемые тканевые базофилы у интактных животных принимали β-метахроматичную окраску.

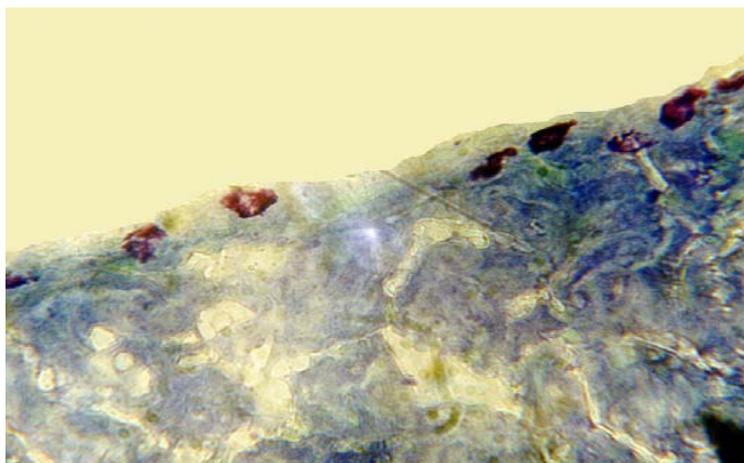


Фото 1. Расположение тучных клеток в почечной капсуле, фронтальный срез почки

В препаратах интактной почечной капсулы тучные клетки располагались как по ходу сосудов, так и в межсосудистом пространстве, представлены всеми формами (целые, дегранулирующие, тотально распавшиеся – T₀-T₄), при окраске по Унна являлись β-метахроматичными (Фото 4 и 5).

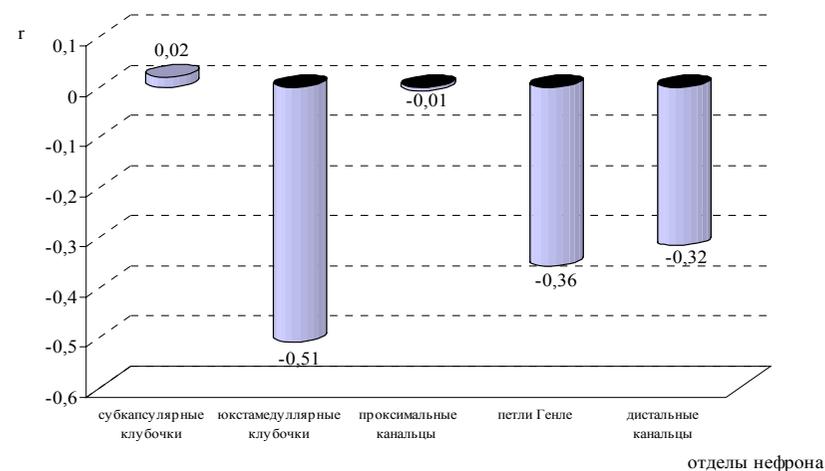


Рис. 51. Влияние водной нагрузки на корреляцию между общим числом мастоцитов и флуоресценцией ацетилхолина в структурах почки в условиях предшествующего потребления Mo⁺⁺.

Средней степени отрицательная зависимость для медиатора юкстамедуллярных клубочков

Между содержанием гистамина в юкстамедуллярных клубочках и мастоцитами выявлена сильная обратная корреляционная зависимость ($r=-0,82$ $p<0,01$), (Рис. 52). Между уровнем серотонина в субкапсулярных клубочках и проксимальных канальцах и общим числом тканевых базофилов прослеживается сильная и прямая зависимость ($r=0,71$ $p<0,01$ и $r=0,83$, $p<0,01$); в дистальных канальцах между изучаемыми параметрами связь также была положительной, но средней по силе ($r=0,54$ $p<0,05$) (Рис. 53).

Между содержанием катехоламинов в субкапсулярных клубочках и петлях Генле и тучными клетками была выявлена положительная сильная корреляция ($r=0,73$, $p<0,01$ и $r=0,85$, $p<0,01$) и средней степени зависимость для данных веществ в проксимальных канальцах ($r=0,66$, $p<0,05$), (Рис. 54).

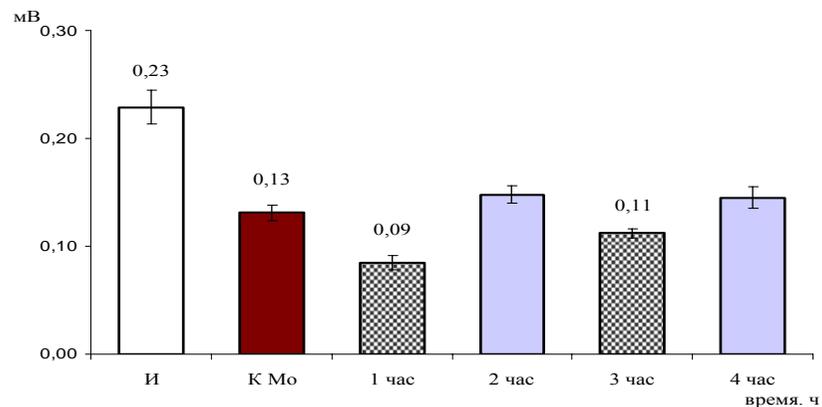


Рис. 49. Влияние водной нагрузки на содержание серотонина в почечной капсуле на фоне предшествующего питьевого поступления Mo^{++} , $N=10$, $n=20$:

Уменьшение флуоресценции серотонина под влиянием водной нагрузки через 2 и 4 ч

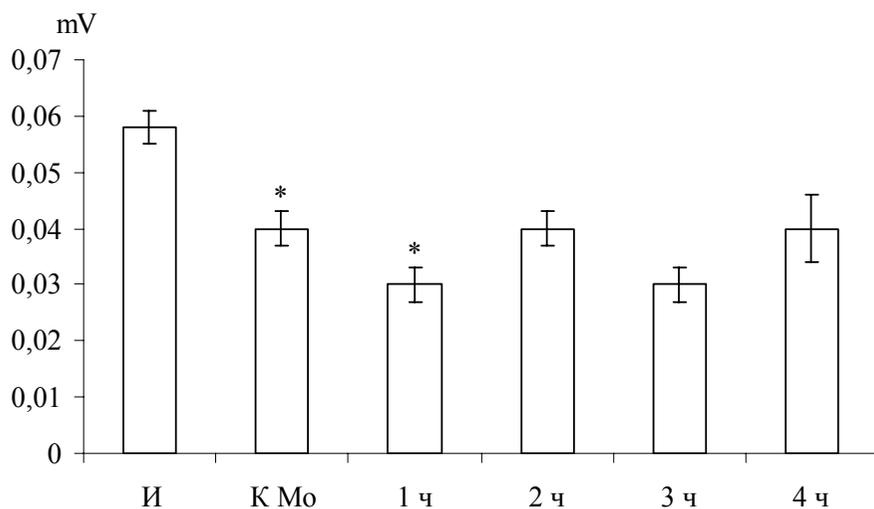


Рис. 50. Влияние водной нагрузки на содержание катехоламинов в почечной капсуле в условиях поступления Mo^{++} , $N=10$, $n=20$, $M \pm m$

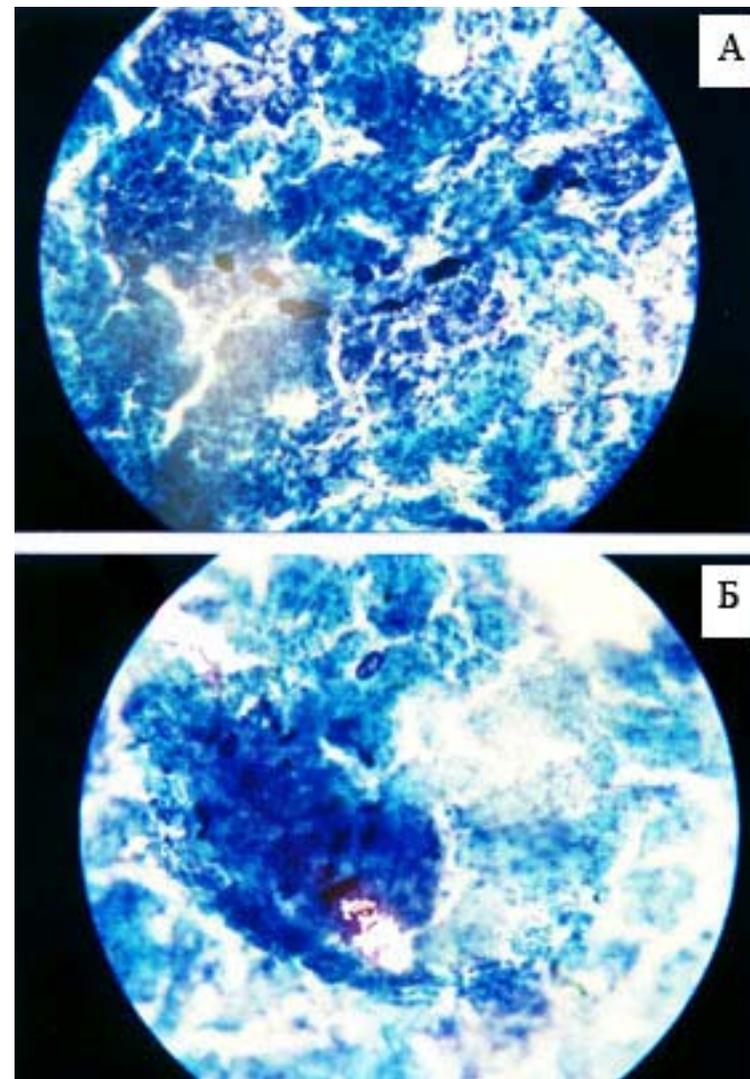


Фото 2. Тучные клетки в корковой области почки интактной крысы: А – цепочка из мастоцитов около субкапсулярных клубочков; Б – скопление тучных клеток в области субкапсулярного клубочка

Согласно полученным данным, в почечной капсуле и кортикальной зоне почки крыс тучные клетки присутствуют в

значительном количестве, выполняя какие-то, свойственные данному клеточному пулу, функции. То есть, наши данные находятся в прямом фактологическом противоречии с ранее опубликованной работой [73], в которой утверждалось, что тучные клетки почки количественно не постоянны и не могут использоваться для изучения и выявления каких-либо закономерностей.

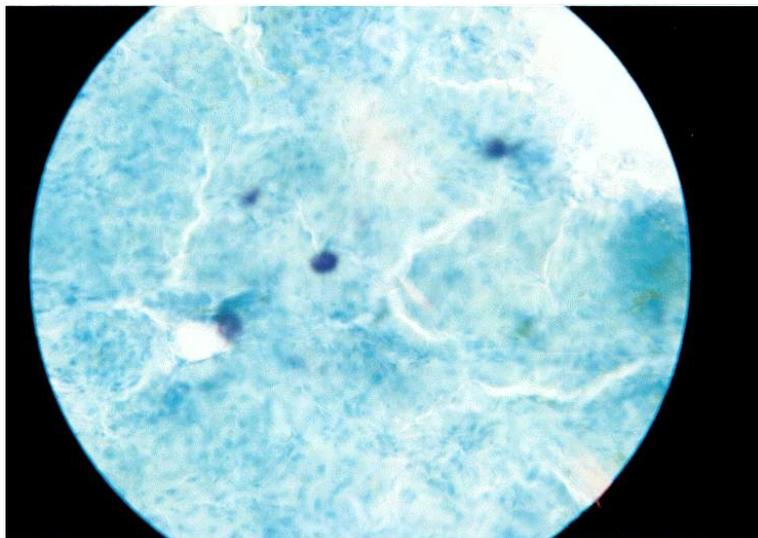


Фото 3. Тучные клетки интактной крысы мозгового слоя почки

Таким образом, популяция тучных клеток почки и почечной капсулы, напротив, должна быть подробно исследована, как у экспериментальных животных, так и у человека в норме и при патологии. Нами обнаружено, что на фронтальных срезах интактной почки расположение лаброцитов градиентно – основная часть тучных клеток локализована в капсуле, небольшое количество мастоцитов располагается в субкапсулярной зоне коркового вещества, иногда образуя цепочки из нескольких клеток, а в паренхиме мозгового вещества обнаруживаются единичные мастоциты.

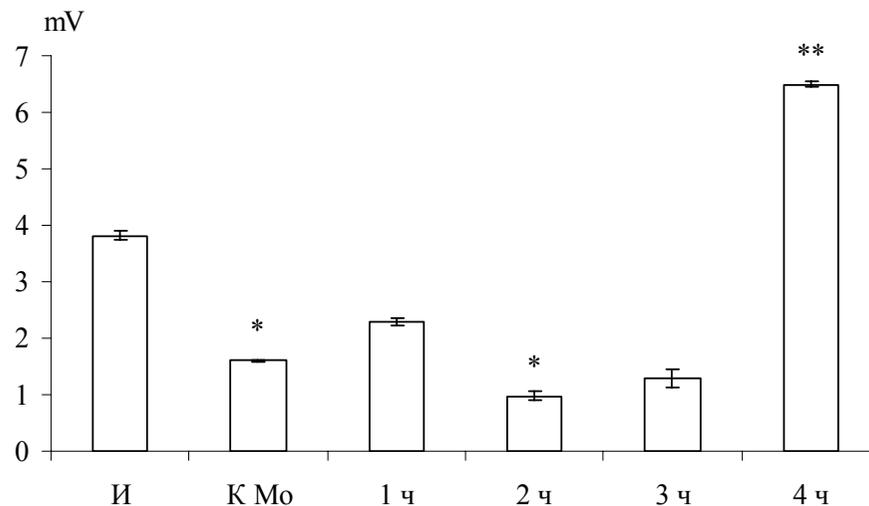


Рис. 47. Влияние водной нагрузки на содержание ацетилхолина в почечной капсуле на фоне предшествующего питьевого поступления Mo^{++} , N=10, n=20.

Уменьшение флуоресценции трансмиттера в контроле по сравнению с интактными животными, уменьшение флуоресценции через 2 ч после гидратации и увеличение через 4 ч.

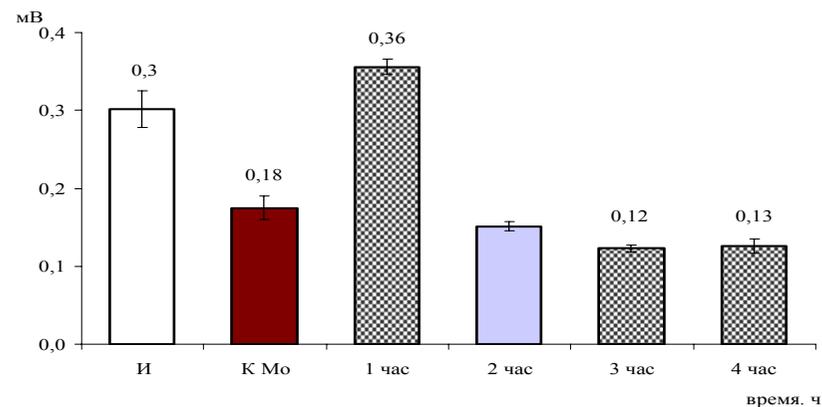


Рис. 48. Влияние водной нагрузки на содержание гистамина в почечной капсуле на фоне предшествующего питьевого поступления Mo^{++} , N=10, n=20.

Увеличение содержания амина через 1 ч после гидратации и снижение к концу 3-го и 4-го ч наблюдения.

3 ч ($p < 0,01$) по сравнению с контролем (Рис. 46).

Таким образом, под влиянием длительного избыточного поступления молибдена в почке происходит уменьшение флуоресценции ацетилхолина, и увеличение гистамина, катехоламинов и серотонина в проксимальных канальцах, при этом водная нагрузка на фоне длительного приема ионов Мо резко увеличивает содержание ацетилхолина во всех почечных структурах, причем в первые же часы после проведения гидратации (в отличие от эксперимента с цинком и медью); по сравнению с «медными» крысами флуоресценция гистамина значительно снижена в канальцевом аппарате, а не в клубочках. Динамика изменений уровней катехоламинов и серотонина однонаправленная, но со стороны серотонина изменения более выраженные.

Под влиянием длительного поступления молибдена в почечной капсуле произошло уменьшение флуоресценции ацетилхолина в 2,4 раза ($p < 0,05$), гистамина – в 1,6 раза ($p < 0,01$), серотонина – в 1,8 раза ($p < 0,001$) и катехоламинов на 48 % ($p < 0,01$) по сравнению с интактным (Рис. 47, 48, 49 и 50, соотв.). На фоне проводимой гидратации флуоресценция ацетилхолина возросла в 1,6 раз ($p < 0,05$) через 2 ч наблюдения и в 3,8 раза ($p < 0,001$) через 4 ч. Содержание гистамина было выше контрольного в 2 раза к концу 1-го ч эксперимента ($p < 0,001$) и ниже такового на 50 % и 38 % ($p < 0,01$ и $p < 0,05$) к концу 3-го и 4-го ч соотв..

Свечение серотонина под влиянием гидратации уменьшилось на 44 % через 1 ч наблюдения ($p < 0,001$) и на 18 % ($p < 0,05$) через 4 ч. Содержание катехоламинов на фоне гидратации уменьшилось в 1,5 раза ($p < 0,01$) к концу 1-го часа эксперимента (Рис. 50).

Между интенсивностью свечения ацетилхолина в юкстамедуллярных клубочках и общим числом мастоцитов корковой области почки прослеживается отрицательная средняя по силе корреляция ($r = -0,51$ $p < 0,05$), (Рис. 51).

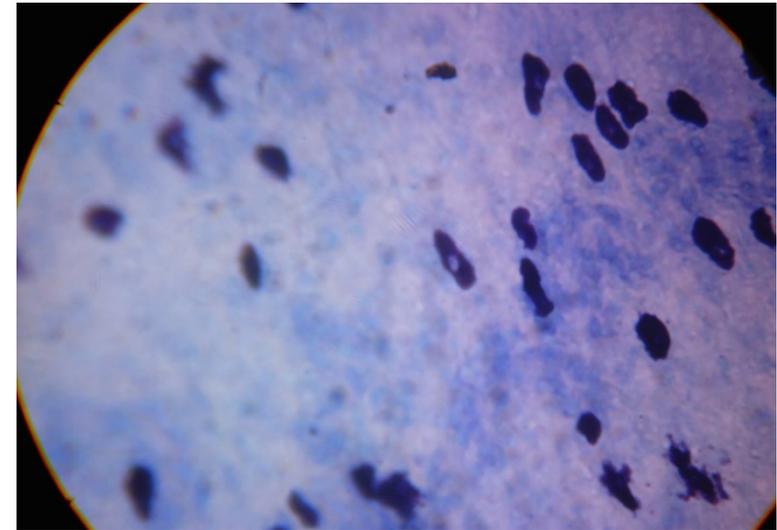


Фото 4. Интактная почечная капсула в окраске по Унна: β -метахроматичные тучные клетки, целые и дегранулирующие лаброциты

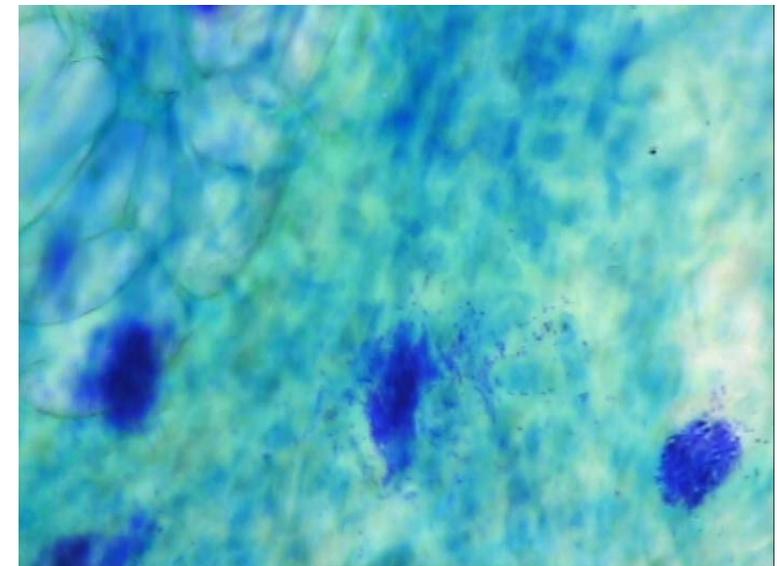


Фото 5. Интактная почечная капсула в окраске по Унна: β -метахроматичные дегранулирующие мастоциты

Тучные клетки почечной капсулы располагаются как по ходу сосудов, так и в межсосудистом пространстве. Такая локализация клеток, вероятно, имеет морфоанатомическую и функциональную целесообразность, поскольку кортикальные структуры почки наиболее активны и требуют наличия большего числа регулирующих систем.

Закономерности локализации тучных клеток в почечной капсуле и почке в целом совпадают с размещением их в других органах.

Таким образом, в почке существует два пула тучных клеток:

- 1) почечная популяция с преимущественной локализацией клеток в субкапсулярной зоне коркового слоя и единичными мастоцитами мозгового вещества;
- 2) и более многочисленная популяция мастоцитов почечной капсулы.

ния содержание биологически активных веществ было выше контрольного в 3 и 2 раза ($p < 0,001$) (Рис. 45).

В группе контрольных крыс молибден инициировал падение тканевых концентраций серотонина на 80 % в субкапсулярных клубочках по сравнению с интактными животными ($p < 0,01$) (Рис. 46). В субкапсулярных и юкстамедуллярных клубочках в последние 2 ч после гидратации содержание биомина в тканях было выше контрольного на 60-90 % ($p < 0,01$) и на 40 % к концу 1-го ч в последних почечных структурах ($p < 0,05$) (Рис. 46).

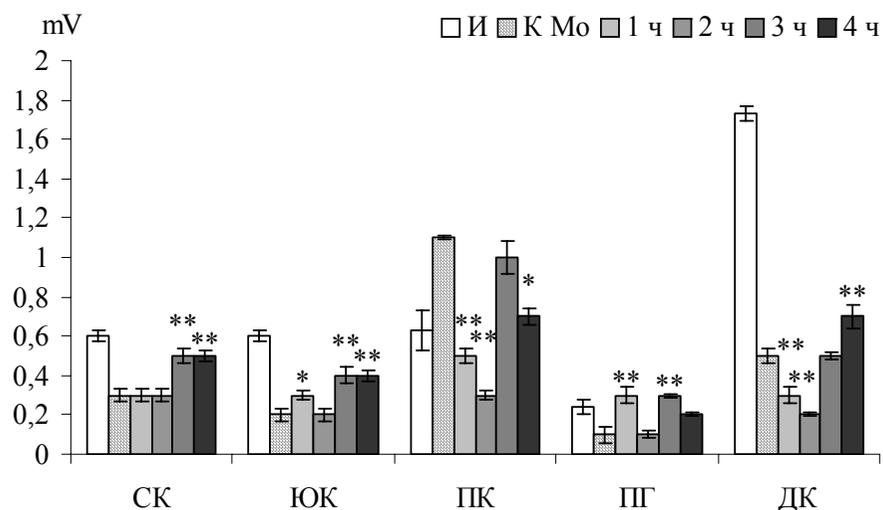


Рис. 46. Влияние водной нагрузки на содержание серотонина в канальцевом аппарате почки на фоне предшествующего питьевого поступления Mo^{++} , $N=10$, $n=20$.

Снижение уровня серотонина в проксимальных и дистальных канальцах и увеличение в петлях Генле.

В проксимальных канальцах водная нагрузка привела к снижению флуоресценции серотонина через 1, 2 и 4 ч в 2,4, 3,2 и 1,4 раза соответственно ($p < 0,05$); подобная динамика изменений наблюдалась и в дистальных канальцах ($p < 0,05$) (Рис. 46). В петлях Генле произошло повышение уровня биомина в 2,1 раза через 1 ч после гидратации и 1,9 раза через

грузки уровень катехоламинов уменьшился на 70 % и возрос на 60 % через 4 ч ($p < 0,01$).

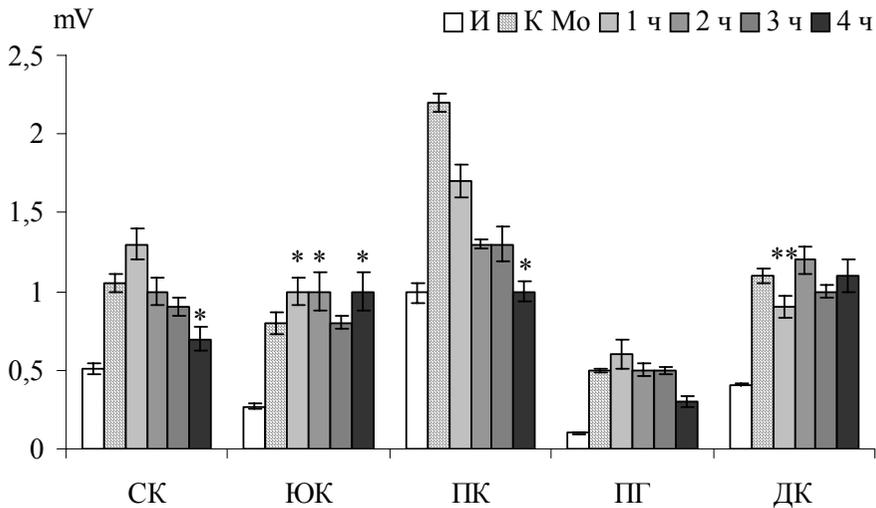


Рис. 44. Влияние водной нагрузки на содержание гистамина в структурах почки в условиях поступления Mo^{++} , $N=10$, $n=20$, $M \pm m$

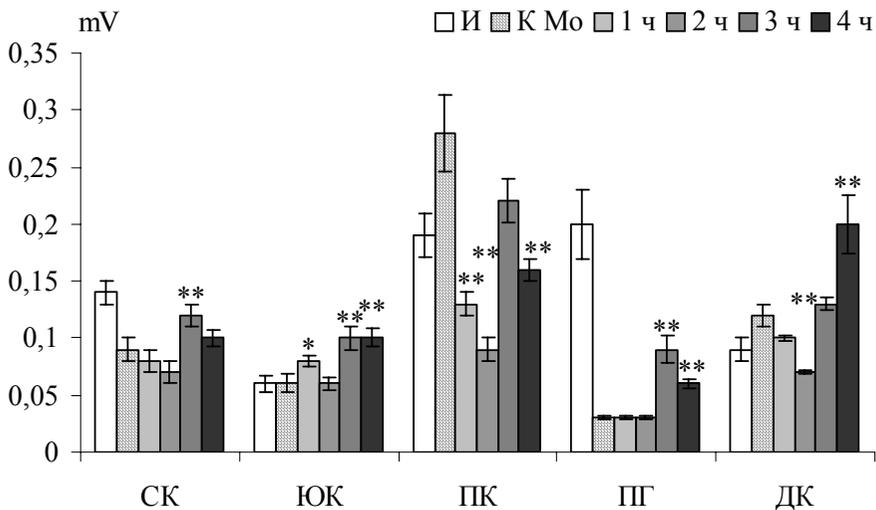


Рис. 45. Влияние водной нагрузки на содержание катехоламинов в структурах почки в условиях поступления Mo^{++} , $N=10$, $n=20$, $M \pm m$
В петлях Генле в течение последних 2-х часов наблюде-

ГЛАВА 3. Влияние водной нагрузки на тучно-клеточную популяцию и транзитный статус почки и почечной капсулы

3.1. Влияние водной нагрузки на тучно-клеточную популяцию почки

Обладая уникальным набором свойств, сложным циклом созревания и функционирования, способностью к активному перемещению, синтезу, накоплению и выделению большого числа биологически активных веществ, что позволяет считать тучные клетки «одноклеточной железой», мастоциты почки и почечной капсулы, вероятно, должны участвовать не только в иммуно-воспалительных реакциях почки, но и быть вовлечены в другие сложные процессы, например, в реализацию интегрального ответа почки на водную нагрузку. Поэтому следующая серия экспериментов была посвящена вопросу исследования реакции почечной популяции тучных клеток на изменение водного гомеостаза.

Тридцать две крысы были подвергнуты водной гидратации в объеме 6 % от массы тела внутривентриально. Под эфирной анестезией у животных через 1, 2, 3 и 4 ч после проведения гидратации, а в группе контрольных и интактных крыс без проведения нагрузки, изымались почки, которые были смонтированы на предварительно охлажденные до -21°C криостатные блоки и заморожены. В срезах почек толщиной 20 мкм и препаратах почечной капсулы исследовали содержание ацетилхолина [37, 67], гистамина [52], катехоламинов и серотонина [56], а также тучноклеточную популяцию (по Унна).

Для обнаружения локализации ацетилхолина в тканях почки нами был использован метод визуализации этого медиатора в твердой фазе [28, 37, 67], разработанный нами на основе метода Феллмана [58] для выявления ацетилхолина в плазме.

В результате этой обработки в местах локализации ацетилхолина образуются кристаллы, которые при облучении в

видимой сине-фиолетовой области люминесцируют желто-оран-жевым свечением $\lambda_{\max}=534-552$ нм, светофильтры N 9 и N 10 спектральнометрической насадки ФМЭЛ-1А.

На каждом препарате плаг-методом в субкапсулярной и интермедулярных зонах измеряли интенсивность люминесценции от 10 клубочков или канальцев, а в медулярной – 10 участков петель Генле. Плаг-метод был выбран после того, как в предварительных исследованиях было установлено, что средние параметры люминесценции при использовании многоточечного метода и плаг-метода совпадают в пределах ошибки измерения.

Люминесценцию образующегося из ацетилхолина люминофора измеряли на светофильтре N 9 $\lambda=534\pm 9$ нм, запирающий светофильтр ЖС18, $\lambda_{\text{возбужд.}}=410$ нм, светофильтры ФС, БС, СЗС. Препараты микропировали на люминесцентном микроскопе «Люмам-4», люминиметрию осуществляли с помощью микролюминиметра ФМЭЛ-1А.

Электрические параметры при всех люминесцентных измерениях на всех замерах определялись следующими параметрами: входное напряжение 900В, сопротивление усилителя 10^6 Ом. В насадке был установлен зонд 1,5. Для измерения использовался ФЭУ-39, показания снимались с цифрового вольтметра. Содержание изучаемых веществ почках исследовали в субкапсулярных и юкстамедулярных клубочках, проксимальных и дистальных канальцах и петлях Генле. Дифференциацию отдельных участков нефрона осуществляли согласно рекомендациям А. Хэма, Д. Кормака (1983) [43].

Люминесцентное обнаружение катехоламинов и серотонина в тканях почки осуществляли с помощью метода Фалька-Хилларпа [56] в модификации Е. М. Крохиной [31], который используется для выявления аминокислотных структур. Метод основан на реакции конденсации катехоламинов и серотонина парами формальдегида. В результате этой реакции из катехоламинов образуются производные 1,2,3,4-тетрагидроизохинолина, а из серотонина – 1,2,3,4-тетрагидро- β -карболин, которые дегидрируются до

($p<0,01$) (Рис. 43). В юкстамедулярных клубочках к концу 1-го ч гидратации произошло увеличение содержания ацетилхолина в 2, 6 раза ($p<0,001$) и его уменьшение к концу 4-го ч в 2,8 раза ($p<0,001$) (Рис. 43). Под влиянием гидратации через 1 ч возросло содержание медиатора в дистальных канальцах и петлях Генле в 1,5 и 1,7 раза соответственно ($p<0,01$) и упало к концу 4-го ч наблюдения в 2,1 и 2 раза соответственно ($p<0,001$); в последних структурах уменьшение тканевых концентраций ацетилхолина наблюдалось к концу 3-го ч гидратации на 45 % ($p<0,001$), (Рис. 43).

Хроническое поступление в питьевой водой Mo^{++} привело к снижению тканевых концентраций гистамина в проксимальных канальцах в 2,1 раза по сравнению с интактными значениями. ($p<0,001$) (Рис. 44). На фоне избыточного поступления ионизированного молибдена гидратация вызвала снижение содержания амина в тканях к концу 4-го часа инкубации на 40 % в субкапсулярных клубочках и на 50 % в петлях Генле ($p<0,01$) и на 30 % через 1 ч после нагрузки в дистальных канальцах ($p<0,05$) по сравнению с контролем. В проксимальных канальцах в течение всего периода наблюдения свечение гистамина было ниже контрольного в 1,3-2 раза ($p<0,01$), (Рис. 44).

У контрольных крыс наблюдалось увеличение интенсивности свечения катехоламинов на 50 % в субкапсулярных клубочках и снижение на 50 % в петлях Генле по сравнению с интактными животными ($p<0,05$) (Рис. 45). В субкапсулярных и юкстамедулярных клубочках через 3 ч после внутрибрюшинной гидратации содержание катехоловых аминов увеличилось на 30 % и 60 % соответственно ($p<0,05$ и $p<0,001$); в юкстамедулярных клубочках тканевые концентрации изучаемых веществ превысили контрольные показатели на 30 и 60 % к концу 1-го и 4-го ч наблюдения ($p<0,05$) (Рис. 45). В проксимальных канальцах под влиянием гидратации флуоресценция изучаемых веществ снизилась в 2,1, 3,1 и 1,7 раза к концу 1-го, 2-го и 4-го ч по сравнению с контролем ($p<0,001$ и $p<0,01$). В дистальных канальцах через 2 ч после водной на-

5.4. Взаимосвязь транмиттерного статуса и тучноклеточной популяции почки и почечной капсулы на фоне питьевого потребления Mo^{++}

У крыс, находившихся в условиях избыточного поступления молибдена, наблюдалось снижение уровня свечения ацетилхолина в субкапсулярных клубочках и проксимальных канальцах в 1,8 и 1,6 раза по сравнению с интактными животными ($p < 0,01$) (Рис. 43).

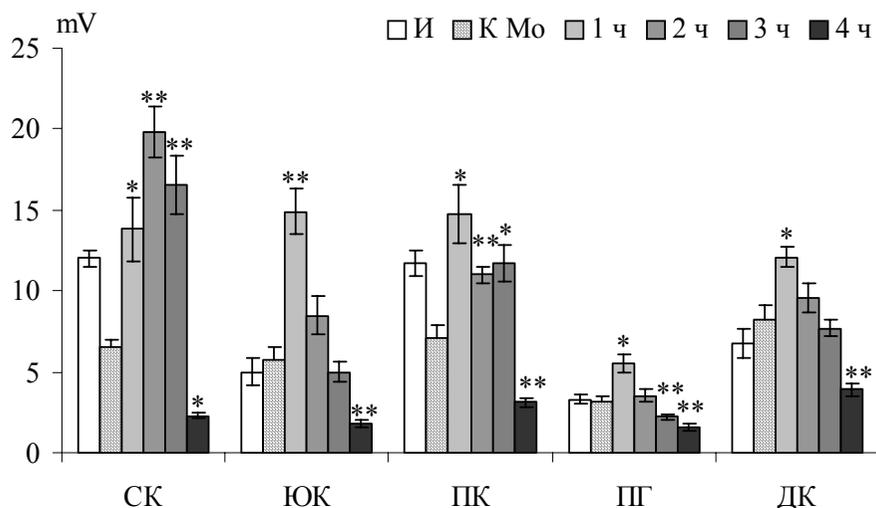


Рис. 43. Влияние водной нагрузки на содержание ацетилхолина в структурах почки в условиях хронического потребления молибдена, $N=10, n=20, M \pm m$

Увеличение интенсивности свечения медиаторов первые часы после гидратации и снижение к концу 4-го ч наблюдения.

Внутрибрюшинное введение воды 6 % от массы тела на фоне предшествующего питьевого потребления Mo^{++} инициировало повышение флуоресценции медиатора в субкапсулярных клубочках в 2,1-3 раза в течение последующих 3-х ч и ее падение к концу 4-го ч в 2,8 раза по сравнению с контролем ($p < 0,01$) (Рис. 43). Подобная динамика изменения уровня ацетилхолина наблюдалась в проксимальных канальцах

образования 3,4-тетрагидроизохинолина и 3,4-тетрагидро- β -карболина, находящихся в рН-зависимом равновесии со своей таутомерной кетоформой, люминесцирующей при облучении в видимой сине-фиолетовой области ($\lambda_{max}=410$ нм).

Изохинолины, продукты конденсации катехоламинов, люминесцируют в желто-зеленой области ($\lambda_{max}=480$ нм, светофильтр N 6 измерительной насадки ФМЭЛ-1А). β -Карболины, продукты конденсации серотонина, люминесцируют в желто-оранжевой области ($\lambda_{max}=525$ нм, светофильтр N 8 измерительной насадки ФМЭЛ-1А).

Свежеприготовленные криостатные срезы, смонтированные на предварительно охлажденных до $-15^\circ C$ предметные стекла, после высушивания под холодным вентилятором, помещали на 1 ч при $+80^\circ C$ в камеру с парами формальдегида, высушенного в течение не менее двух недель над 40 % серной кислотой. Люминесценцию катехоламинов, после выдерживания срезов в темноте в течение 1 часа, исследовали при 484 ± 10 нм, серотонина – при 525 ± 11 нм, запирающий светофильтр ЖС18, $\lambda_{возбужд.}=410$ нм, светофильтры ФС, БС, СЗС, на люминесцентном микроскопе «Люмам-4», люминиметрию осуществляли с помощью микролюминиметра ФМЭЛ-1А.

Во всех случаях исследования катехоламинов полученный цифровой материал, описывающий параметры люминесценции катехоламинов и серотонина, исследовался как статистическая величина.

Люминесцентное обнаружение гистамина в тканях осуществляли с помощью метода S.A. Cross'a [52], основанного на реакции P.A. Shore et al. [79], в которой экстрагированный гистамин элюируют в водную фазу, содержащую ортофталевый альдегид. Последний образует с гистамином сильно флуоресцирующее соединение. Реакция Кросса осуществляется в твердой фазе. Срезы, смонтированные на предварительно охлажденных предметных стеклах, после подогревания помещали на 30 с при $+100^\circ C$ в камеру с парами ортофталевого альдегида. Затем срезы сразу же на 2 мин переносили в

камеру со 100 % влажностью при +100° С. После чего подсушивали при +80° С и немедленно микроскопировали при 507±13 нм (светофильтр N 7 насадки ФМЭЛ-1А), запирающий светофильтр ЖС18, $\lambda_{\text{возбужд.}}=460$ нм, светофильтры ФС, БС, СЗС, на люминесцентном микроскопе «Люмам-4», люминиметрию осуществляли с помощью микролюминиметра ФМЭЛ-1А.

Через 1 ч после проведения гидратации в капсуле и субкапсулярной области коркового вещества сагиттальных срезов почки наблюдалось увеличение целых форм мастоцитов в 5,5 раз ($p<0,01$) и totally распавшихся в 5 раз ($p<0,05$). Общее число тучных клеток и дегранулирующих форм не претерпело изменений по отношению к интактному органу (Рис. 1).

К концу 2-го ч эксперимента общее число лаброцитов возросло в 2,7 раза ($p<0,05$), параллельно, в 17 раз, увеличилось количество totally распавшихся ($p<0,05$) и в 8,5 раз целых форм клеток ($p<0,01$). Количество дегранулирующих тучных клеток оставалось на интактном уровне (Рис. 1).

Через 3 ч после введения крысам воды возросло общее число тканевых базофилов в 3,5 раз ($p<0,02$) и отдельных их форм: целых клеток – в 7,1 раз ($p<0,05$), totally распавшихся – в 36 раз ($p<0,01$) по сравнению с интактной почкой. Количество дегранулирующих тучных клеток не претерпело изменений (Рис. 1).

К концу 4-го ч после гидратации общее количество мастоцитов на 1 поле зрения было выше интактного в 5 раз ($p<0,005$), дегранулирующих – в 3,7 раз ($p<0,02$), totally распавшихся – в 27 раз ($p<0,01$). Число целых тучных клеток соответствовало интактному значению (Рис. 1). Все тучные клетки при окраске по Унна были β -метахроматичными.

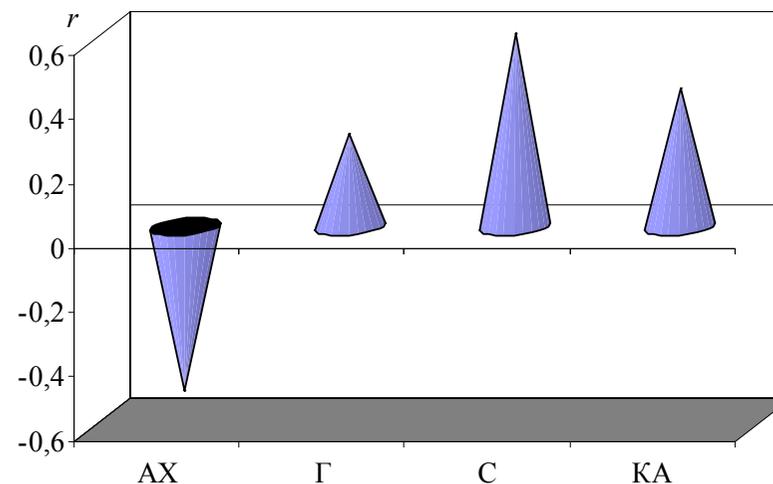


Рис. 42. Влияние водной нагрузки на корреляцию между общим числом мастоцитов и флуоресценцией тканевых транмиттеров почечной капсулы предшествующего потребления Cu^{++} : средняя отрицательная зависимость для ацетилхолина и положительная для серотонина.

Таким образом, длительное поступление меди приводит к увеличению содержания в почечной капсуле гистамина (в отличие от опыта с цинком), однако, через 3 ч после проведения гидратации уровень этого медиатора падает, также как и в предыдущих двух опытах. Водная нагрузка у «медных» крыс, в отличие от эксперимента с цинком, инициирует увеличение флуоресценции ацетилхолина, серотонина и катехоламинов, что можно было наблюдать и в эксперименте только с внутрибрюшинным введением воды. Из результатов эксперимента следует, что длительное поступление Cu^{++} с питьевой водой не меняет общей динамики содержания тканевых медиаторов капсулы в ответ на острую гидратацию (в отличие от ионов цинка).

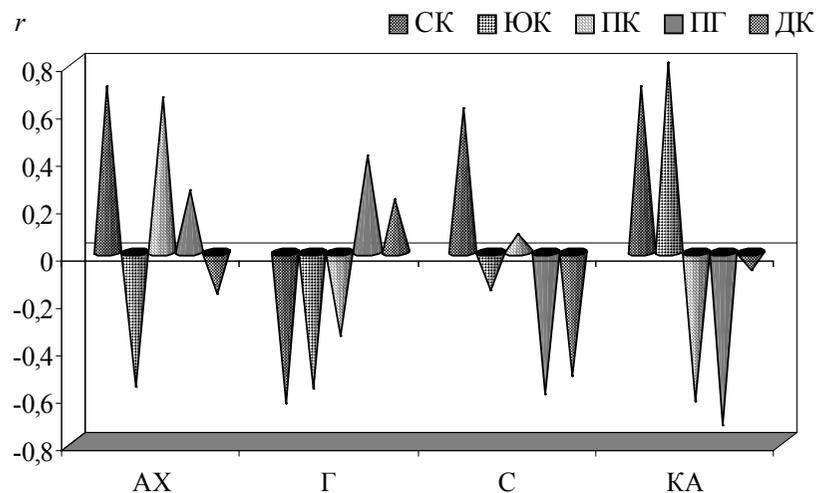


Рис. 41. Влияние водной нагрузки на корреляцию между общим числом мастоцитов и флуоресценцией трансмиттеров в структурах почки в условиях предшествующего потребления Cu^{2+} :

Прямая корреляция с ацетилхолином субкапсулярных клубочков и проксимальных канальцах и обратная для юкстамедуллярных клубочков; средне-сильная обратная зависимость с гистамином в клубочковом аппарате;

В средняя положительная зависимость с серотином в субкапсулярных клубочков и отрицательная в петлях Генле и дистальных канальцах;

Сильная прямая зависимость с катехоламинами клубочкового аппарата и отрицательная средне-сильная в проксимальных канальцах и петлях Генле.

Между содержанием катехоламинов в субкапсулярных и юкстамедуллярных клубочках и общим числом тучных клеток корковой области почки определяется прямая и сильная корреляционная зависимость ($r=0,7$, $p<0,05$ и $r=0,8$, $p<0,01$), (Рис. 41). В проксимальных канальцах и петлях Генле между изучаемыми параметрами корреляция носила обратный характер ($r=-0,63$, $p<0,05$ и $r=-0,73$, $p<0,01$), (Рис. 41).

Между интенсивностью свечения ацетилхолина и общим числом мастоцитов почечной капсулы выявлена отрицательная средней степени корреляция ($r=-0,51$, $p<0,05$); для серотина обнаруженная зависимость была прямая и такая же по силе ($r=0,6$, $p<0,05$), (Рис. 42).

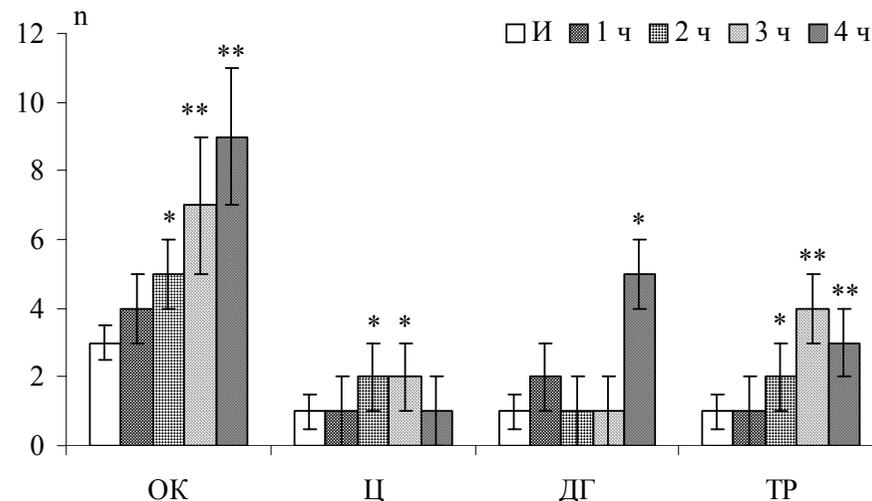


Рис. 1. Влияние водной нагрузки на общее число и отдельные формы тучных клеток в капсуле и субкапсулярной области на 1 поле зрения, $N=30$, $n=18$, $M\pm m$

Водная нагрузка индуцировала накопление тучных клеток в капсуле и субкапсулярной области сагиттальных срезов почки

Примечание, здесь и далее: И – intactные животные, 1ч – через один час после нагрузки. 2ч-4ч – соотв., количество клеток через два, три и четыре часа после нагрузки;

ОК – общее количество клеток, Ц – целые клетки, ДГ – дегранулирующие клетки, ТР – тотально распавшиеся клетки;

* $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

Таким образом, под влиянием гидратации с течением времени наблюдалось увеличение, как общего числа, так и отдельных форм тучных клеток.

3.2. Влияние водной нагрузки на тучноклеточную популяцию почечной капсулы

Поскольку в предварительных экспериментах на сагиттальных срезах почек мы наблюдали большее число тучных клеток в капсуле, чем в субкапсулярной кортикальной области почек, то нам показалось интересным пронаблюдать пове-

дение тучных клеток непосредственно в почечной капсуле, развернутой на предметном стекле. Для этого после подмораживания одна из каждой пары почек была разделена на четыре части. Почечная капсула каждой части была отпрепарирована и смонтирована на предметные стекла. Полученные препараты почечной капсулы были обработаны гистохимически для выявления тканевых концентратов ацетилхолина, катехоламинов и серотонина, гистамина, а также по Унна. В результате такого подхода было установлено, что в почечной капсуле водная нагрузка в целом индуцирует уменьшение числа тучных клеток. Через 1 ч после гидратации в почечной капсуле число целых форм тучных клеток уменьшилось в 2,4 раза по сравнению с интактным объектом ($p < 0,01$), а количество дегранулирующих клеток возросло в 4,5 раза ($p < 0,01$), одновременно исчезли тотально распавшиеся клетки (Рис. 2, Фото 6).

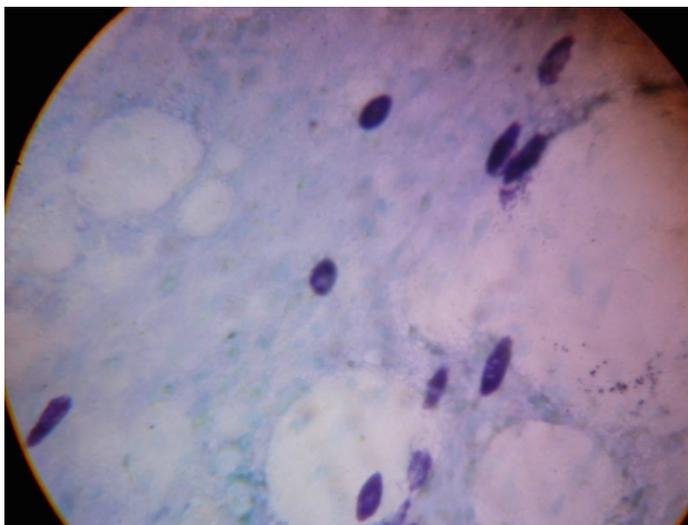


Фото 6. Интактная почечная капсула в окраске по Унна, В-метахроматичные тучные клетки.

изменений со стороны популяции тучных клеток, причем наибольший токсический эффект по воздействию на мастоциты выявлен для ионов цинка. Оба металла значительно изменяют тканевые параметры ответа почки в условиях физиологической нагрузки (гидратация). Это вероятно, связано с необходимостью задействовать дополнительные пара- и аутокринные механизмы регуляции для выполнения обычной функции для данного органа.

Из наших данных, полученных на почке крыс, следует, что ранее описанный медный дерматит обусловлен реакцией тучных клеток кожи. Но, поражение кожи при избыточном потреблении ионизированной меди является далеко не единственным поражаемой точкой приложения. Очевидно, что ткани и органы, в которых тучноклеточная популяция представлена обильно, будут также поражаться в связи с индуцированной медью готовностью тучных клеток к дегрануляции.

Между флуоресценцией ацетилхолина в субкапсулярных клубочках и общим числом тучных клеток выявлена сильная положительная корреляция ($r=0,7$, $p < 0,05$), для медиатора юкстамедуллярных клубочков связь обратная и средняя по степени ($r=-0,57$, $p < 0,05$), (Рис. 41). Между свечением ацетилхолина в проксимальных канальцах и мастоцитами прослеживается прямая зависимость ($r=0,65$, $p < 0,05$), (Рис. 41).

Между интенсивностью свечения гистамина в субкапсулярных клубочках и общим числом тучных клеток корковой области почки прослеживается отрицательная средней степени корреляция ($r=-0,64$, $p < 0,05$), для амина юкстамедуллярных клубочков данная зависимость была средней по степени ($r=-0,58$, $p < 0,05$), (Рис. 41).

Между уровнем серотонина субкапсулярных клубочков и общим числом мастоцитов прослеживается средней степени прямая корреляционная зависимость ($r=0,61$, $p < 0,05$), в петлях Генле и дистальных канальцах отношения обратные и средние по силе ($r=-0,6$ и $r=-0,52$, $p < 0,05$), (Рис. 41).

В эксперименте с питьевым потреблением ионов меди водная нагрузка увеличивала общее количество тучных клеток корковой области почки через 1 ч и изменяла степень зрелости мастоцитов за счет увеличения доли γ -метахроматичных клеток. Аналогичная динамика изменения метахромазии мастоцитов наблюдалась в тканях интактной почки после водной нагрузки. Но, наблюдались различия: у крыс, предварительно потреблявших ионизированную медь, наблюдалось запаздывание реакции на 1 ч. На основе полученных данных можно предположить, что ионы меди, в отличие от цинка, на тучноклеточную популяцию почки оказывают не столь выраженное токсическое действие и даже позволяют сохранить стереотипное поведение мастоцитов в условиях острой гидратации, но не в полном объеме и с некоторой инерцией во времени. Возможно, это связано с тем, что медь, как переходный элемент, участвует в терминальном отделе дыхательной цепи (цитохром-С-оксидаза является зависимым ферментом) [1, 35, 36], а избыточное присутствие ее блокирует этот фермент, в результате снижается энергетический потенциал тучных клеток. С другой стороны, как известно, медь необходима для нормального синтеза коллагена и эластина [1, 35, 36, 39, 40], а при его избыточном поступлении процесс этот нарушается, в результате для тучных клеток, как элемента соединительной ткани, формируется микроокружение с дефектными волокнами, что, возможно, затрудняет их нормальное функционирование. Данный результат может быть объяснен и антагонизмом с цинком. Поскольку перемещение подвижных клеток зависит от работы тубулиновых микрофиламентов, сократительная активность которых зависит от присутствия ионов цинка [1], то уменьшение подвижности тучных клеток, индуцированное потреблением меди, может быть вызвано вытеснением ионов цинка из тучных клеток и тубулина.

Полученные данные еще раз подтверждают факт антагонистического влияния на организм ионов цинка и меди, причем не только на уровне транзитного обеспечения тканевых структур, но и на уровне количественных и качественных

В последующие часы наблюдения общее количество мастоцитов было ниже интактного значения: к концу 2-го ч в 1,8 раза ($p<0,05$), к концу 3-го ч в 2,1 раза ($p<0,01$), концу 4-го ч в 2,4 раза ($p<0,01$) (Рис. 2, Фото 7). Подобная динамика характерна и для целых форм тучных клеток: через 2 ч гидратации наблюдалось снижение в 2 раза ($p<0,05$), а в последующие 2 ч – в 3 раза ($p<0,01$ и $p<0,001$). К концу 3-го ч гидратации в препаратах капсулы появились тотально распавшиеся мастоциты, которые вновь исчезли к концу 4-го ч (Рис. 2, Фото 8). Способность тканевых базофилов к метахромазии гидратация не меняла, все клетки оставались β -метахроматичными.

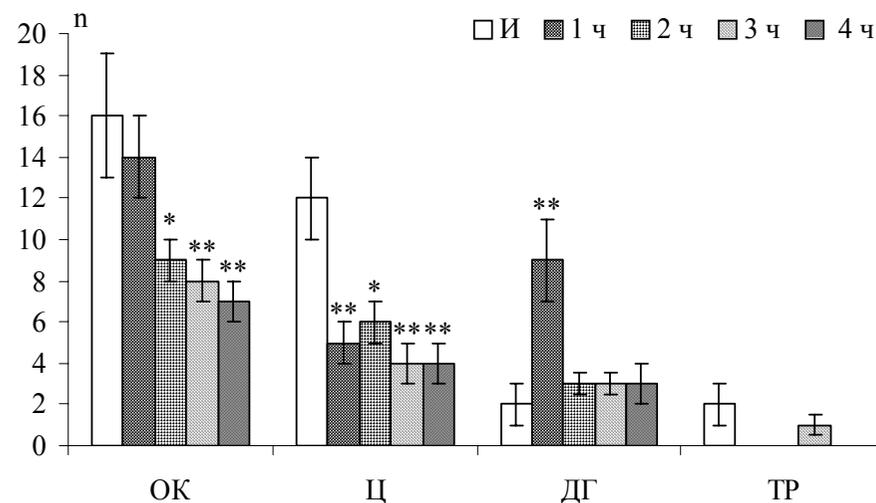


Рис. 2. Влияние водной нагрузки на тучноклеточную популяцию почечной капсулы N=10, n=10:

Уменьшение общего количества тучных клеток через 2, 3 и 4 ч после гидратации и целых форм в течение всего периода наблюдения; исчезновение тотально распавшихся форм мастоцитов в первые 2 ч после нагрузки и появление через 3 ч

В корковой области почки гидратация индуцировала увеличение общего числа и отдельных форм тучных клеток, причем с каждым последующим часом увеличение это возраста-

ло. При этом гидратация вносит незначительные изменения в транзитный статус почечных структур: практически не влияет на содержание ацетилхолина, уменьшает свечение гистамина (только в дистальных канальцах) и приводит к снижению флуоресценции серотонина и катехоламинов через 1 ч с последующим возвратом к интактному значению. Учитывая параллельное увеличение количества дегранулирующих и totally распадающихся тучных клеток, можно предположить, что они являются в данном случае источником гистамина, который необходим для увеличения проницаемости клеточных мембран и является приспособительной реакцией, направленной на восстановление гомеостаза. Из полученных данных, следует, что почечная капсула не является пассивным вместилищем для почки, но активно реагирует на различные физиологические и токсические нагрузки путем изменения как своего транзитного статуса, так и тучноклеточной популяции.

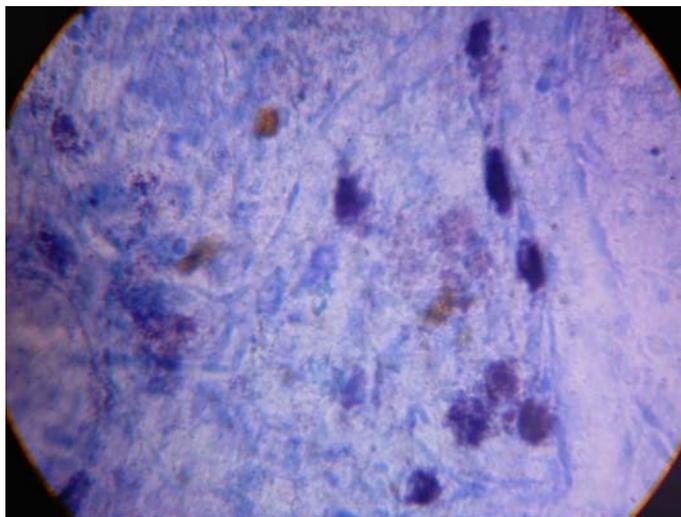


Фото 7. Капсула почки, 1-й ч водной нагрузки, дегранулирующие и totally распадающиеся мастоциты

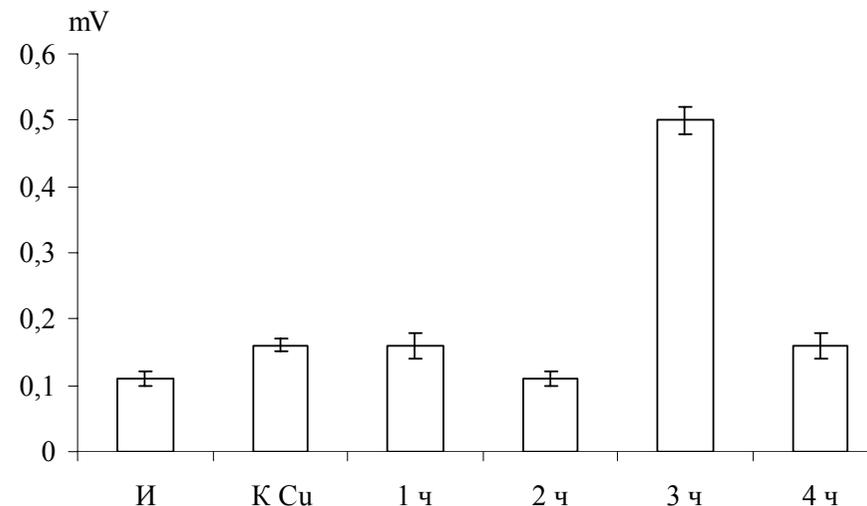


Рис. 39. Влияние водной нагрузки на содержание серотонина в почечной капсуле на фоне предшествующего потребления Cu^{++} , $N=10$, $n=20$. Увеличение интенсивности свечения амина у контрольных животных; падение флуоресценции через 2 ч после гидратации и возрастание через 3 ч

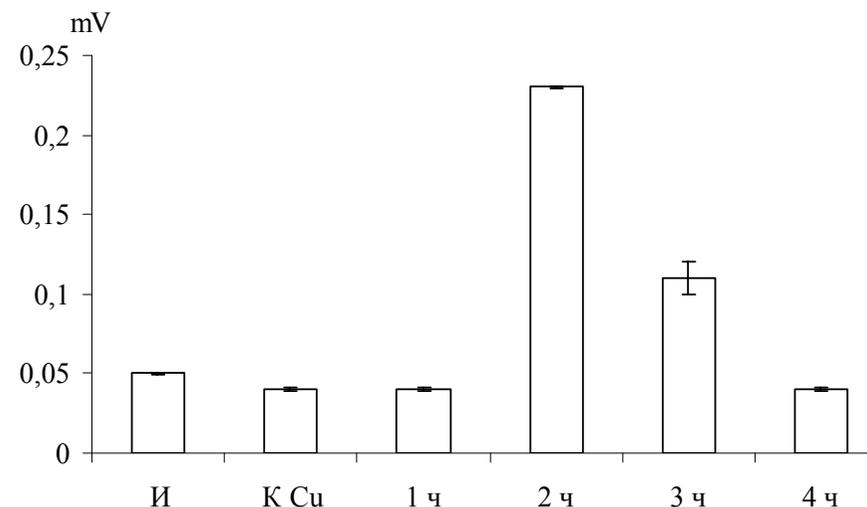


Рис. 40. Влияние водной нагрузки на содержание катехоламинов в почечной капсуле в условиях предшествующего потребления меди, $N=10$, $n=20$, $M \pm m$

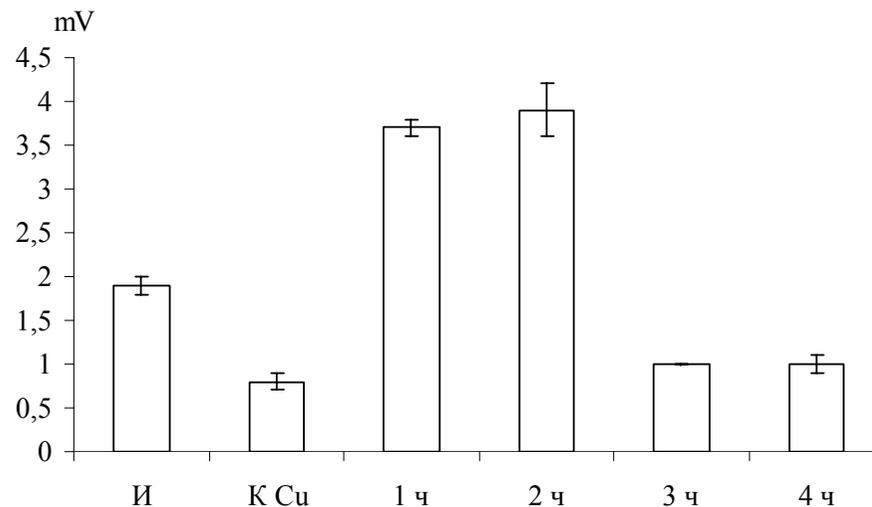


Рис. 37. Влияние водной нагрузки на содержание ацетилхолина в почечной капсуле на фоне предшествующего потребления Cu^{++} , $N=10$, $n=20$. Снижение люминесценции вещества у контрольных крыс и увеличение ее в течение первых 3-х ч после гидратации.

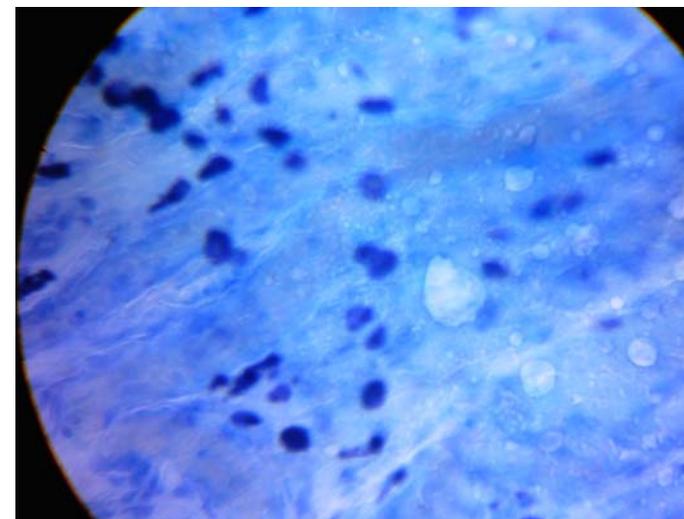


Фото 8. Капсула почки, 2-й ч водной нагрузки, исчезновение totally распавшихся форм мастоцитов

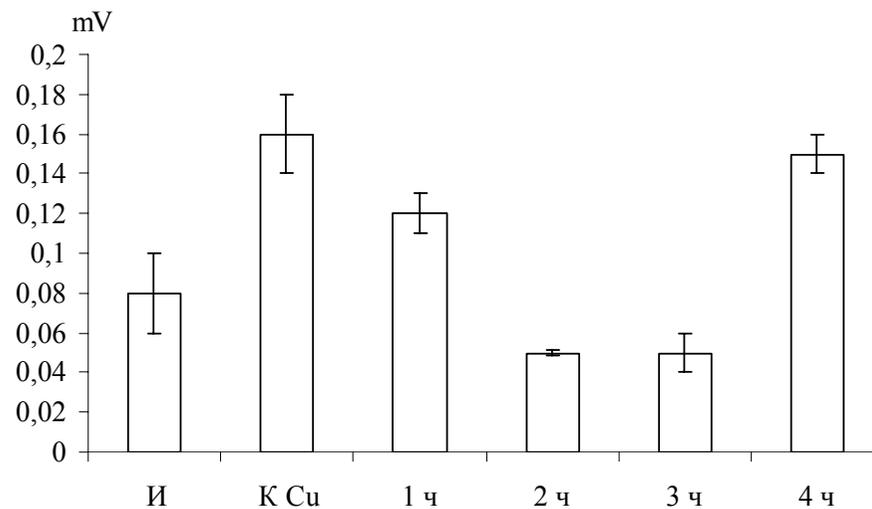


Рис. 38. Влияние водной нагрузки на содержание гистамина в почечной капсуле в условиях предшествующего избыточного поступления Cu^{++} , $N=10$, $n=20$, $M\pm m$

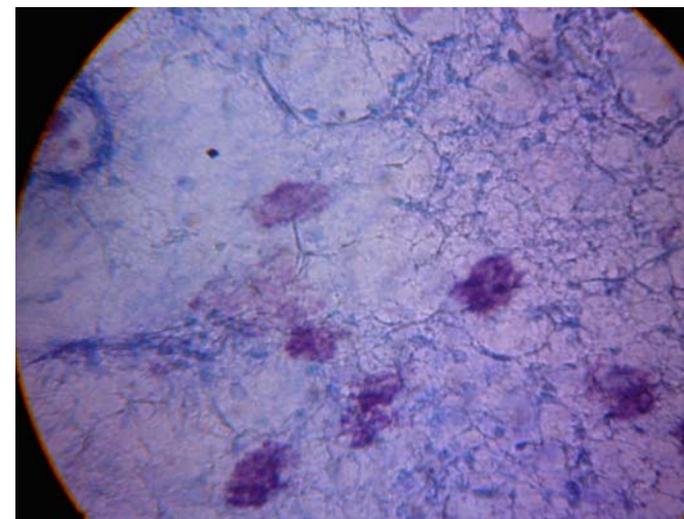


Фото 9. Капсула почки, 3-й ч водной нагрузки. Дегранулирующие и totally распающиеся клетки

Сопоставив полученные данные между собой, можно предположить, что тучные клетки являются одним из источников изучаемых тканевых медиаторов, а индуктором изменений, происходящих в капсуле, очевидно, является повышение тургорного давления и необходимость изменить упруго-эластические свойства капсулы.

Возможен синтез данных аутоакоидов другими клеточными элементами капсулы в ответ на увеличение афферентной импульсации с растянутой капсулы. Учитывая, что картина изменений со стороны тучноклеточной популяции капсулы является инвертной по отношению к мастоцитам корковой области почки, где общее количество мастоцитов и отдельных форм после гидратации увеличивается, можно сделать предположение, что часть клеток из капсулы зоны может мигрировать в кортикальную область почки. Выявленные изменения состава популяции мастоцитов почечной капсулы, индуцированные водной нагрузкой, свидетельствуют об их активной интеграции в процессы почечного ответа на гидратацию.

Из полученных данных следует вывод, что в интактной почечной капсуле тучных клеток в поле зрения наблюдается примерно в восемь раз больше, чем в кортикальной области взятой вместе с капсулой на сагиттальных срезах интактной почки. Водная нагрузка индуцирует уменьшение числа тучных клеток в капсуле, но во вместе взятой капсуле и субкапсулярной области сагиттальных срезов почки общее количество мастоцитов и их отдельных форм в результате гидратации увеличивается. Данное обстоятельство позволяет предположить, что тучные клетки почечной капсулы способны мигрировать в кортикальные отделы почки в случае функциональной необходимости.

1,6-1,4 раза к концу 1-го и 4-го ч инкубации ($p < 0,03$) и снизился на 48 % через 2 ч от момента гидратации ($p < 0,0001$). На фоне предшествующего избыточного поступления меди водная нагрузка инициировала увеличение содержания серотонина в дистальных канальцах нефрона в 1,4 раза ($p < 0,05$) через 4 ч инкубации (Рис. 36).

Таким образом, также как и в эксперименте с цинком, наблюдалась выраженная ответная реакция со стороны тканевых медиаторов почечных структур (в отличие от эксперимента только с гидратацией), однако, направленность этих изменений носила противоположный характер. Так, под влиянием водной нагрузки уровень ацетилхолина снижался в клубочковом аппарате и петлях Генле и увеличивался только через 4 ч в канальцах; флуоресценция гистамина снижалась в клубочках с последующим восстановлением к концу 3-го ч нагрузки и возрастала в канальцевом аппарате (проксимальные канальцы, петли Генле). Изменения со стороны серотонина и катехоламинов также носили однонаправленный характер, однако, в отличие от «цинковых» крыс содержание этих аутоакоидов увеличивалось через 3-4 ч после гидратации.

На фоне длительного избыточного поступления Cu^{++} у контрольных крыс в почечной капсуле произошло снижение уровня ацетилхолина в 2,3 раза ($p < 0,001$) и увеличение содержания серотонина на 45 % ($p < 0,05$) (Рис. 37). Уровень люминесценции ацетилхолина на фоне проводимой водной нагрузки возрос в 8,4 раза к концу 1-го ч наблюдения ($p < 0,001$), в 4,8 раза к концу 2-го ч ($p < 0,001$) и на 25 % к концу 3-го ч эксперимента ($p < 0,05$) (Рис. 37).

Содержание гистамина через 2 и 3 ч гидратации было меньше контрольного в 2,2 раза ($p < 0,01$) (Рис. 38). К концу 2-го ч наблюдения под влиянием гидратации люминесценция серотонина снизилась на 45 % по сравнению с контролем ($p < 0,01$) и увеличилась в 2,8 раза через 3 ч ($p < 0,001$) (Рис. 39). Свечение катехоламинов в изучаемой структуре к концу 2-го ч гидратации было ниже контрольного в 1,9 раза ($p < 0,001$) и в 2,5 раза выше к концу 3-го ч ($p < 0,001$) (Рис. 40).

В группе контрольных крыс под влиянием изолированного избыточного поступления меди произошло снижение флуоресценции серотонина в субкапсулярных клубочках в 3 раза ($p < 0,001$) и увеличение в проксимальных канальцах на 22 % ($p < 0,05$) по сравнению с интактным органом. В остальных структурах почки свечение амина находилось на интактном уровне (Рис. 36).

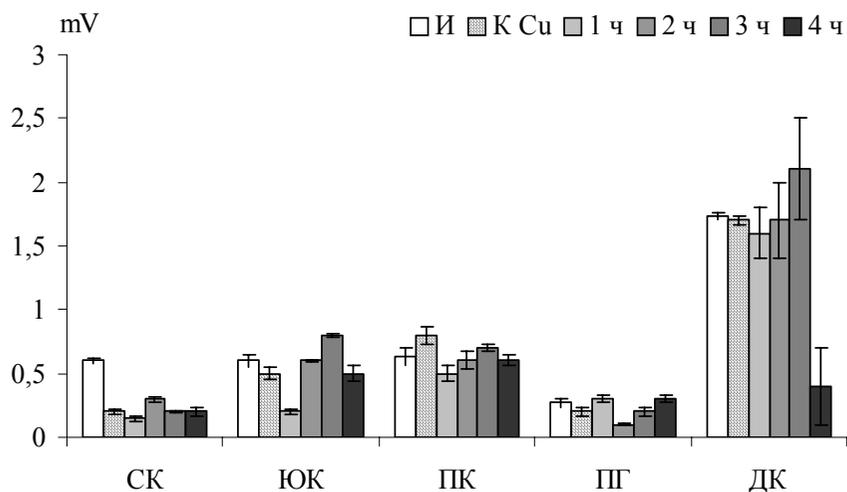


Рис. 36. Влияние водной нагрузки на содержание серотонина в структурах почки в условиях предшествующего поступления Cu^{++} , $N=15$, $n=20$, $M \pm m$

После проведения водной нагрузки через 2 ч в субкапсулярных клубочках было выявлено увеличение содержания серотонина на 47 % ($p < 0,01$) по отношению к контрольному значению. В юкстамедуллярных клубочках интенсивность свечения изучаемого вещества была снижена в 2,5 раз ($p < 0,0001$) через 1 ч инкубации и возросла в 1,6 раз через 3 ч после проведения гидратации ($p < 0,05$) (Рис. 36). На протяжении 1-го, 2-го и 4-го ч после внутрибрюшинного введения крысам воды флуоресценция биологически активного вещества в проксимальных канальцах была ниже контрольной на 68-75 % ($p < 0,05$). В петлях Генле уровень амина увеличился в

ГЛАВА 4. Реакция тучноклеточной популяции почки и почечной капсулы на хроническое потребление ионов металлов и гидратацию на их фоне

Учитывая факт, что популяция мастоцитов какого-либо органа (численность и морфофункциональные особенности) может рассматриваться как своеобразный индикатор функциональной напряженности органа или ткани [10], нами были проведены эксперименты с длительным хроническим водным потреблением двухвалентных ионов цинка, меди и молибдена и отслежена реакция тучных клеток почки и ее капсулы на водную нагрузку в условиях обычного и измененного микроэлементного гомеостаза.

Одними из множества синтезируемых и выделяемых мастоцитами биоаминов являются серотонин и катехоламины. В синтезе и деградации этих веществ принимают участие такие микроэлементы, как медь и цинк [1, 35]. Однако если до настоящего времени подробно изучены дефицитные состояния этих атомовитов, то избыточные состояния считаются редкой патологией, связанной, в основном, с промышленной и горнодобывающей токсикологией. В настоящее время, в связи с бесконтрольным широким распространением пищевых добавок, содержащих иногда очень большие дозы микроэлементов, их избыточное пищевое поступление становится актуальной медицинской проблемой. При этом клинические критерии применения тех или иных микроэлементов, вопросы дозирования, сочетаемости, влияния избытка на физиологические и патологические процессы не изучены. По данным СанПин, такие микроэлементы как цинк и медь, считаются относительно безопасными, поэтому ПДК для них определены по органолептическим свойствам. Однако очевидно, что изменение вкуса воды при избытке меди или цинка может быть маскировано другими факторами, например жесткостью или примесью солей железа из водопровода. Такой микроэлемент как молибден с одной стороны является антагонистом меди в отношении влияния на организм, а с другой сто-

роны, является организатором аллостерического центра NADPH-зависимой дегидрогеназы, цитозольная часть которой является NO-синтетазой. Как известно многие эффекты ацетилхолина реализуются посредством синтеза NO. Данный фермент синтезируется многими клетками, в том числе и мастоцитами [20, 33, 48]. Между медью и молибденом, как микроэлементами, существуют антагонистические взаимоотношения в отношении влияния на организм [1, 35, 36].

4.1. Влияние водной нагрузки на популяцию тучных клеток почки и почечной капсулы на фоне предшествующего потребления Zn^{++}

Для оценки специфичности медного нарушения транскрипционного паттерна для II-й группы из 20 животных был применен сульфат цинка, являющийся антагонистом меди [1, 35], в количестве 50 мг/л Zn^{++} , эквивалентном в эксперименте с потреблением меди. Выбранная доза цинка, $6 \pm 0,01$ мг/кг массы в сутки, сопоставима с рекомендуемой для людей максимальной лечебной дозой ионизированного цинка (3,9 мг/кг массы в сутки), получаемой при использовании перорального препарата цинктерал Рег. № П №011693/01-2001.

У контрольных крыс питьевое потребление Zn^{++} в течение шести месяцев не вызывало статистически достоверных изменений общего числа и отдельных форм тучных клеток в почечной капсуле. В обоих случаях 70-80 % клеток пребывало в состоянии дегрануляции, 20-30 % было представлено целыми формами, все клетки являлись β -метахроматичными (Рис. 3, Фото 10). На этом фоне проведение водной нагрузки привело к тому, что через 1 ч в капсуле на весь препарат можно было обнаружить всего 5-7 клеток; в дальнейшем, к концу 2-го ч инкубации во всем препарате почки выявлялись единичные мастоциты в поле зрения. Через 3 и 4 ч после гидратации тучные клетки в препаратах не обнаруживались полностью.

(Рис. 35). Через 2 ч после проведения водной нагрузки произошло снижение флуоресценции катехоламинов в 2,5 раза в субкапсулярных клубочках ($p < 0,005$) и в 1,6 раз в юкстамедуллярных клубочках через 1 ч ($p < 0,0001$). В последних структурах через 3 ч инкубации содержание изучаемых веществ превысило контрольное значение в 1,9 раз ($p < 0,03$), (Рис. 35). В проксимальных канальцах и петлях Генле гидратация через 2 ч от момента ее проведения инициировала падение интенсивности свечения катехоламинов в 1,4 и 1,6 раз соответственно ($p < 0,05$), кроме того, в петлях Генле наблюдалось увеличение уровня этих веществ в 1,6 раз к концу 1-го и 4-го ч инкубации ($p < 0,01$). В дистальных канальцах изменение флуоресценции произошло через 4 ч наблюдения: содержание катехоламинов превысило контрольное значение на 48 % ($p < 0,05$), (Рис. 35).

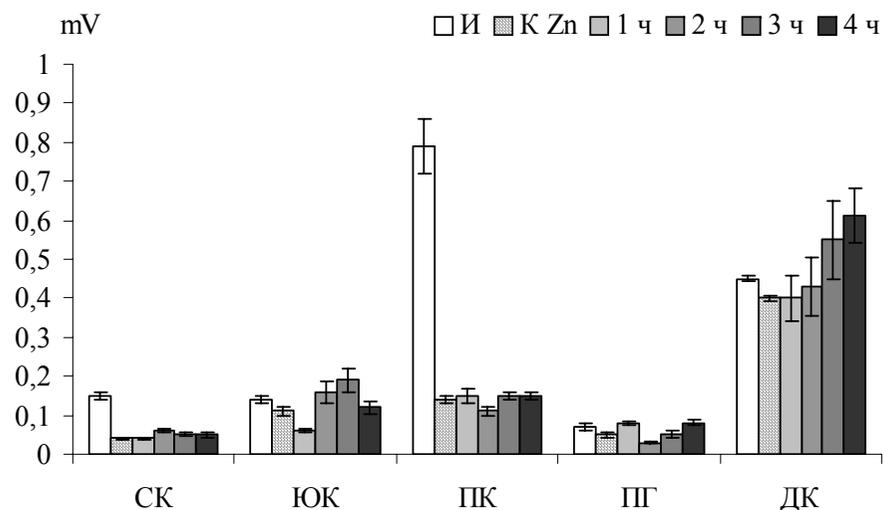


Рис. 35. Влияние водной нагрузки на содержание катехоламинов в структурах почки в условиях предшествующего поступления Cu^{++} , $N=15$, $n=20$, $M \pm m$

ше такового в 2 раза ($p < 0,005$). В петлях Генле водная нагрузка инициировала увеличение флуоресценции гистамина к концу 2-го и 3-го ч от момента ее проведения в 1,5 раз ($p < 0,01$). В дистальных канальцах изменение уровня амина наблюдалось через 3 и 4 ч после гидратации: произошло уменьшение интенсивности свечения вещества в 1,2-1,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольным органом (Рис. 34).

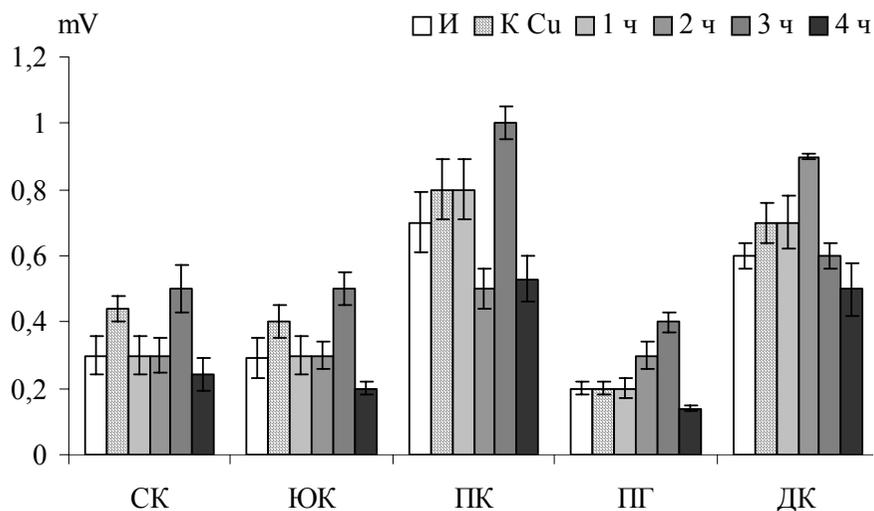


Рис. 34. Влияние водной нагрузки на содержание гистамина в структурах почки на фоне предшествующего питьевого потребления Cu^{++} , $N=15, n=20$

Увеличение свечения медиатора у контрольных крыс в субкапсулярных клубочках и снижение флуоресценции через 2 и 4 ч после гидратации в обоих видах клубочков; отсутствуют изменения содержания вещества на контроле, наблюдается снижение флуоресценции амина в канальцевых структурах через 4 ч после гидратации, увеличение – через 3 ч в проксимальных канальцах и к концу 2-го и 3-го ч инкубации в петлях Генле

Водное потребление Cu^{++} индуцировало уменьшение уровня катехоламинов в субкапсулярных клубочках и проксимальных канальцах в 3,75 и 5,6 раза ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с интактным органом. В других структурах почки не выявлено изменений у контрольных крыс

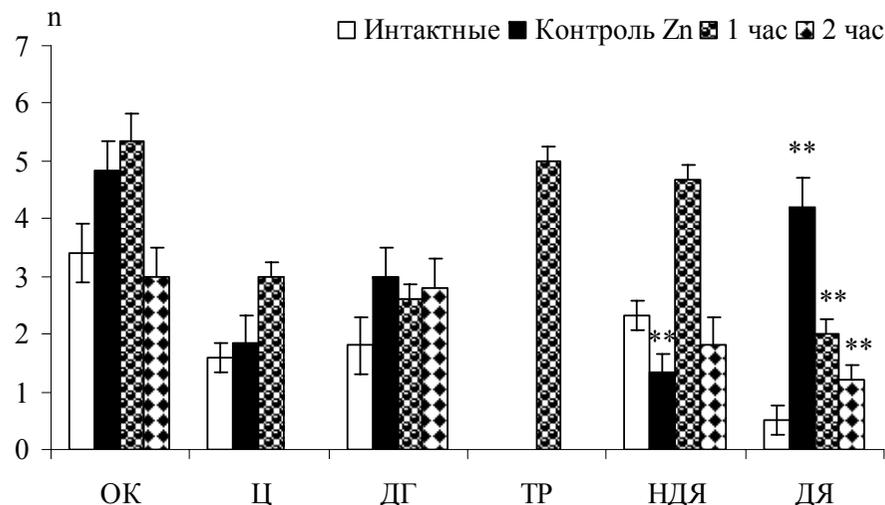


Рис. 3. Влияние водной нагрузки на тучные клетки почечной капсулы в условиях потребления цинка, $N=5, n=10, M \pm m$
Примечание: НДЯ – тучные клетки с недифференцируемым ядром; ДЯ – тучные клетки с дифференцируемым ядром;

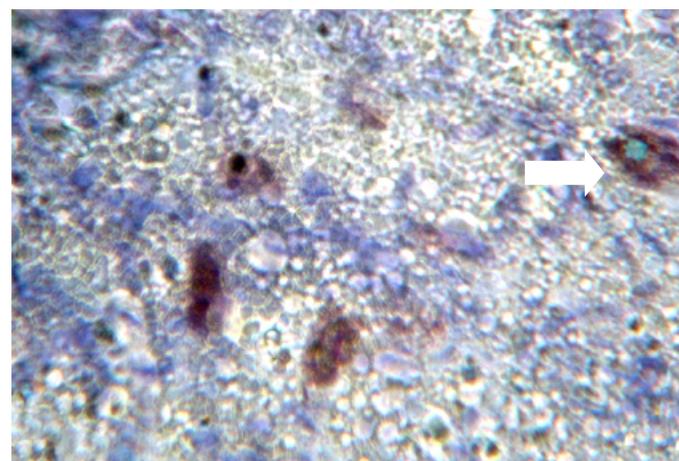


Фото 10. Почечная капсула через 1 ч после гидратации на фоне потребления цинка, окраска по Унна. Дегранулирующие тучные клетки, стрелкой показана тучная клетка с дифференцируемым ядром

Параллельно со снижением общего числа тканевых базофилов после проведения водной нагрузки из популяции исчезли целые тучные клетки, не обнаруживались и клетки с тотальным распадом; кроме β -метахроматичных тканевых базофилов стали выявляться лаброциты с γ -метахромазией, число которых составляло 20-30 %, что может свидетельствовать о запуске иммунных реакций с участием тучных клеток. Обращает на себя внимание появление тучных клеток с дифференцируемым ядром после гидратации. Это редкое явление, которого мы не наблюдали, например, после гидратации интактных крыс, описанной в этом же номере журнала. Поскольку ядра этих клеток обычно скрыты гранулами, то появление тучных клеток с дифференцируемым ядром может быть объяснено нарушением или замедлением процессов формирования гранул в тучной клетке. Данные изменения, вероятно, связаны с нарушением деления молодых форм тучных клеток и их дальнейшей дифференциацией с последующим «старением» и полной истощаемостью почечной популяции тучных клеток.

Таким образом, наблюдаемая картина является обратной по отношению к эксперименту с гидратацией, в котором наблюдалось увеличение общего количества тучных клеток и отдельных форм. Данные изменения, вероятно, связаны с нарушением деления молодых форм тучных клеток и их дальнейшей дифференциацией с последующим «старением» и полной истощаемостью почечной популяции тучных клеток.

Тучные клетки, развивающиеся у млекопитающих из фибробластоподобных клеток, как в ходе нормального развития, так и при различной патологии, способны к активному перемещению. Вероятно, мастоциты, как клетки, функционально близкие к фибробластам, могут принимать участие в формировании рубцовой ткани, то есть, участвовать в процессах фиброза и склерозирования почки. Мнения о роли тучных клеток в развитии почечного фиброза противоречивы, ряд авторов считает тучные клетки непосредственными виновниками формирования почечного фиброза [27, 66, 78], другие по-

ному значению через 2 и 3 ч инкубации, в течение 4-го ч после гидратации свечение биологически активного вещества повторно превысило контрольное значение в 1,8 раза ($p < 0,0001$), (Рис. 33).

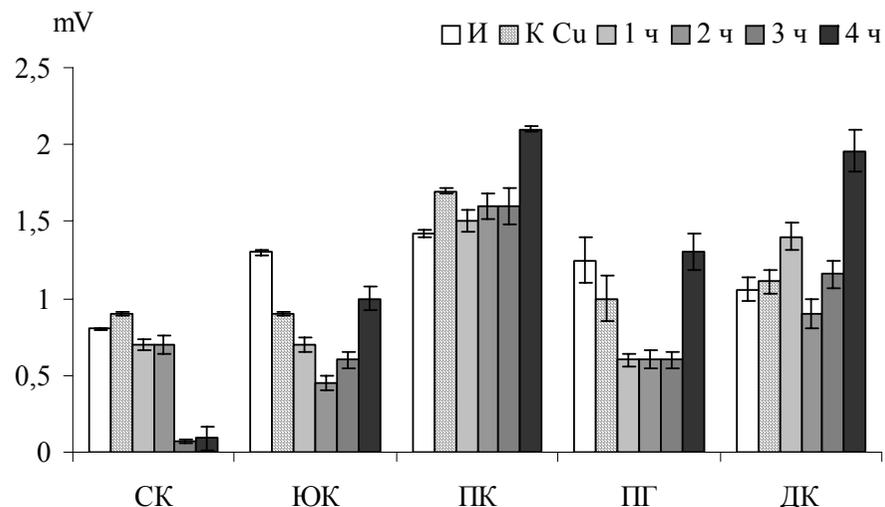


Рис. 33. Влияние водной нагрузки на содержание ацетилхолина в структурах почки в условиях предшествующего питьевого потребления меди, $N=15$, $n=20$, $M \pm m$

У крыс, находившихся в течение 24 недель в условиях избыточного потребления Cu^{++} , произошло увеличение содержание гистамина в субкапсулярных клубочках на 33 % ($p < 0,03$) по сравнению с интактными животными. В остальных структурах почки у контрольных крыс изменений не выявлено (Рис. 34). На фоне избыточного поступления металла через 1 ч после внутрибрюшинного введения воды в юкстамедулярных клубочках наблюдалось падение уровня амина в 1,3 раза ($p < 0,05$). Спустя 2 ч после проведения гидратации в обоих видах клубочков выявлено снижение свечения гистамина в 1,3 раза ($p < 0,03$) и в 2-2,3 раза через 4 ч наблюдения ($p < 0,0001$), (Рис. 34). В проксимальных канальцах через 2 и 4 ч инкубации содержание биологически активного вещества было ниже контрольного на 38 % ($p < 0,03$), а через 3 ч – боль-

Поскольку потребление цинка индуцировало резкое уменьшение количества мастоцитов в почке и почечной капсуле, исследовать корреляционные связи вследствие малого количества данных, не представляется возможным.

Таким образом, в почечной капсуле у крыс с предшествующим длительным избыточным поступлением цинка под влиянием водной нагрузки наблюдалось снижение уровня ацетилхолина, серотонина и катехоламинов, в отличие от эксперимента с гидратации, которая привела к увеличению содержания этих веществ, но сохраняется эффект падения флуоресценции гистамина через 3 ч после водной нагрузки (пик гидратации).

5.3. Взаимосвязь транзитного статуса и популяции тучных клеток почки и почечной капсулы на фоне питьевого потребления Cu^{+2}

У крыс с избыточным потреблением меди произошло падение уровня ацетилхолина в юкстамедуллярных клубочках на 30 % по сравнению с интактным органом ($p < 0,04$). Содержание медиатора в субкапсулярных клубочках и канальцевом аппарате не претерпело изменений (Рис. 33). Водная нагрузка на фоне предшествующего избыточного поступления металла инициировала снижение интенсивности свечения ацетилхолина на 23 % ($p < 0,03$) через 1 ч после ее проведения в субкапсулярных клубочках и на 56 % и 44 % в юкстамедуллярных клубочках через 2 и 3 ч соответственно ($p < 0,0001$ и $p < 0,01$), (Рис. 33).

Через 4 ч после гидратации в 1,3 раза увеличилось содержание медиатора в проксимальных канальцах и петлях Генле ($p < 0,05$), при этом в последних увеличению уровня вещества предшествовало его снижение на 38 % ($p < 0,01$) в течение первых 3-х ч инкубации. В дистальных канальцах нефрона через 1 ч после введения крысам воды флуоресценция ацетилхолина возросла на 30 % ($p < 0,01$) и вернулась к контроль-

стируют их защитную роль при данной патологии [64]. Различия мнений могут быть вызваны тем, что процитированные исследования базируются на изучении фиброза, вызванного разными этиологическими причинами – гипертонической болезнью, сахарным диабетом, интерстициальным нефритом [66, 78] и унилатеральной обструкцией мочеточника [64].

Клинический подход при изучении роли каких-либо клеточных образований в формировании патологии может быть продуктивен только в том случае, если определена специфичная клеточная функция или набор функций. Кроме того, сравнение течения различных по этиологии и патогенезу патологических процессов без учета давности возникновения и течения болезни закономерно несостоятельно, если неизвестна, хотя бы, норма. Тогда как физиология тучных клеток остается недостаточно изученной.

Тучные клетки, как тканевые базофилы, способны к активному перемещению в тканях по прослойкам соединительной ткани. Движение одиночных клеток не мышечной природы осуществляется с помощью тубулиновых микрофиламентов. Фактором, обеспечивающим работу этих образований, является двухвалентный цинк [1]. Поэтому перемещение тучных клеток в зону воспаления может быть заблокировано избытком двухвалентного цинка. Кроме того, в гранулах мастоцитов найдено высокое содержание цинка, образующего комплекс гепарин-цинк-гистамин [10], поэтому дополнительное назначение препаратов цинка может профилактировать гистаминолиберацию и, соотв., обрывать воспалительный процесс. Как известно, цинк играет важную роль в синтезе белка и нуклеиновых кислот, присутствует во всех изученных на данное время нуклеотидилтрансферазах, а также в обратной транскриптазе. Он необходим для стабилизации структуры ДНК, РНК и рибосом, играет важную роль в процессе трансляции, и поэтому незаменим на многих этапах экспрессии генов. Стабилизирует микротрубочки цитоскелета. В связи с чем, этот микроэлемент необходим для роста, деления и дифференцировки клеток [1, 35, 36]. Поэтому выявленные изме-

нения, возможно, связаны с нарушением функции тубулинового аппарата мастоцитов и, как следствие, нарушением деления молодых форм тучных клеток, поскольку избыточное количество этого микроэлемента способно блокировать зависимые от него ферментные системы. Учитывая, что в больших дозах цинк тормозит гуморальные и клеточные иммунные реакции [28], можно предположить, что хемотаксическая активность мастоцитов снижается. В результате, в ответ на острую гидратацию становится невозможным быстрое обновление популяции тучных клеток.

Таким образом, под влиянием гидратации в условиях длительного потребления Zn^{++} мастоциты полностью исчезают из препаратов.

4.2. Влияние водной нагрузки на тучноклеточную популяцию почки и почечной капсулы на фоне потребления Cu^{++}

Подопытные крысы – 40 животных – в течение 24 нед. в режиме свободного потребления получала с водой ионы Cu^{++} в виде сульфата 50 мг/л Cu^{++} , исходя из расчета, что при суточном потреблении воды у крыс массой 150-180 г около 20 мл [19], суточное поступление Cu^{++} составит $1 \pm 0,01$ мг/сут, или $6 \pm 0,02$ мг/кг массы в сутки. Количественно это равно $1/20$ ЛД₅₀ Cu^{++} для крыс, либо эквивалентно суточному потреблению при содержании в воде Cu^{++} 10ПДК (1 ПДК Cu^{++} – 5 мг/л). Интактные крысы находились в режиме свободного доступа к питьевой воде, не содержащей дополнительного количества Cu^{++} . По окончании эксперимента подопытные крысы были разделены на пять групп: контрольные – не получили водной нагрузки (8 крыс), и гидратированные – получили водную нагрузку в объеме 6 % от массы тела внутрибрюшинно. Гидратированные крысы группами по 8 штук были подвергнуты эфирной эвтаназии через 1, 2 3 и 4 ч после гидратации.

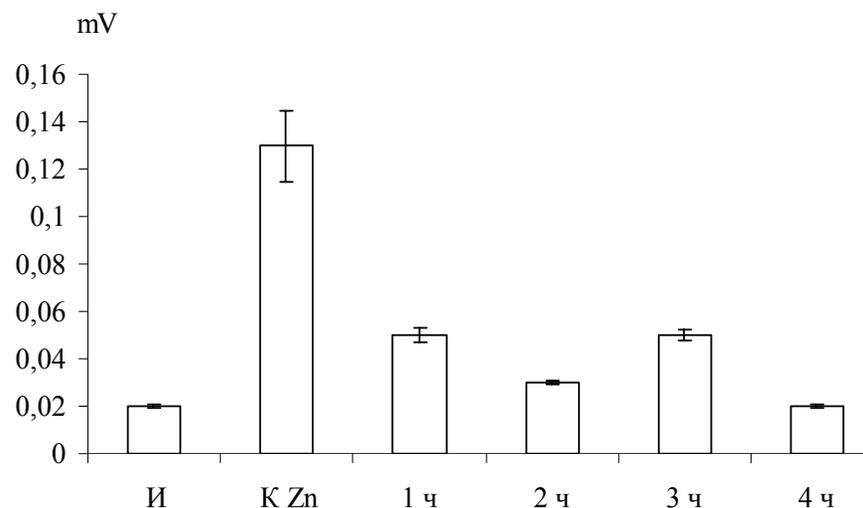


Рис. 31. Влияние водной нагрузки на содержание серотонина в почечной капсуле в условиях питьевого потребления Zn^{++} , $N=10$, $n=20$, $M \pm m$. Увеличение содержания амина у контрольных крыс и снижение флуоресценции в результате гидратации

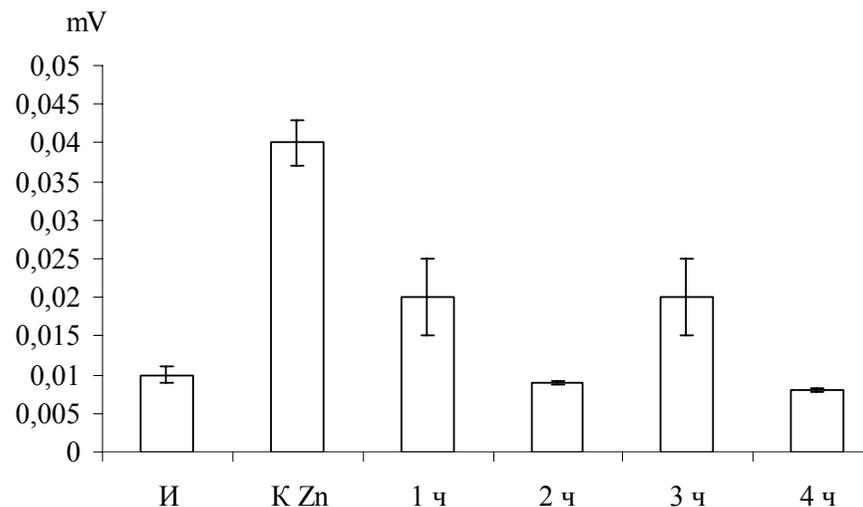


Рис. 32. Влияние водной нагрузки на содержание катехоламина в почечной капсуле в условиях поступления цинка, $N=10$, $n=20$, $M \pm m$

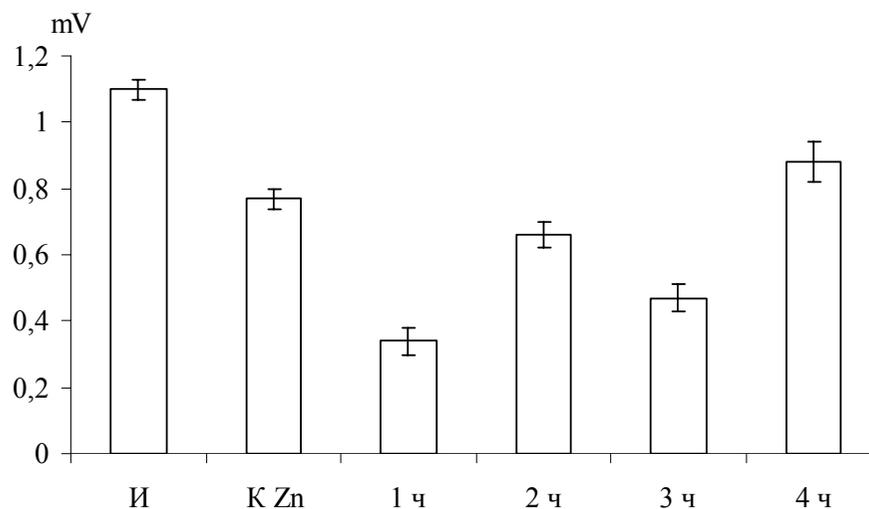


Рис. 29. Влияние водной нагрузки на содержание ацетилхолина в почечной капсуле в условиях питьевого потребления Zn^{++} , $N=10$, $n=20$, $M\pm m$

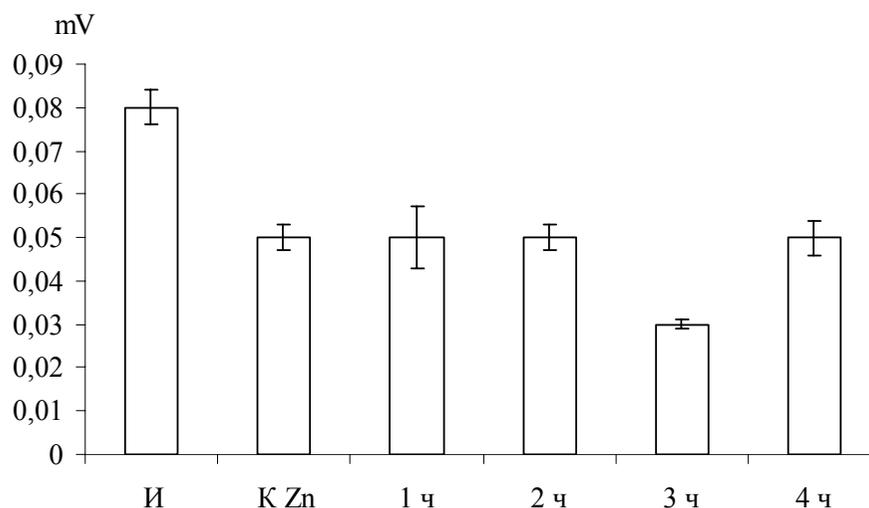


Рис. 30. Влияние водной нагрузки на содержание гистамина в почечной капсуле в условиях питьевого потребления цинка, $N=10$, $n=20$, $M\pm m$

Питьевое потребление Cu^{++} у крыс контрольной группы не изменило общего количества тучных клеток и их отдельных форм в капсуле и субкапсулярной области коркового вещества почки по сравнению с интактным органом (Рис. 4). Гидратация на этом фоне инициировала увеличение общего числа мастоцитов через 1 ч после гидратации в 1,9 раз ($p<0,05$) и снижение целых форм через 2 ч от момента гидратации в 2,2 раза ($p<0,05$).

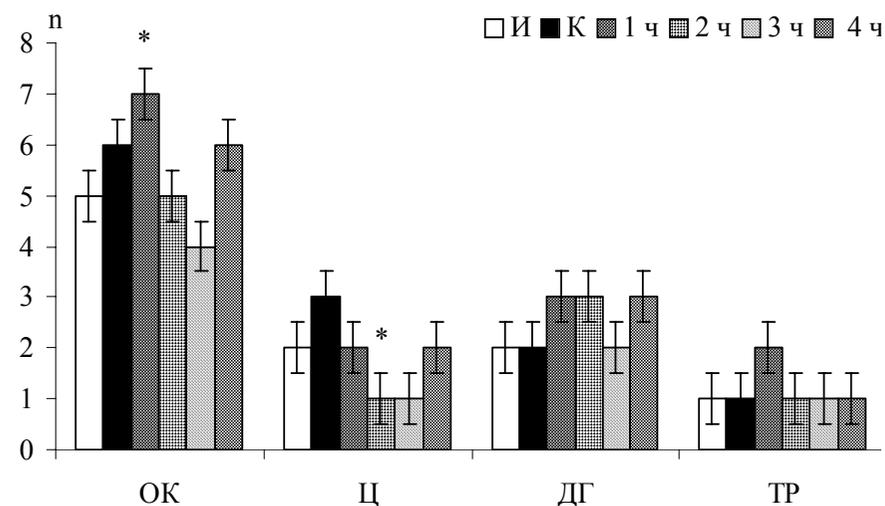


Рис. 4. Влияние гидратации на мастоциты корковой области почки в условиях потребления Cu^{++} , $N=15$, $n=15$, $M\pm m$

В течение всего периода инкубации не наблюдалось изменений количества дегранулирующих и тотально распавшихся лаброцитов (Рис. 4). В описанной области почки как у интактных, так и у контрольных крыс популяция тучных клеток была представлена β - и γ -метахроматичными формами, причем изолированное поступление в организм крыс Cu^{++} не изменило их числа, по сравнению с интактным органом (Рис. 5). Гидратация увеличила число β -метахроматичных тканевых базофилов к концу 1-го и 4-го ч в 3,1 и 2,2 раза соотв. ($p<0,01$). Через 2 ч после внутрибрюшинного введения

воды возросло число γ -метахроматичных клеток в 2,2 раза по сравнению с контрольным органом ($p < 0,02$).

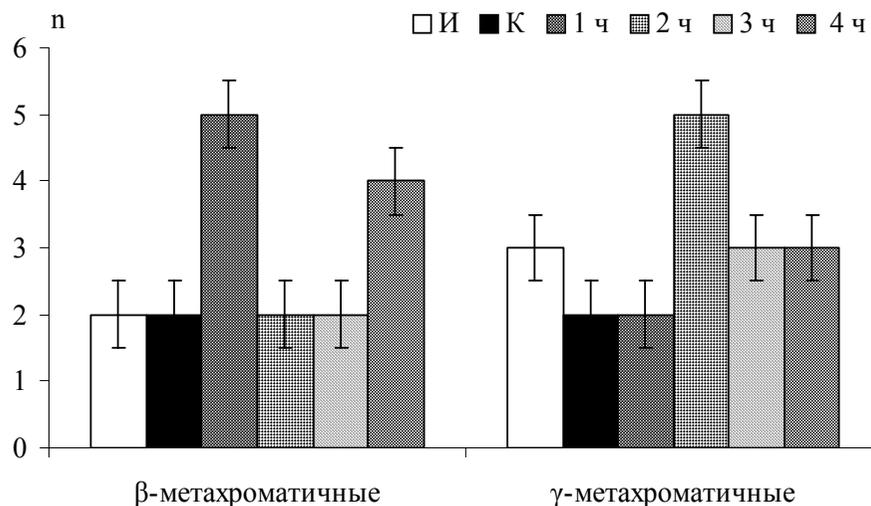


Рис. 5. Влияние гидратации на метахромию мастоцитов корковой области почки в условиях предшествующего избыточного поступления Cu^{++} , $N=15$, $n=15$, $M \pm m$

Таким образом, водная нагрузка на фоне потребления Cu^{++} индуцирует увеличения общее количество тучных клеток через 1 ч после гидратации, а также изменяет степень зрелости мастоцитов за счет увеличения доли γ -метахроматичных клеток, в отличие от опыта с Zn^{++} , где наблюдаемый эффект противоположный – уменьшение числа тучных клеток вплоть до полного истощения пула.

Под влиянием питьевого потребления меди в почечной капсуле увеличилось общее количество тучных клеток по сравнению с интактными животными ($p < 0,05$), число отдельных форм мастоцитов в популяции не претерпело изменений (Рис. 6, Фото 11 и 12). Через 1 ч гидратации в 2 раза увеличилось общее количество тучных клеток и их целых форм ($p < 0,05$) и в 5 раз количество totally распавшихся тканевых базофилов (0,001).

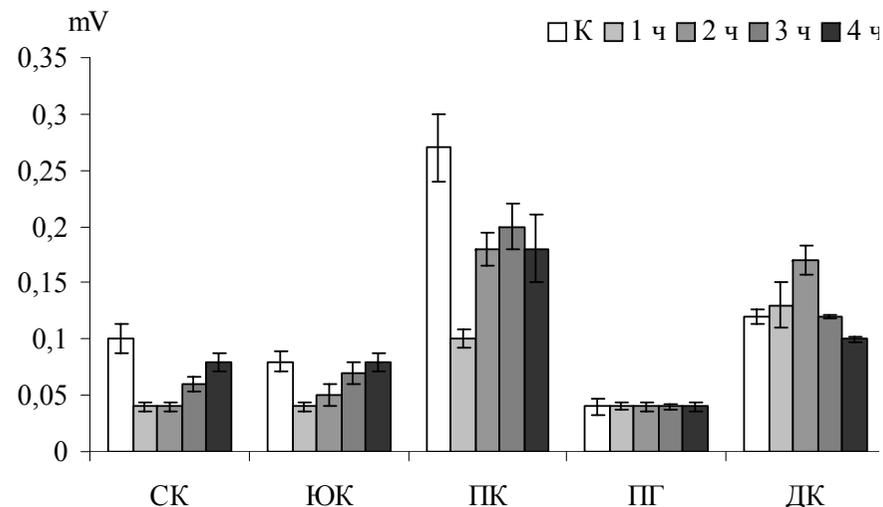


Рис. 28. Влияние водной нагрузки на содержание серотонина в структурах почки в условиях питьевого потребления цинка дозе $6 \pm 0,01$ мг/кг сут, $N=10$, $n=20$, $M \pm m$

У крыс в условиях длительного избыточного питьевого потребления цинка в почечной капсуле наблюдалось снижение флуоресценции ацетилхолина на 40 % ($p < 0,001$) по сравнению с интактными животными. Содержание серотонина возросло в 4,3 раза ($p < 0,001$), а катехоламинов – в 3,5 раза ($p < 0,001$) (Рис. 29 и 30). На фоне водной нагрузки тканевые концентрации ацетилхолина в течение первых 3-х ч наблюдения были ниже контрольного в 2,3 раза, на 16 % и в 1,6 раза соотв. ($p < 0,05$) (Табл. 16, Рис. 29).

Свечение гистамина к концу 3-го ч эксперимента уменьшилось в 1,6 раза ($p < 0,001$) (Рис. 30). Гидратация инициировала снижение флуоресценции серотонина в течение всего периода наблюдения в 2,6-6,5 раза ($p < 0,01$) (Рис. 31).

Свечение катехоламинов также было ниже контрольного значения в течение всего времени эксперимента в 1,8-4,3 раза ($p < 0,001$) (Рис. 32).

трольном уровне к концу 1-го, 3-го и 4-го ч и возросла к концу 2-го ч на 35 % ($p < 0,0001$) по сравнению с контрольной почкой.

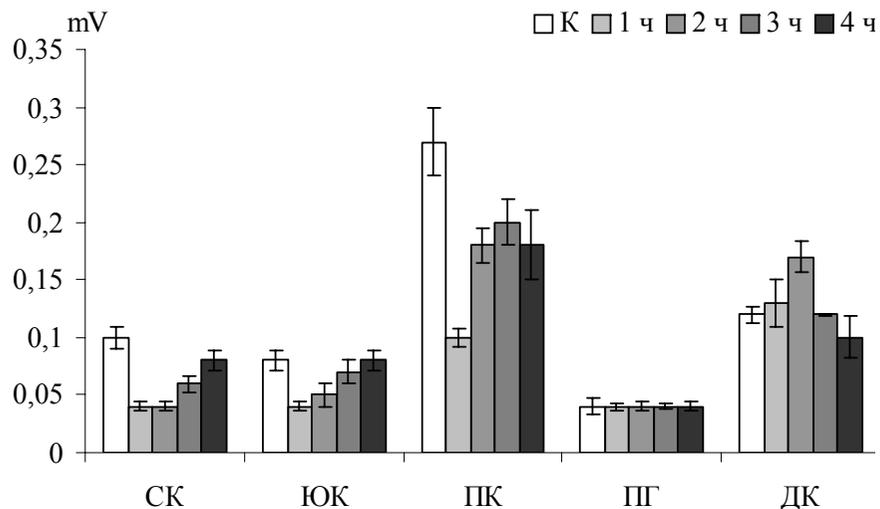


Рис. 27. Влияние водной нагрузки на содержание катехоламинов в структурах почки на фоне предшествующего питьевого потребления Zn^{++} , $N=10$, $n=20$

Снижение тканевых концентраций изучаемых веществ в течение первых 2-х ч после гидратации в субкапсулярных клубочках и к концу 2-го и 4-го часов наблюдения в юкстамедуллярных клубочках; в проксимальных канальцах – резкое снижение тканевых концентраций у контрольных крыс под влиянием гидратации; снижение уровня катехоламинов в дистальных канальцах через 3 ч и увеличение через 4 ч после нагрузки.

Таким образом, у крыс с длительным потреблением ионов Zn^{++} в ответ на гидратацию тканевой транмиттерный статус почечных структур претерпел значительные изменения (в отличие от эксперимента только с водной нагрузкой), причем содержание ацетилхолина и гистамина увеличилось с пиком уровня на высоте гидратации (через 3 ч нагрузки), а содержание серотонина и катехоламинов изменялось однонаправленно – уменьшалось в первые 2 ч эксперимента с последующим подъемом до исходного или выше контрольного значения.

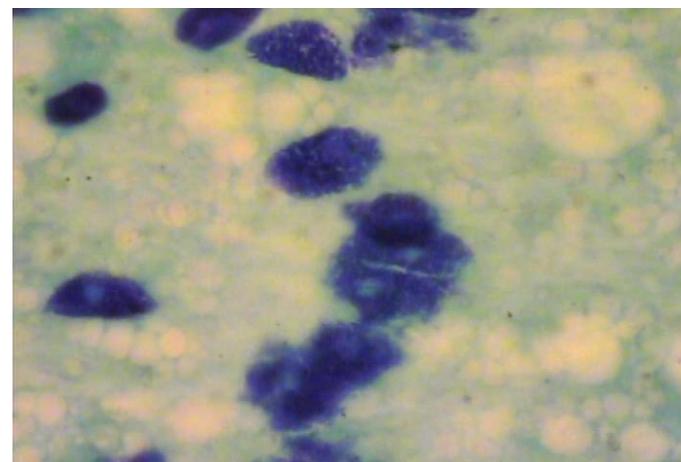


Фото 11. Тучные клетки в развернутой капсуле почки после 6 мес нагрузки медью Cu^{++} .

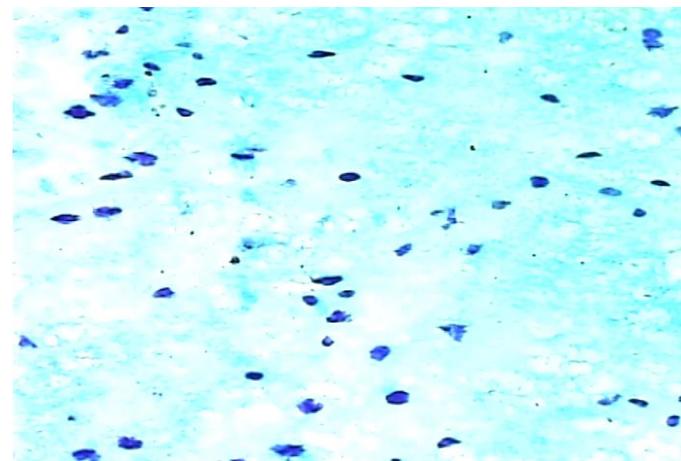


Фото 12. Тучные клетки в развернутой капсуле почки после 6 мес нагрузки Cu^{++} .

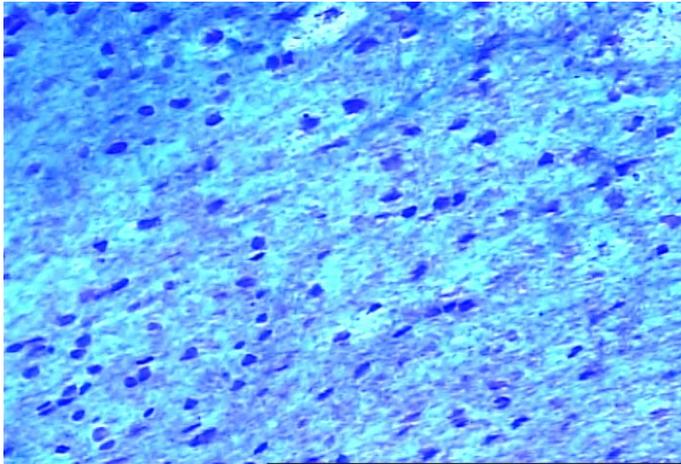


Фото 13. Тучные клетки в развернутой капсуле почки, 3-й ч гидратации на фоне 6 мес приема Cu^{++}

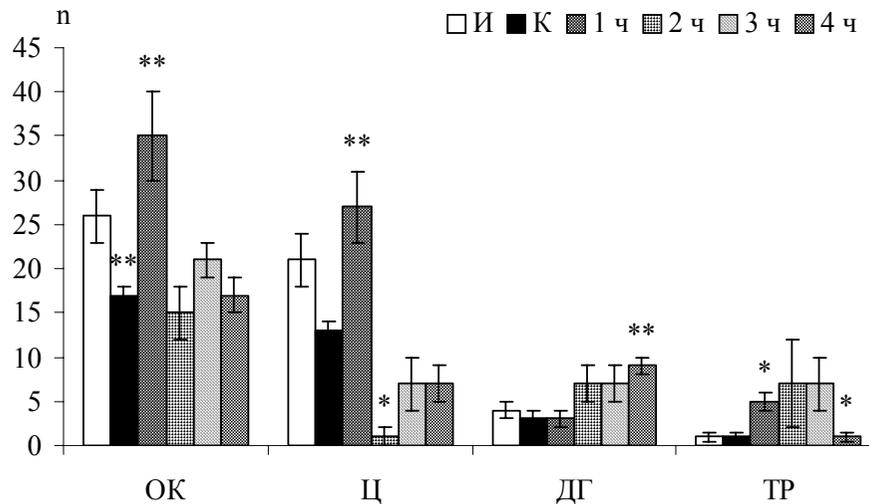


Рис. 6. Влияние водной нагрузки на тучные клетки почечной капсулы в условиях предшествующего избыточного поступления Cu^{++} , $N=5$, $n=10$, $M\pm m$

($p<0,005$) и затем вернулась к контрольному значению. К концу 4-го ч свечение изучаемых веществ увеличилось в 3 раза по сравнению с контрольным значением ($p<0,001$). В проксимальных канальцах водная нагрузка к концу 1-го ч инкубации инициировала падение уровня катехоламинов в 2,6 раз по отношению к контрольному ($p<0,0001$) (Рис. 26). Менее выраженное снижение флуоресценции (на 30-40 %) сохранялось в течение последующих 2-х ч ($p<0,02$), к концу 4-го ч интенсивность свечения возвратилась к контрольному значению. В петлях Генле за весь исследуемый период содержание катехоламинов не претерпело изменений. В дистальных канальцах уровень катехоламинов в течение первых 2-х ч не отличался от контрольного, к концу 3-го ч он снизился в 1,4 раза ($p<0,01$) и к концу 4-го ч – достоверно возрос в 1,5 раз ($p<0,01$).

Флуоресценция серотонина у крыс в контрольной группе под влиянием цинка уменьшилась почти в 2 раза в дистальных канальцах ($p<0,0001$) и не претерпела изменений в других изучаемых структурах почки по сравнению с интактной (Рис. 27).

Интенсивность свечения амина в субкапсулярных клубочках в течение первых 2-х ч после гидратации снизилась по сравнению с контролем в 2,5 раза ($p<0,0001$) и оставалась на 40 % ниже контрольной в течение последующего часа ($p<0,01$). Через 4 ч после водной нагрузки уровень исследуемого вещества вернулся к исходному. Достоверное падение уровня серотонина к концу 1-го ч в 2 раза было замечено в юкстамедуллярных клубочках ($p<0,0001$), однако, в последующие часы наблюдения флуоресценция вещества не отличалась от контрольной (Рис. 27).

В проксимальных канальцах гидратация привела к снижению содержания серотонина в течение всего периода наблюдения с пиком падения в 2,7 раз к концу 1-го ч ($p<0,0001$) (Рис. 27). Однако она совершенно не повлияла на уровень изучаемого амина в петлях Генле. В дистальных канальцах интенсивность флуоресценции серотонина оставалась на кон-

гидратации интенсивность флуоресценции вещества была снижена на 23 % и 44 % соответственно ($p < 0,01$ и $p < 0,0001$), содержание медиатора к концу 4-го ч наблюдения по отношению к контролю было ниже в 2,7 раз ($p < 0,0001$), (Рис. 25).

В проксимальных канальцах почек крыс под влиянием поступления цинка наблюдалось выраженное (в 3,7 раз) падение уровня катехоламинов по сравнению с интактным органом ($p < 0,0001$). Содержание этих веществ у контрольных крыс в других структурах не претерпело изменений (Рис. 26).

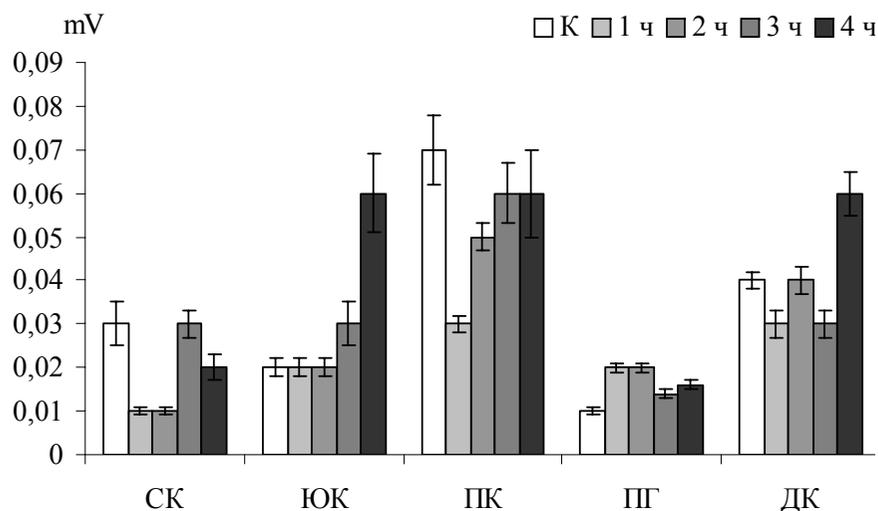


Рис. 26. Влияние водной нагрузки на содержание катехоламинов в структурах почки в условиях поступления цинка дозе $6 \pm 0,01$ мг/кг сут, $N=10$, $n=20$, $M \pm m$

Под влиянием введения воды уровень катехоламинов в субкапсулярных клубочках к концу первых 2-х ч эксперимента снизился по отношению к контрольному в 2,4 раза ($p < 0,001$). Однако, к концу 3-го ч свечение аминов вернулось к контрольному значению и оставалось таковым в течение последующего часа. В юкстамедуллярных клубочках флуоресценция катехоламинов не отличалась от контрольной к концу 1-го ч наблюдения, снизилась на 25 % к концу 2-го ч

К концу 2-го ч водной нагрузки количество целых клеток в поле зрения уменьшилось в 13 раз по сравнению с контролем ($p < 0,001$). К концу 4-го ч наблюдения число целых тучных клеток было ниже контрольного в 1,8 раза ($p < 0,05$), а количество дегранулирующих возросло в 3 раза ($p < 0,01$) (Рис. 6, Фото 14). В капсуле интактных крыс тучные клетки были представлены орто- и β -метахроматичными формами со значительным преобладанием вторых, на фоне избыточного поступления меди все мастоциты приобрели β -метахромазию (Рис. 7).

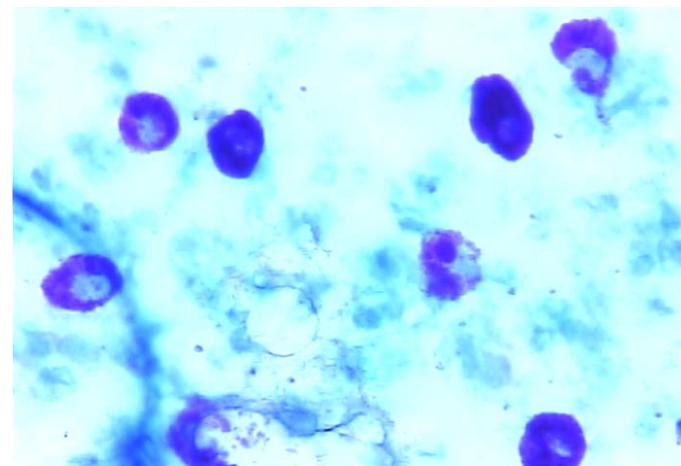


Фото 14. Тучные клетки в развернутой капсуле почки, 4-й ч гидратации после 6 мес приема Cu^{++}

Через 1 ч после проведения водной нагрузки все выявляемые тканевые базофилы были γ -хроматичными, встречались единичные β -метахроматичные клетки; в дальнейшие часы наблюдения все тучные клетки обладали β -метахромазией (Рис. 7).

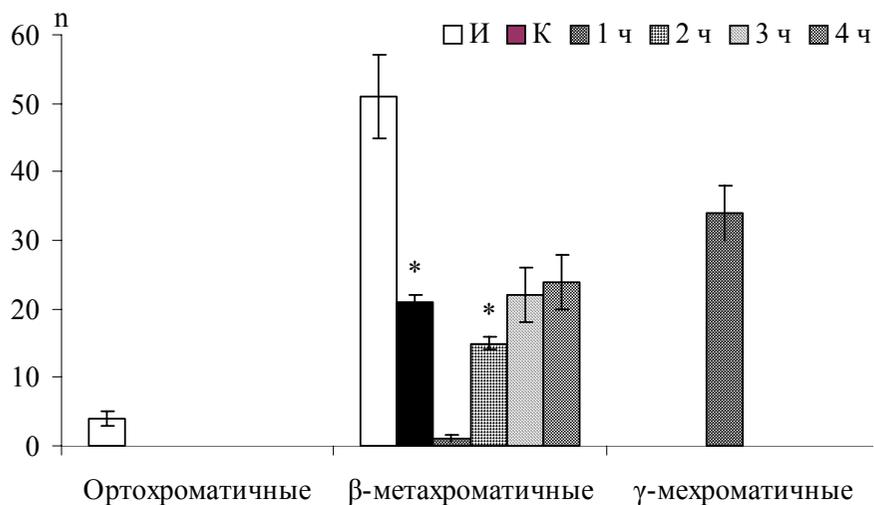


Рис. 7. Влияние водной нагрузки на метахроماзию тучных клеток почечной капсулы в условиях питьевого водного потребления Cu^{++} , $N=5$, $n=10$, $M\pm m$

Таким образом, в отличие от гидратации в условиях длительного поступления цинка, при котором наблюдается полное истощение тучноклеточного пула клеток, у крыс с избыточным поступлением меди происходит увеличение общего числа и отдельных форм тучных клеток через 1 ч после водной нагрузки; в дальнейшие часы гидратации наблюдалось снижение количества целых мастоцитов. Тучные клетки капсулы и субкапсулярной области коркового вещества на фронтальных срезах почки претерпевают те же изменения. При этом гидратация, проводимая на фоне избыточного поступления меди, изменяет степень зрелости тучных клеток. Подобная динамика изменения метахромазии мастоцитов наблюдалась в тканях почки с единственной разницей – с запаздыванием на 1 ч.

первых 2-х ч снижало флуоресценцию биоамина в 2,5 раза ниже контрольного в субкапсулярных клубочках ($p<0,0001$), но к концу 3-го ч содержание гистамина здесь возросло на 25 % ($p<0,05$), затем упало в 3 раза к концу 4-го ч ($p<0,0001$). В юкстамедуллярных клубочках к концу 1-го и 3-го ч инкубации свечение гистамина соответствовало контрольному, а через 2 и 4 ч после гидратации достоверно снизилось в 1,7 и 2,6 раз соответственно ($p<0,0001$), (Рис. 25).

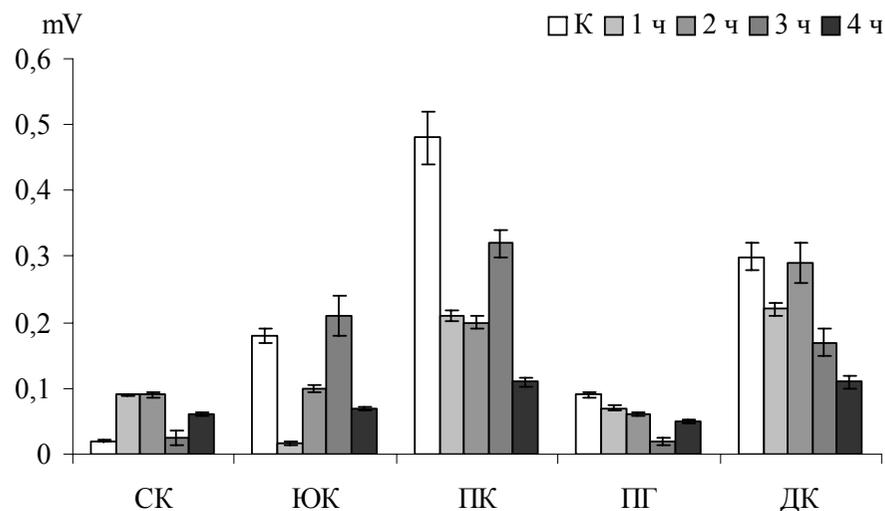
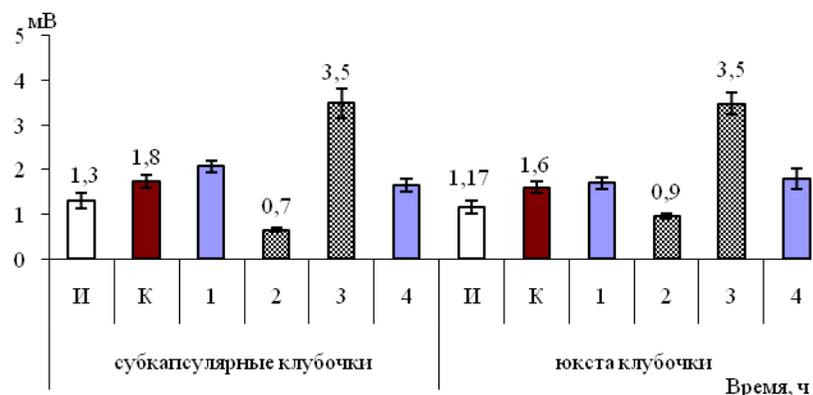
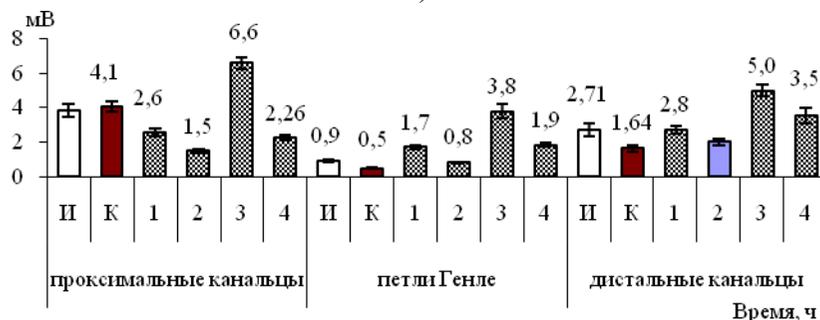


Рис. 25. Влияние водной нагрузки на содержание гистамина в структурах почки в условиях поступления цинка дозе $6\pm 0,01$ мг/кг сут, $N=10$, $n=20$, $M\pm m$

За все время наблюдения флуоресценция гистамина в проксимальных канальцах была ниже контрольной: к концу первых 2-х ч в 2,4 раза ($p<0,0001$), концу 3-го ч на 50 % ($p<0,001$), через 4 ч после нагрузки – в 4,3 раза ($p<0,0001$). В петлях Генле в течение первых 2-х ч после внутрибрюшинного введения воды отмечалось падение уровня гистамина ниже контрольного в 1,4-1,6 раз ($p<0,0001$). К концу 3-го ч свечение амина возросло на 33 % ($p<0,0001$) и к концу 4-го уменьшилось почти в 2 раза ($p<0,0001$). Через 1 и 3 ч после



А)



Б)

Рис. 24. А) Влияние гидратации на содержание ацетилхолина в клубочковом аппарате почки на фоне предшествующего питьевого поступления Zn^{++} , $N=10$, $n=20$: увеличение содержания медиатора у контрольных животных, падение флуоресценции чрез 2 ч и увеличение через 3 ч после гидратации.

Б) Влияние водной нагрузки на содержание ацетилхолина в канальцевом аппарате почки на фоне предшествующего поступления Zn^{++} , $N=10$, $n=20$: увеличение содержания медиатора в петлях Генле и дистальных канальцах в течение всего периода наблюдения и в проксимальных канальцах на высоте нагрузки (через 3 ч после гидратации).

У крыс потребление с водой Zn^{++} привело к возрастанию уровня гистамина в субкапсулярных клубочках на 42 % ($p<0,01$) и в 2,6 раз увеличило его в проксимальных канальцах по сравнению с интактной почкой ($p<0,0001$), (Рис. 25). Внутривентрикулярное введение воды 6 % от массы тела в течение

4.3. Влияние водной нагрузки на тучноклеточную популяцию почки на фоне предшествующего питьевого потребления Mo^{++}

В этом эксперименте интактная группа животных не получала никакой нагрузки. Вторая, контрольные, и третья группы – 20 животных – получали с водой ионы Mo^{++} 10 ПДК в виде молибдата аммония (СанПиН 2.1.4.559-96) [65], при этом суточное потребление ионов молибдена у крыс с указанной массой составило 0,014 мг/сут или $0,084 \pm 0,001$ мг/кг в сутки. Третья группа животных после шести месяцев питьевого потребления молибдена получила водную нагрузку в объеме 6 % от массы тела.

Водное потребление молибдена инициировало увеличение общего числа мастоцитов на 60 % и количество целых клеток в 4 раза по сравнению с интактными животными (Рис. 8). Гидратация в объеме 6 % от массы тела на фоне питьевого поступления металла индуцировала уменьшение общего числа лаброцитов к концу 1-го и 2-го ч наблюдения в 1,6 и 2,5 раза соответственно ($p<0,05$). И у интактных, и у контрольных крыс в субкапсулярной области и капсуле почки отсутствовали дегранулирующиеся тучные клетки (Рис. 8). Под влиянием водной нагрузки через 1 ч появляются единичные дегранулирующие мастоциты, их число возрастает до 2-4 клеток в поле зрения к концу 3-го и 4-го ч инкубации. После гидратации произошло исчезновение totally распадающихся лаброцитов из исследуемой области на протяжении 3-х ч наблюдения, а концу 4-го ч в препаратах стали появляться единичные тучные клетки с тотальным распадом (Рис. 8).

У интактных животных тучные клетки почечной капсулы были представлены орто-, β - и γ -метахроматичными формами, у крыс на избыточном поступлении молибдена вся популяция клеток имела γ -хромазию (Рис. 9). Через 1 и 3 ч после проведения гидратации выявлялись только β -метахроматичные мастоциты; к концу 2-го ч наблюдения тучные клетки снова имеют различную метахромазию (появляются орто- и γ -

клетки). К концу 4-го ч после гидратации вновь исчезают ортохроматичные клетки (Рис. 9).

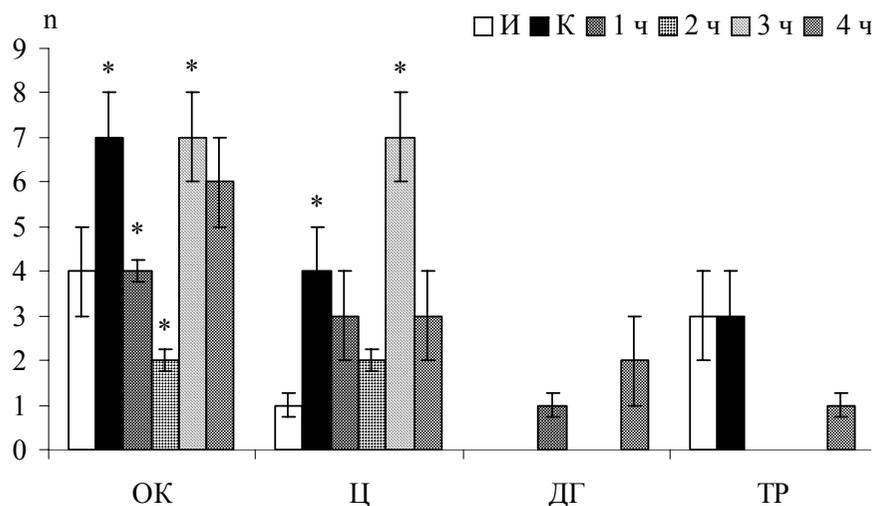


Рис. 8. Влияние гидратации на мастоциты капсулы и субкапсулярной области коркового вещества почки на фоне потребления Mo^{++} , $N=10$, $n=10$, $M\pm m$

Таким образом, под влиянием длительного избыточного поступления ионов молибдена увеличивается общее число и количество целых тучных клеток; в течение первых 2-х ч после проведения гидратации имеет место снижение общего количества мастоцитов и появление форм с дегрануляцией; однако, еще через час количество тучных клеток поднимается до контрольного значения с охранением в популяции дегранулирующих лаброцитов.

Наличие только γ -клеток у контрольных животных свидетельствует о высокой степени зрелости тучных клеток, появление β - и орто-хроматичных лаброцитов в препаратах в первые 2 ч гидратации свидетельствует, вероятно, о процессе обновления в популяции с последующим «созреванием» тучных клеток (исчезновением орто- и появление γ -клеток).

5.2. Взаимосвязь транмиттерного статуса и тучноклеточной популяции почки и почечной капсулы на фоне питьевого потребления Zn^{++}

У крыс, получавших Zn^{++} , свечение ацетилхолина увеличилось в юкстамедуллярных клубочках в 1,3 раза ($p<0,05$) и снизилось в дистальных канальцах и петлях Генле в 1,9 ($p<0,02$) и 1,7 раз ($p<0,0001$) соотв., по сравнению с интактным органом, и не претерпело изменений в остальных структурах почки (Рис. 24). Водная нагрузка в субкапсулярных клубочках не изменила содержание аминоспирта в течение 1-го ч наблюдения, но привела к резкому, в 2,7 раза ($p<0,0001$), повышению свечения ацетилхолина к концу 2-го ч, которое сменилось выраженным снижением ($p<0,0001$) к концу 3-го ч в 2 раза и возвратом к контрольному уровню флуоресценции к концу 4-го ч наблюдения. Идентичная картина изменений уровня ацетилхолина наблюдалась в юкстамедуллярных клубочках (Рис. 24).

В проксимальных канальцах в течение первых 2-х ч после гидратации содержание медиатора было снижено по сравнению с контролем в 2-2,5 раза ($p<0,001$), к концу 3-го ч свечение изучаемого вещества возросло по отношению к контрольному органу в 1,6 раз ($p<0,0001$), и оказалось достоверно сниженным к концу 4-го ч на 45 % ($p<0,001$). В петлях Генле под влиянием водной нагрузки в течение всего периода наблюдения флуоресценция ацетилхолина была выше, чем в контрольной почке: в конце 1-го ч – в 3,5 раз ($p<0,001$), к концу 2-го ч в 1,7 раз ($p<0,001$), к концу 3-го ч гидратации уровень флуоресценции достиг пика и превысил контрольный в 7,7 раз ($p<0,001$), через 4 ч инкубации содержание изучаемого вещества оставалось больше контрольного в 3,5 раз ($p<0,0001$). В дистальных канальцах содержание медиатора оставалось выше контрольного к концу 1-го, 4-го ч в 1,7 и 2 раза соотв. ($p<0,001$), через 3 ч после проведения водной нагрузки интенсивность свечения ацетилхолина возросла в 3 раза ($p<0,001$) по сравнению с контрольной (Рис. 24).

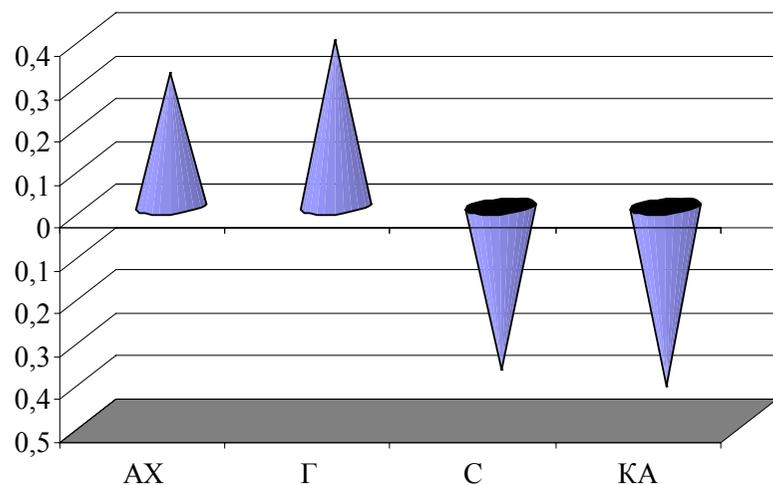


Рис. 23. Влияние водной нагрузки на корреляцию между общим числом мастоцитов и флуоресценцией тканевых транмиттеров почечной капсулы: недостоверная слабая прямая корреляция для ацетилхолина и гистамина и отрицательная для серотонина и катехоламинов.

Таким образом, водная нагрузка в почечной капсуле инициировала увеличение содержания ацетилхолина, серотонина и катехоловых аминов и вызвала снижение уровня гистамина, причем максимум реакции совпадал с пиком водной нагрузки – через 3 ч от момента проведения. При этом, увеличение содержания серотонина и катехоламинов, по-видимому, связано с появлением тотально распавшихся тучных клеток, а снижение гистамина – с потреблением его в связи с повышением тургорного давления и растяжением почечной капсулы; увеличение уровня ацетилхолина, возможно, связано с повышением афферентной импульсации в ответ на растяжение капсулы.

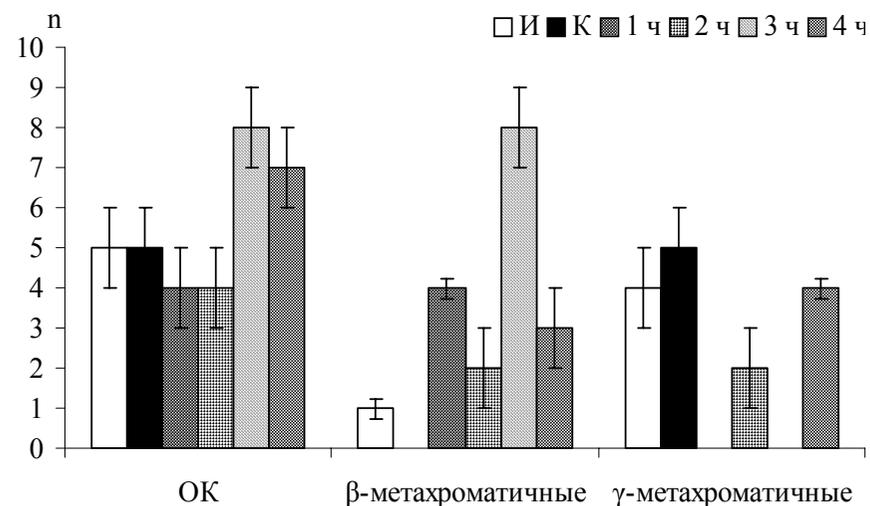


Рис. 9. Влияние гидратации на метахромазию тучных клеток капсулы и субкапсулярной области коркового вещества почки в условиях предшествующего поступления Mo^{++} , N=10, n=10, M±m

В почечной капсуле крыс, находившихся в условиях длительного избыточного поступления с питьевой водой молибдена, увеличилось общее количество мастоцитов в 3,8 раз ($p<0,001$) и отдельных форм (дегранулирующих клеток – в 4 раза, целых – 4,5 раза, тотально распавшихся – в 9 раз ($p<0,01$)) по сравнению с интактными животными (Рис. 10). Под влиянием водной нагрузки наблюдаемые изменения в тучноклеточной популяции капсулы, в отличие от опыта с цинком и медью, минимальные: уменьшилось общее количество мастоцитов через 2 ч гидратации в 2,1 раз ($p<0,05$) (Рис. 10) с последующим восстановлением к концу 3-го ч наблюдения.

Таким образом, поступление избыточного количества ионов наименьшим образом изменило ответную реакцию капсульных лаброцитов на водную нагрузку.

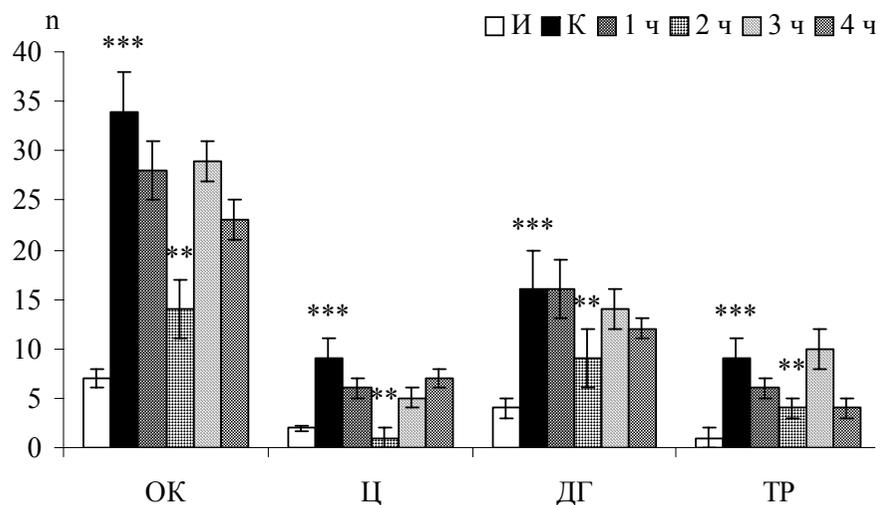


Рис. 10. Влияние водной нагрузки на тучные клетки почечной капсулы в условиях предшествующего поступления Mo^{++} , $N=5$, $n=10$, $M\pm m$

У крыс на длительном поступлении молибдена, как и у интактных животных, тучные клетки почечной капсулы представлены орто-, β - и γ -метахроматичными формами, однако количество β -метахроматичных мастоцитов было выше интактного в 10 раз ($p<0,01$) (Рис. 11).

После проведения водной нагрузки в течение первых 3-х ч из препаратов капсулы исчезли ортохроматичные клетки и снова появились к концу 4-го ч наблюдения (Рис. 11), при этом одновременно отсутствовали β -метахроматичные мастоциты, а вся популяция в основном была представлена γ -метахроматичными тучными клетками (Рис. 11).

прослеживается положительная корреляция средней степени ($r=0,63$, $p<0,05$), а в дистальных канальцах – отрицательная ($r=-0,075$, $p<0,05$), (Рис. 22).

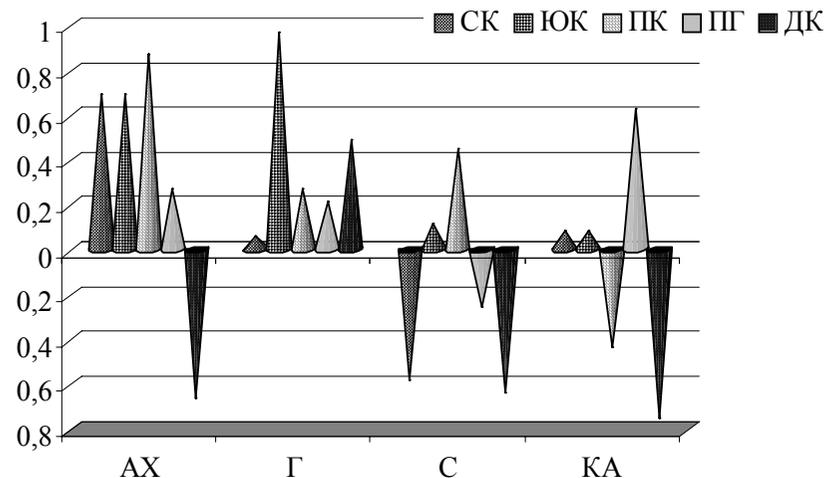


Рис. 22. Влияние водной нагрузки на корреляцию между общим числом мастоцитов корковой области почки и флуоресценцией ацетилхолина: положительная корреляция средней и высокой степени в клубочковом аппарате и в проксимальных канальцах и отрицательная в дистальных канальцах.

Примечание, здесь и далее: АХ – ацетилхолин, Г – гистамин, С – серотонин, КА - катехоламины

Между содержанием изучаемых биологически активных веществ и тучными клетками почечной капсулы достоверной корреляционной зависимости после гидратации на интактном фоне не выявлено (Рис. 23).

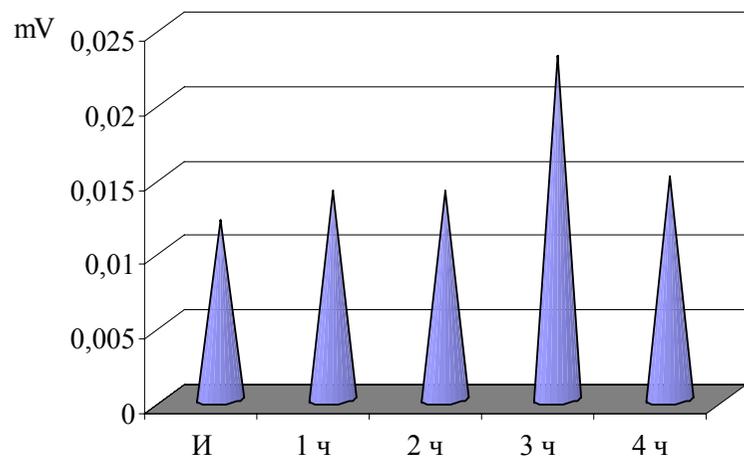


Рис. 21. Влияние водной нагрузки на флуоресценцию катехоламинов в почечной капсуле, N=10, n=20, M±m

После водной нагрузки, проведенной на интактном фоне между общим числом тучных клеток и флуоресценцией ацетилхолина в клубочковом аппарате почки, выявлена положительная корреляция средней степени ($r=0,69$, $p<0,05$) и отрицательная в дистальных канальцах ($r=-0,66$, $p<0,05$). Для ацетилхолина проксимальных канальцев прослеживается сильная положительная зависимость ($r=0,87$, $p<0,01$) (Рис. 22).

Тканевые концентрации гистамина юкстамедуллярных клубочков и общее число тучных клеток корковой области почки коррелируют сильно положительно ($r=0,97$, $p<0,01$). В дистальных канальцах для этого амина корреляционные отношения с тучными клетками были прямыми и средними по силе ($r=0,49$, $p<0,05$) (Рис. 22).

Интенсивность свечения серотонина субкапсулярных клубочков и дистальных канальцев и общее число тканевых базофилов характеризуется обратной и средне по силе корреляционной зависимостью ($r=-0,58$ и $r=-0,64$, $p<0,05$) (Рис. 22).

Между флуоресценцией катехоламинов в петлях Генле и общим числом тучных клеток после проведения гидратации

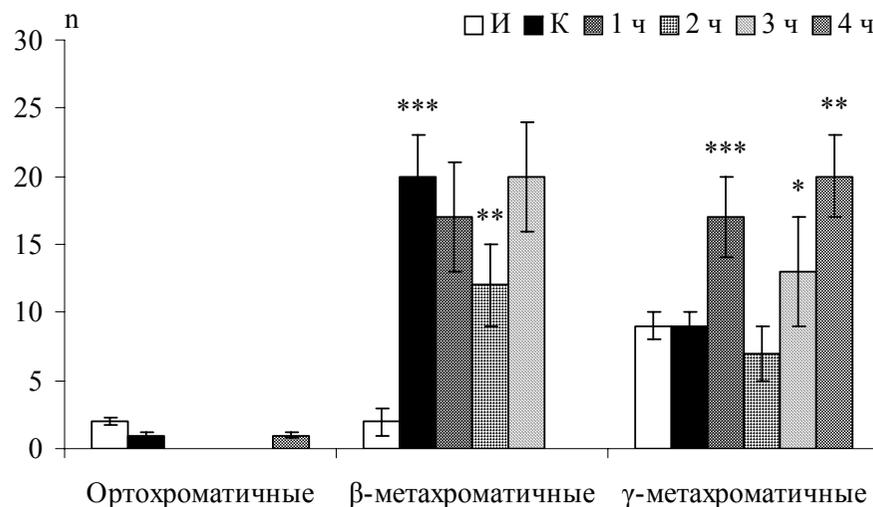


Рис. 11. Влияние гидратации на метахромию тучных клеток почечной капсулы в условиях предшествующего поступления Mo^{++} , N=5, n=10, M±m

Таким образом, длительное потребление молибдена увеличивает, как общее количество, так и число клеток отдельных форм мастоцитов почечной капсулы, а водная нагрузка, проводимая в этих условиях, инициирует увеличение степени зрелости тучных клеток.

ГЛАВА 5. Взаимосвязь популяции тучных клеток почечной капсулы и почки с трансмиссерным статусом

5.1. Взаимосвязь трансмиссерного статуса и популяции тучных клеток почки и почечной капсулы на фоне гидратации

Через 3 ч после гидратации в объеме 6 % от массы тела увеличилась интенсивность свечения ацетилхолина в проксимальных канальцах на 34 % по отношению к интактному органу ($p < 0,05$), (Рис. 12). В других структурах почки за весь период наблюдения достоверных изменений уровня ацетилхолина не было выявлено.

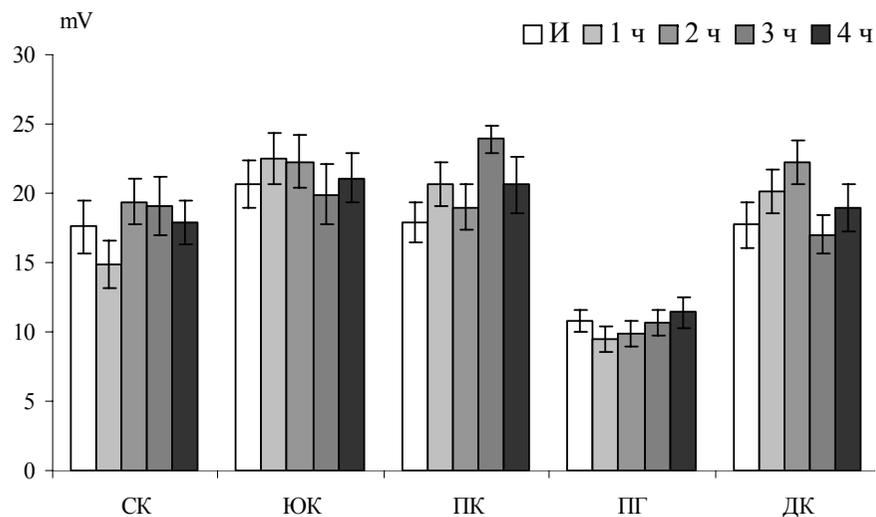


Рис. 12. Влияние водной нагрузки на флуоресценцию ацетилхолина в структурах почки, N=45, n=90, M±m

Примечание, здесь и далее: СК – субкапсулярные клубочки, ЮК – юкстамедуллярные клубочки, ПК – проксимальные канальцы, ПГ – петли Генле, ДК – дистальные канальцы

В петлях Генле в 1, 2 и 4 ч водной нагрузки флуоресценция гистамина была ниже исходного уровня на 47 %

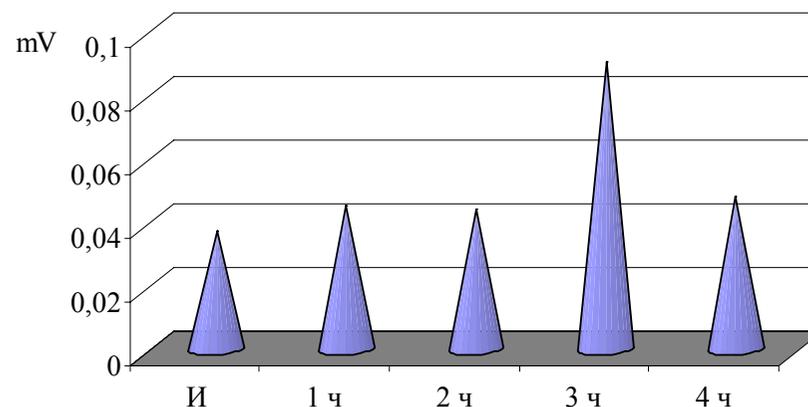


Рис. 19. Влияние водной нагрузки на содержание серотонина в почечной капсуле N=10, n=20: увеличение флуоресценции амина на 2-м, 3-м (максимум) и 4-м часам гидратации

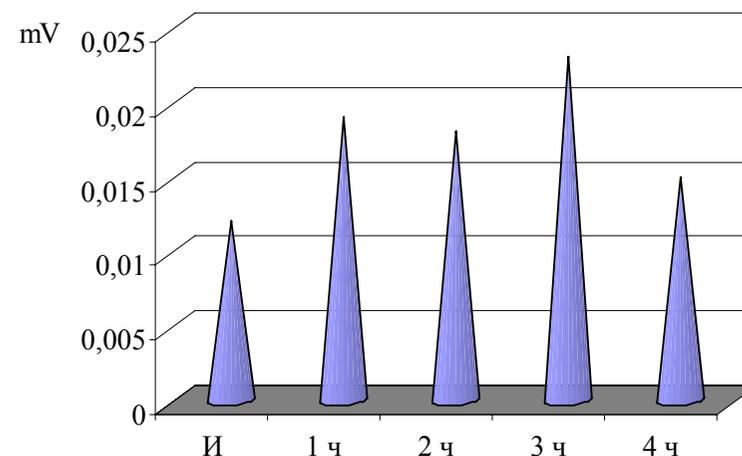


Рис. 20. Влияние водной нагрузки на содержание катехоламинов в почечной капсуле N=10, n=20: увеличение уровня катехоловых аминов через 3 ч и 4 ч гидратации

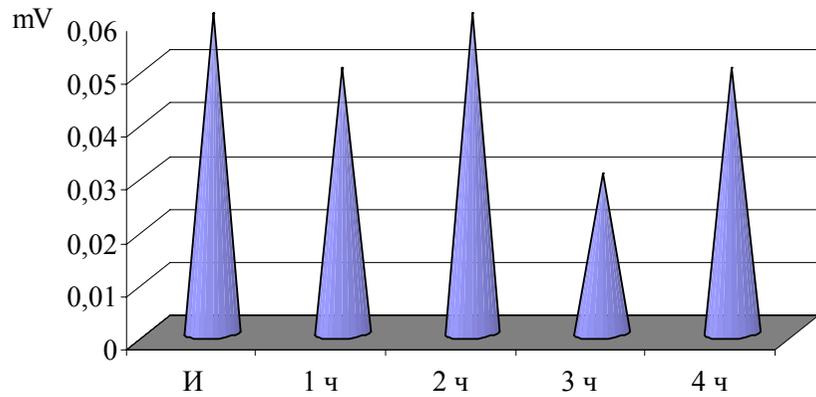


Рис. 17. Влияние водной нагрузки на флуоресценцию гистамина в почечной капсуле, N=10, n=20, M±m

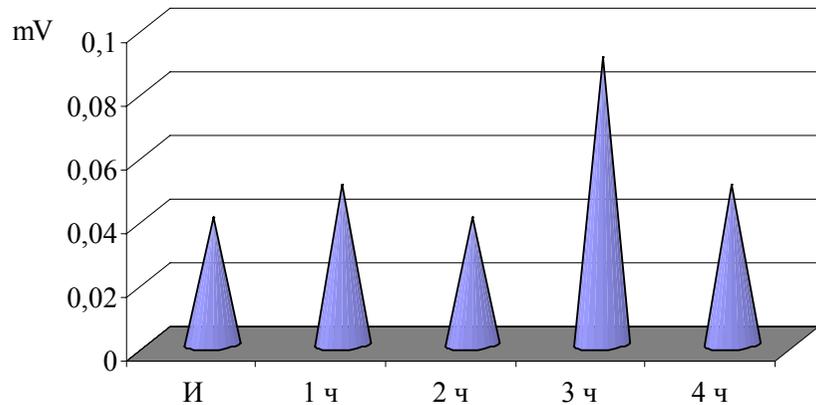


Рис. 18. Влияние водной нагрузки на флуоресценцию серотонина в почечной капсуле, N=10, n=20, M±m

($p < 0,001$), 33 % ($p < 0,01$) и 32 % ($p < 0,05$) соотв. Содержание данного вещества в других структурах почки не претерпело изменений по сравнению с интактным (Рис. 13).

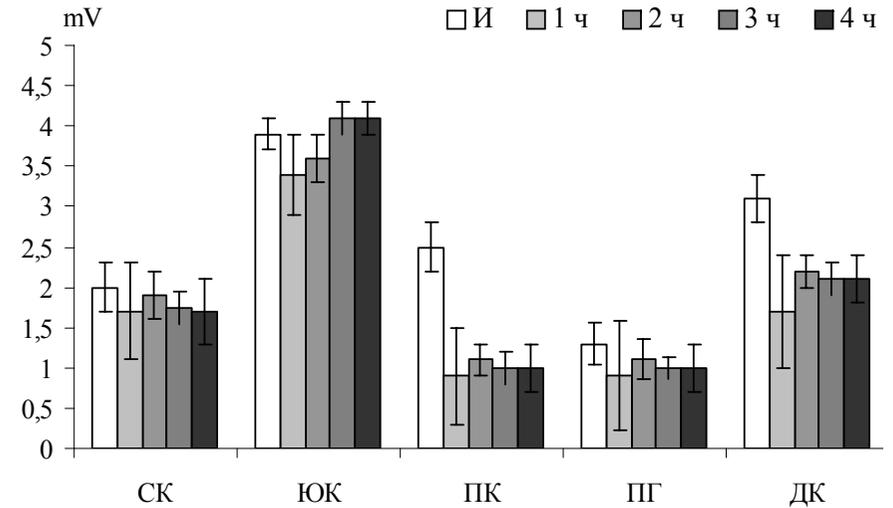


Рис. 13. Влияние водной нагрузки на флуоресценцию гистамина в структурах почки, N=45, n=90, M±m

В юкстамедуллярных клубочках водная нагрузка инициировала падение интенсивности свечения серотонина к концу 1-го ч эксперимента на 35 % по отношению к интактному органу ($p < 0,02$), такой же процент падения уровня изучаемого вещества наблюдался через 1 ч после гидратации в проксимальных канальцах ($p < 0,005$) и петлях Генле ($p < 0,002$). В дистальных канальцах содержание серотонина к концу 1-го и 3-го ч наблюдения было ниже интактного в 1,7 ($p < 0,0001$) и 1,4 ($p < 0,01$) раза соответственно (Рис. 14). Уровень катехоламинов через 1 ч после введения крысам воды в проксимальных канальцах снизился на 40 % ($p < 0,05$), в дистальных – на 49 % ($p < 0,01$). В клубочковом аппарате почки и в петлях Генле в течение всего периода наблюдения содержание катехоламинов не отличалось от интактного (Рис. 15).

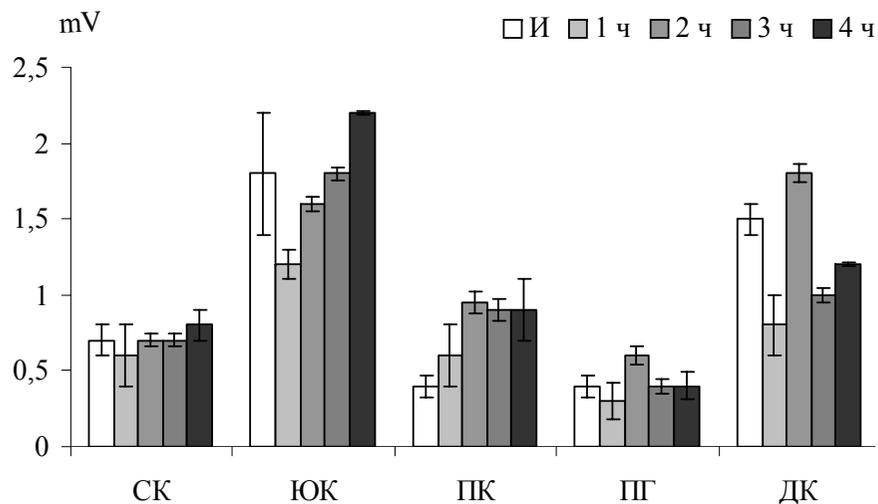


Рис. 14. Влияние гидратации на флуоресценцию серотонина в структурах почки, N=45, n=90, M±m

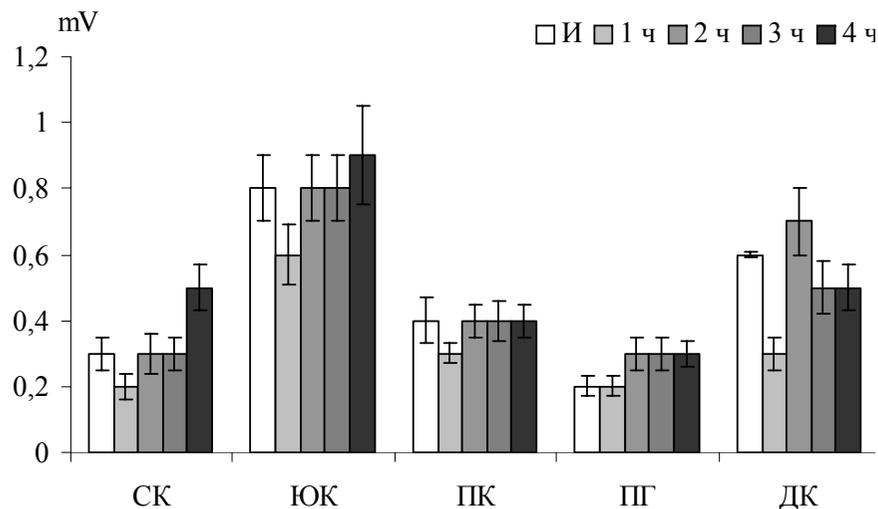


Рис. 15. Влияние гидратации на флуоресценцию катехоламинов в структурах почки, N=45, n=90, M±m

Таким образом, гидратация вносит незначительные изменения в транмиттерный статус почечных структур: практически не влияет на содержание ацетилхолина, уменьшает свечение гистамина, но только в дистальных канальцах, и приводит к падению флуоресценции серотонина и катехоловых аминов через 1 ч после проведения водной нагрузки с последующим возвратом к интактному значению.

Под влиянием гидратации в почечной капсуле наблюдалось увеличение флуоресценции ацетилхолина через 1, 2 и 3 ч наблюдения в 1,5, 1,3 и 1,7 раза соответственно ($p < 0,05$) (Рис. 16). Уровень гистамина в изучаемой структуре уменьшился в 2 раза по сравнению с интактным значением ($p < 0,001$) через 3 ч эксперимента (Рис. 17).

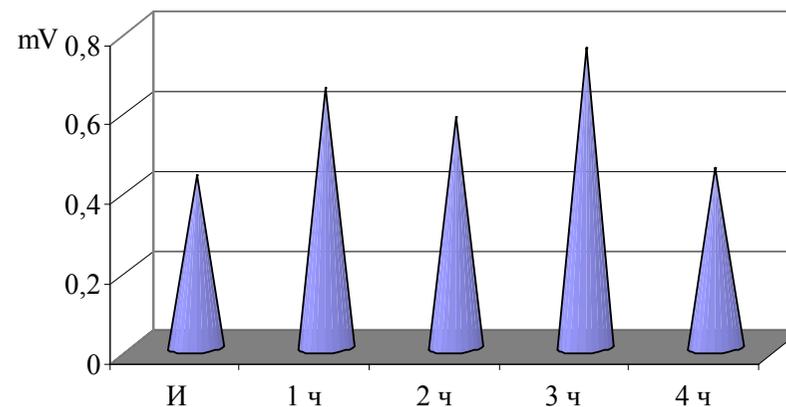


Рис. 16. Влияние водной нагрузки на флуоресценцию ацетилхолина в почечной капсуле, N=10, n=20, M±m

Свечение серотонина возросло на 18 % ко 2-му ч эксперимента и в 2,5 и 1,3 раза к 3-му и 4-му ч соответственно ($p < 0,01$) (Рис. 18). Флуоресценция катехоламинов увеличилась в 2 раза через 3 ч гидратации и на 25 % через 4 ч ($p < 0,01$) (Рис. 19).