

DOI: 10.26693/jmbs03.03.021

УДК 616-092.9+616.24+616.61-008.6+616-08

Заяць Л. М., Кліщ І. П.

## СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ АЛЬВЕОЛОЦИТІВ І ТИПУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГОСТРІЙ НИРКОВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», Україна

patfisiology@ifnmu.edu.ua

У досліджах на білих щурах-самцях лінії Вістар електронно-мікроскопічним методом вивчено в динаміці (12, 24, 72 год.) субмікроскопічні зміни альвеолоцитів І типу легенів при експериментальній гострій нирковій недостатності. Встановлено, що через 12 год. після початку експерименту у більшості альвеолоцитів І типу відзначаються, в основному, зміни реактивного характеру. Зі збільшенням терміну дослідження (24-72 год.) в альвеолоцитах І типу спостерігаються як дистрофічно-деструктивні, так і компенсаторно-приспосовні зміни.

**Ключові слова:** легені, альвеолоцити І типу, експериментальна гостра ниркова недостатність.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота є фрагментом НДР «Патогенетичні механізми розвитку змін в органах дихальної, ендокринної, нервової систем при змодельованих патологічних станах та їх корекція», № держ. реєстрації 0117U001758.

**Вступ.** Численними клінічними та експериментальними дослідженнями доведено, що гостра ниркова недостатність (ГНН) часто супроводжується ушкодженням віддалених органів, включаючи серце, легені, печінку, головний мозок, кишечник [4, 5, 8, 16, 18]. Серед екстрауренальних ускладнень особливе місце займає синдром гострого ушкодження легень (СГУЛ) чи гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС), які асоціюються з високою летальністю [1, 2, 9, 13]. На сьогодні встановлено, що важливою ланкою в патогенезі СГУЛ є патологія складових компонентів аерогематичного бар'єру легень і, зокрема альвеолоцитів І типу [3, 6, 10, 11, 14].

**Метою роботи** було вивчення в динаміці ультраструктурних змін альвеолоцитів І типу при експериментальній гострій нирковій недостатності.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експерименти виконані на 35 білих щурах-самцях масою 180–220 г. Тварини були розділені на 3 групи: І – інтактна група тварин (n = 5); ІІ – контрольна (n = 15);

ІІІ – з моделлю гострої ниркової недостатності (n = 15). Гостру ниркову недостатність моделювали внутрішньом'язовим введенням 50 % водного розчину гліцеролу у дозі 10 мл на кг маси тіла [15]. Контрольній групі тварин внутрішньоочередово вводили еквівалентний об'єм води для ін'єкцій.

Збір легеневої тканини для електронномікроскопічного дослідження проводили під кетаміновим наркозом через 12, 24, 72 год. після початку експерименту. Шматочки легеневої тканини фіксували в 2,5% розчині глютаральдегіду з наступною дофіксацією в 1% розчині чотириокису осмію. Після дегідратації матеріал заливали в епон-аралдіт. Зрізи, отримані на ультрамікромомі «Tesla BS-490» вивчали в електронному мікроскопі «ПЕМ-125К».

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006, ст. 26), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Проведені електронно-мікроскопічні дослідження респіраторного відділу легень через 12 год. після початку експерименту показали, що в більшості альвеолоцитів І типу (А-І) ядра з нуклеоплазмою середньої електронно-оптичної щільності (**рис. 1**).

Гранули хроматину переважно рівномірно розподілені по всій площі ядра. Ядерна оболонка має звивисті контури та утворює неглибокі інвагінації. В окремих клітинах навколядерний простір локально розширений. Мітохондрії різної величини і форми з матриксом середньої електронно-оптичної щільності. Разом з тим, відмічаються деякі клітини, в яких спостерігаються збільшені в об'ємі мітохондрії з вкороченими і дезорієнтованими гребенями. У навколядерній зоні інколи спостерігається апарат Гольджі (АГ), який представлений сплосченими цистернами і дрібними пухирцями. Гранулярна

ендоплазматична сітка (ГЕС) складається з помірно розширених каналців із ніжноволокнистим осміофільним вмістом. На зовнішній поверхні ГЕС визначаються добре виражені рибосоми. У периферійних відділах альвеолоцитів I типу виявляється підвищена кількість мікропіноцитозних пухирців. Базальна мембрана на всьому протязі в основному зберігає нормальну структуру. В той же час відмічаються окремі А-I в яких базальна мембрана вогнищево потовщена з нечіткими контурами.

Ультраструктурні дослідження А-I на 24-у годину експерименту виявили значні порушення субмікроскопічної будови клітин. Альтерації в альвеолоцитах I типу характеризуються вираженими явищами гіпергідратації. Ядра А-I з нуклеоплазмою низької електронно-оптичної щільності. Гранули хроматину розподілені вздовж ядерної оболонки або місцями згруповані в окремі грудки. Навколоядерний простір розширений. Мітохондрії з просвітленим матриксом і поодинокими, редукованими гребенями. У навколоядерній зоні відмічається набряк і дезорганізація складових компонентів АГ. Канальці ГЕС різко розширені. Кількість рибосом на мембранах останньої зменшена. Поряд з цим визначається фрагментація мембран ГЕС. При цьому в цитоплазмі відмічаються вільно розміщені рибосоми або згруповані в полісомальні розетки. В окремих А-I спостерігаються вітрилоподібні випинання периферійної частини, направлені в просвіт альвеоли (рис. 2).

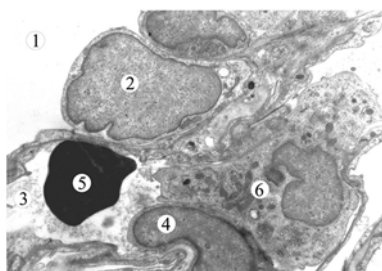
Базальна мембрана А-I на значному протязі потовщена з нечіткими контурами. У деяких А-I відмічаються локальні розриви апікальної плазмолемми, що призводить до виходу цитоплазматичних структур у просвіт альвеоли.

Субмікроскопічно через 72 год. після початку експерименту ядра А-I збільшені за розмірами з дрібнозернистою нуклеоплазмою низької електрон-

но-оптичної щільності і маргінальною агрегацією гранул хроматину (рис. 3).

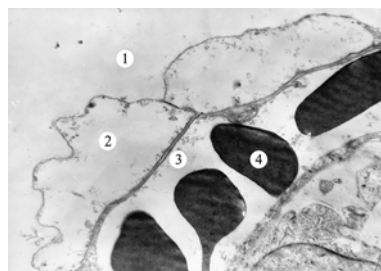
Навколоядерний простір місцями розширений. Ядерна оболонка утворює неглибокі інвагінації. Мітохондрії з матриксом низької електронно-оптичної щільності і поодинокими короткими гребенями. АГ складається із везикулярно розширених цистерн і великої кількості пухирців. Складові компоненти ГЕС розширені, а в деяких клітинах вакуолізовані і фрагментовані. При цьому кількість рибосом на зовнішній поверхні мембран ГЕС зменшена. Як і на попередньому етапі дослідження в окремих А-I спостерігаються вітрилоподібні випинання периферійної частини в просвіт альвеоли. Поряд із вищевказаними змінами виявляються окремі А-I з ознаками підвищеної функціональної активності. Ядра таких клітин помірно електронно-оптичної щільності. Гранули хроматину рівномірно розподілені по всій площі ядра. АГ представлений дещо розширеними цистернами і пухирцями. Канальці ГЕС гіпертрофовані із численними рибосомами на їх зовнішній поверхні. У цитоплазмі А-I відмічається також підвищена кількість мітохондрій з матриксом середньої електронно-оптичної щільності. У периферійних відділах альвеолоцитів I типу спостерігається велика кількість мікропіноцитозних пухирців, які прилягають до апікальної та базальної частин плазмолемми клітини. Інколи на поверхні А-I визначаються мікрворсинки, направлені в просвіт альвеоли. Базальна мембрана на всьому протязі зберігає типову будову.

Проведені дослідження показали, що експериментальна гостра ниркова недостатність супроводжується порушенням ультраструктурної організації альвеолоцитів I типу, як одних із складових компонентів аерогематичного бар'єру легень. Встановлено, що через 12 годин після початку експерименту в А-I переважно спостерігаються реактивні



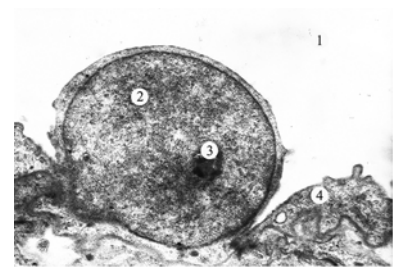
**Рис. 1.** Респіраторний відділ легень через 12 год. після початку експерименту. Електронна мікрофотографія. х4800

**Примітки:** 1 – просвіт альвеоли; 2 – альвеолоцит I типу; 3 – просвіт гемокapіляра; 4 – ендотеліоцит; 5 – еритроцит; 6 – лейкоцит.



**Рис. 2.** Респіраторний відділ легень через 24 год. після початку експерименту. Електронна мікрофотографія. х6400

**Примітки:** 1 – просвіт альвеоли; 2 – вітрилоподібні випинання периферійної частини альвеолоцита I типу; 3 – просвіт гемокapіляра; 4 – еритроцит.



**Рис. 3.** Ультраструктурна організація альвеолоцита I типу через 72 год. після початку експерименту. Електронна мікрофотографія. х9600

**Примітки:** 1 – просвіт альвеоли; 2 – ядро; 3 – ядерце; 4 – периферійна частина альвеолоцита I типу.

зміни. Зі збільшенням терміну дослідження (24–72 год.) субмікроскопічні зміни в альвеолоцитах I типу характеризуються вираженими явищами гіпергідратації. В клітинах визначаються набряк, часткова деструкція мітохондрій, дезорганізація складових компонентів апарату Гольджі та гранулярної ендоплазматичної сітки. Поряд із цим, в окремих альвеолоцитах I типу відмічаються зміни, направлені на підвищення їхньої функціональної активності. Наші дані узгоджуються з результатами досліджень інших науковців, які вивчали морфофункціональні зміни в легенях при дії екзо- та ендогенних факторів [7, 12, 17].

### Висновки

1. Проведені дослідження показали, що експериментальна гостра ниркова недостатність супроводжується вираженими змінами субмікроскопічної будови альвеолоцитів I типу.
2. Характер і вираженість ультраструктурних змін альвеолоцитів I типу залежить від тривалості дії ендогенного чинника.

**Перспективами подальших досліджень** є корекція структурних змін альвеолоцитів I типу при експериментальній гострій нирковій недостатності.

### References

1. Andres-Hernando A, Altmann C, Bhargava R, Okamura K, Bacalja J, Hunter B et al. Prolonged acute kidney injury exacerbates lung inflammation at 7 days post-acute kidney injury. *Physiol Rep*. 2014; 2(7), e120S4. PMID: PMC4-187574. PMID: 25052489. doi:10.14814/phy2.12084.
2. Basu RK, Donaworth E, Wheeler DS, Devarajan P, Wong HR. Antecedent acute kidney injury worsens subsequent endotoxin-induced lung inflammation in a two-hit mouse model. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2011; 301: 597-604. PMID: 21677147. DOI: 10.1152/ajprenal.00194.2011
3. Bhattacharya J, Matthay MA. Regulation and repair of the alveolar-capillary barrier in acute lung injury. *Annu Rev Physiol*. 2013; 75: 593-615. PMID: 23398155. DOI: 10.1146/annurev-physiol-030212-183756
4. Faubel S. Acute kidney injury and multiple organ dysfunction syndromes. *Minerva Urologica e Nefrologica*. 2009; 61 (3): 171-88. PMID: 19773721
5. Feltes CM, Van Eyk J, Rabb H. Distant-organ changes after acute kidney injury. *Nephron Physiology*. 2008; 109 (4): 80-4. PMID: 18802379. DOI: 10.1159/000142940
6. Frank JA. Claudins and alveolar epithelial barrier function in the lung. *Ann N Y Acad Sci*. 2012; 1257: 175-83. PMID: 22671604. PMID: PMC4864024. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06533.x
7. Golubev AM, Moroz VV, Sundukov DV. Pathogenesis of acute respiratory distress syndrome. *General reanimatology*. 2012; 8 (4): 13-21. [Russian]
8. Grams ME, Rabb H. The distant organ effects of acute kidney injury. *Kidney Int*. 2012; 81: 942-8. PMID: 21814177. DOI: 10.1038/ki.2011.241
9. Grigoryev DN, Liu M, Hassoun HT, Cheadle C, Barnes KC, Rabb H. The Local and Systemic Inflammatory Transcriptome after Acute Kidney Injury. *J Am Soc Nephrol*. 2008; 19: 547-58. PMID: 18235097. PMID: PMC2391061. DOI: 10.1681/ASN.2007040469
10. Helms MN, Jain L, Self JL, Eaton DC. Redox regulation of epithelial sodium channels examined in alveolar type 1 and 2 cells patch-clamped in lung slice tissue. *J Biol Chem*. 2008; 283: 22875-83. PMID: 18541535. PMID: PMC2-504900. DOI: 10.1074/jbc.M801363200
11. Johnson MD, Bao HF, Helms MN, Chen XJ, Tigue Z, Jain L, Dobbs LG, Eaton DC. Functional ion channels in pulmonary alveolar type I cells support a role for type I cells in lung ion transport. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103: 4964-9. PMID: 16549766. PMID: PMC1458778. DOI: 10.1073/pnas.0600855103
12. Matthay MA. Resolution of pulmonary edema. Thirty years of progress. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2014; 189(11): 1301-8. PMID: 24881936. PMID: PMC4098087. DOI: 10.1164/rccm.201403-0535OE
13. Oztay F, Kara-Kisla B, Orhan N, Yanardag R, Bolkent S. The protective effects of prostaglandin E1 on lung injury following renal ischemia-reperfusion in rats. *Toxicology and Industrial Health*. 2016; 32 (9): 1684-92. https://doi.org/10.1177/0748233715576615
14. Patel BV, Wilson MR, O'Dea KP, Takata M. TNF-induced death signaling triggers alveolar epithelial dysfunction in acute lung injury. *J Immunol*. 2013; 190: 4274-82. PMID: 23487422. PMID: PMC3701855. DOI: 10.4049/jimmunol.1202437
15. Rodrigo R, Trujillo S, Bosco C. Biochemical and ultrastructural lung damage induced by rhabdomyolysis in the rat. *Exp Biol Med*. 2006; 231: 1430-8. PMID: 16946412
16. Scheel PJ, Liu M, Rabb H. Uremic lung: new insights into a forgotten condition. *Kidney International*. 2008; 74: 849-51. PMID: 18794816. DOI: 10.1038/ki.2008.390
17. Voytkovskaya KS, Cherniaev AL. Acute lung injury: the definition, pathogenesis, animal models and the role of mesenchymal stem cells in experimental treatment. *The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine*. 2012; 5 (2): 60-8. [Russian]
18. Zhao H, Huang H, Ologunde R, Lloyd DG, Watts H, Vizcaychipi MP, Lian Q, George AJ, Ma D. Xenon treatment protects against remote lung injury after kidney transplantation in rats. *Anesthesiology*. 2015; 122 (6): 1312-26. PMID: 25856291. DOI: 10.1097/ALN.0000000000000664

УДК 616-092.9+616.24+616.61-008.6+616-08

**СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АЛЬВЕОЛОЦИТОВ I ТИПА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

*Заяц Л. М., Клищ И. П.*

**Резюме.** В опытах на белых крысах-самцах линии Вистар электронно-микроскопическим методом изучено в динамике (12, 24, 72 ч.) субмикроскопические изменения альвеолоцитов I типа легких при экспериментальной острой почечной недостаточности. Установлено, что через 12 ч. после начала эксперимента в большинстве альвеолоцитов I типа отмечаются, в основном, изменения реактивного характера. С увеличением срока исследования (24–72 ч.) в альвеолоцитах I типа наблюдаются как дистрофически-деструктивные так и компенсаторно-приспособительные изменения.

**Ключевые слова:** легкие, альвеолоциты I типа, экспериментальная острая почечная недостаточность.

UDC 616-092.9+616.24+616.61-008.6+616-08

**Submicroscopic Changes of Type I Alveolocytes in Case of Experimental Acute Renal Failure**

*Zaiats L. M., Klishch I. P.*

**Abstract.** Multiple clinical and experimental studies have proved that acute renal failure (ARF) is often accompanied by injury of the remote organs including heart, lungs, liver, cerebrum, intestine. Among the extrarenal complications, the particular place belongs to the syndrome of acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS) associated with heavy mortality. It was also found out that the important link in ALI syndrome pathogenesis is pathology of the components of aero-hematic barrier of lungs and, in particular, type I alveolocytes.

*The purpose of our work* was to study in dynamics the ultrastructural changes of type I alveolocytes in case of experimental acute renal failure.

*Material and methods.* The experiments were done on 35 white male rats weighting 180-220 grams. Acute renal failure was induced by intramuscular administration of 50% glycerol water solution in dose of 10 ml per 1 kg of body mass. The sampling of lung tissue for electron microscopy study was carried out under ketamine anaesthesia in 12, 24, 72 hours after the beginning of experiment. Pieces of lung tissue were fixed in 2,5% solution of gluteraldehyde with further postfixation in 1% solution of osmium tetroxide. After dehydration, the material was poured over epon araldite. The cuts, obtained on ultramicrotome "Tesla BS-490", were studied using electronic microscope "PEM-125K".

*Results and discussion.* Submicroscopically, in 12 hours after the beginning of experiment, the nuclei of most type I alveolocytes (A-I) had nucleoplasm of average electronic-optical density. The components of Golgi apparatus (GA) and granular endoplasm grid (GEG) were moderately dilated, some mitochondria were edematous. In 24 hours after the beginning of experiment, in A-I we observed the expressed phenomena of hyperhydration. Mitochondria have cleared matrix and isolated reduced cristas. Edema and disorganization of the components were observed in GA and GEG. At the same time, we observed the GEG membranes fragmentation. In 72 hours after the beginning of experiment, the phenomena of edema in A-I was maintained. Mitochondria had matrix of low electronic-optical density. GA is composed of vesicular dilated cisterns and a big quantity of vesicles. GEG components are dilated and vacuolated in some cells.

*Conclusions.* The realized research showed that the experimental acute renal failure was accompanied by the expressed changes of submicroscopic structure of type I alveolocytes. The nature and expressiveness of the structural changes in type I alveolocytes depends on duration of endogenous factor.

*Perspectives for further research.* Further research should be focused on correction of structural changes in type I alveolocytes in case of the experimental acute renal failure.

**Keywords:** lungs, type I alveolocytes, experimental acute renal failure.

Стаття надійшла 03.03.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування