

УДК 612.66

## ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПОЧЕК КРЫС

<sup>1</sup>Доржу У.В., <sup>2</sup>Шошенко К.А., <sup>3</sup>Беличенко В.М., <sup>2</sup>Айзман Р.И.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Тувинский государственный университет», Кызыл, e-mail: shurava82@mail.ru;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный педагогический университет»,

Новосибирск, e-mail: aizman@nspsu.ru, shoshenko@physiol.ru;

<sup>3</sup>ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины»,

Новосибирск, e-mail: belichenko@physiol.ru

В данной статье дан подробный анализ литературы об изменении анатомических параметров клубочкового аппарата почек у крыс в онтогенезе. В опытах использовались наркотизированные лабораторные крысы линии Wistar 4, 12, 30, 65 суток. Установлено, что в процессе постнатального онтогенеза средний диаметр почечного клубочка (мкм) увеличивается пропорционально увеличению массы почек (мг): с 33 до 120 мкм. Объем клубочков растет в 48 раз, а их плотность в почке (в 1 мм<sup>3</sup>) снижается в 16 раз. Общее количество клубочков в обеих почках увеличивается в 1,3 раза с 42000 до 54000. В период от 4 до 65 сут диаметр афферентной артериолы увеличивается в 3,2 раза, а эфферентной – в 1,5 раза. При этом их просветы (мм<sup>2</sup>) расширяются меньше, чем увеличивается объем клубочка. Полученные данные собственного исследования хорошо совпадают с данными, полученными другими авторами.

**Ключевые слова:** почки, онтогенез, крыса, афферентная и эфферентная артериола

## THE ONTOGENIC CHANGES OF THE KIDNEY STRUCTURE PARAMETERS AT THE RATS

<sup>1</sup>Dorzhu U.V., <sup>2</sup>Shoshenko K.A., <sup>3</sup>Belichenko V.M., <sup>2</sup>Ayzman R.I.

<sup>1</sup>Tuvan State University, Kyzyl, e-mail: shurava82@mail.ru;

<sup>2</sup>Novosibirsk state pedagogical university, Novosibirsk, e-mail: aizman@nspsu.ru, shoshenko@physiol.ru;

<sup>3</sup>FSBF «Research Institute of Physiology and Fundamental Medicine»,

Novosibirsk, e-mail: belichenko@physiol.ru

In this paper, a detailed analysis of the literature on changing anatomical parameters glomerular apparatus of the kidneys of rats in ontogenesis. In laboratory experiments used anesthetized Wistar rats 4, 12, 30, 65 days. Found that during postnatal ontogenesis the average diameter of the renal glomerulus (mcm) increases in proportion to the kidneys mass (mg) from 33 to 120 microns. Glomerul volume increase by 48 times, and their density in the kidney (1 mm<sup>3</sup>) reduce by 16 times. The total number of glomeruli in both kidneys is increased by 1,3 times – from 4000 to 54000. During the period from 4 to 65 days the afferent arteriolar lumen increases by 3,2 times and efferent – 1,5 times. Thus their lumens (mm<sup>2</sup>) expand less than the increased glomerular volume. The data obtained own research agree well with the data obtained by other authors.

**Keywords:** kidney, ontogeny, rat, afferent and efferent arterioles

Обзор литературы показывает, что исследование клубочкового аппарата и кровотока в почках в постнатальном онтогенезе в основном проводились в 70–90 гг XX столетия. Полученные материалы довольно вариабельны и недостаточно полны, так как касаются, как правило, отдельных периодов онтогенеза [1, 2, 4, 13, 18, 19]. Однако они показывают, что в постнатальной жизни по мере роста животного и его почки плотность клубочков снижается, а размер их (диаметр и объем) увеличивается и растет в клубочках протяженность капилляров [12]. При этом общее число клубочков в почке сохраняется в одних и тех же пределах, которые устанавливаются в относительно раннем возрасте [1, 2, 4, 12, 13, 18]. Мало также данных о возрастном изменении просветов афферентных и эфферентных артериол и соотношении их с объемом клубочков.

Таким образом, целью исследования являлась оценка анатомических параметров почечных клубочков в почках в условиях покоя у крыс Вистар в постнатальном онтогенезе.

**Задача исследования** – определить диаметры клубочков, афферентных и эфферентных артериол, плотность и общее количество клубочков в почках у 4-, 12-, 30- и 65-суточных крыс.

### Материалы и методы исследования

В опытах использовались крысы линии Вистар в возрасте 4, 12, 30 и 65 суток. Взрослые животные содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище.

**Морфометрия сосудов почки.** Для посмертной визуализации сосудов почек использовали разогретый 10% раствор желатин, окрашенный черной тушью. После забоя эфиром у крыс вскрывали грудную клетку, помещали в дистальный конец аорты пластиковую канюлю и фиксировали ее лигатурами.

У 4-суточных крысят короткую канюлю вводили в восходящую аорту через левый желудочек. Сосудистое русло через канюлю промывали теплым физиологическим раствором, после чего заполняли русло разогретой смесью. Введение инъекционной смеси продолжали, пока почки равномерно окрашивались. По окончании наливки перевязывали дистальный конец аорты, тушку обмывали водой и помещали в 5% раствор формалина для фиксации.

Сагиттальные и поперечные срезы толщиной 40–150 мкм из центральной части фиксированных почек приготавливали на микротоме в криостате МК-25. Срезы помещали на предметные стекла, просветляли

в глицерине и покрывали покровным стеклом. У каждой крысы под лупой МБС-2 с помощью окулярной сетки на сагиттальных срезах почки определяли площадь, занятые корковым и мозговым слоями.

На этих срезах в области коркового слоя под микроскопом МБИ-15 определяли с помощью окулярной сетки относительную площадь, занятую профилями клубочков (целых и срезанных), расположенных по всей толщине среза ( $\Sigma S$ ). Затем в тех же полях зрения находили поперечно срезанные клубочки, в которых были видны просветы афферентных и эфферентных артериол и измеряли диаметры ( $D$ ) клубочков и артериол (рис. 1).



Рис. 1. Почечные клубочки, в которых кровеносные сосуды заполнены тушью, у 65-суточной крысы

### Результаты исследования и их обсуждение

Данные табл. 1 показывают, что с возрастом диаметр клубочков увеличивается в среднем, в 3,6 раза, а их объем – в 48 раз. При этом коэффициент вариации диаметра снижается от 20–23 до 9%. По мере роста животного плотность клубочков в коре и, соответственно, во всей почке снижается, однако объем, занимаемый клубочками,

растет, равняясь в коре 4-, 12-, 30- и 65-суточных крыс 1,7; 2,3; 5,3 и 4,7% соответственно. В то же время общее число клубочков в почках меняется мало – на 29%, если сравнивать новорожденных и взрослых крыс. Однако в течение первого месяца жизни наблюдается их заметное увеличение, обусловленное сохраняющейся высокой плотностью клубочков в коре и увеличением ее относительного объема (табл. 1).

Таблица 1

Параметры почечных клубочков у крыс разного возраста,  $M \pm m$

Возраст, сут	Масса, г	$D$ клубочка, мкм ( $n_1$ )	Число клубочков ( $n_2$ )		Масса почек, %	Общее число клубочков, шт.
			1 мм <sup>3</sup> коры	1 мм <sup>3</sup> почки		
4	10 ± 0,6	33 ± 1,1	868 ± 85	447 ± 36	1,05 ± 0,03	~42000
12	20 ± 0,5	43 ± 2,3*	559 ± 71	312 ± 35*	1,14 ± 0,04	~65000
30	53 ± 2,1	71 ± 2,0*	281 ± 30	191 ± 29*	0,99 ± 0,05*	~91000
65	253 ± 27	120 ± 1,1*	53 ± 2,9	27 ± 1,7*	0,87 ± 0,03*	~54000

**Примечание.**  $n_1$ ,  $n_2$  – количество измеренных клубочков, срезов. Для оценки общего числа клубочков в почках использовали их относительную массу и массу тела животных; удельный вес почек принят равным 1,1 г/см<sup>3</sup> [3]. Приведено достоверное различие по сравнению с предыдущей возрастной группой крыс (\*) при  $p \leq 0,05$ .

Согласно литературным данным (табл. 2), число клубочков увеличивается в первые дни – недели постнатальной жизни, а дальше меняется мало. Так, J. Nyengaard [12] показал, что в одной почке у 5-суточных крыс содержится 19100 клубочков, а в период 10–540 сут – 26500 клубочков. По нашим данным, общее число клубочков в двух почках

крыс значительно увеличивается в первый месяц жизни, после чего снижается (табл. 1). У 2-месячных крыс их число всего в 1,3 раза выше, чем у 4-суточных. Такой неравномерный морфогенез нефронов описан был некоторыми исследователями и ранее [1].

Известно, что по мере постнатального созревания почек размер клубочков уве-

личивается (табл. 2). Наши измерения дают примерно те же размеры клубочков в зависимости от возраста крыс (табл. 1). Повышенную вариабельность размера клубочков в раннем возрасте (коэффициент вариации

20–23 %) можно объяснить их продолжающимся морфогенезом [1]. Свидетельством тому служит высокий митотический индекс в почечных клетках в первые две недели постнатальной жизни крыс [2].

**Таблица 2**

Диаметр почечного клубочка в постнатальном онтогенезе (литературная сводка)

Возраст	Диаметр, мкм	Автор
<b>Крыса</b> 4–9 сут	87	Savin et al., 1985
22–26 сут	88	
69–84 сут	116	
55 сут	120	Wilkes, Silverman, 1988
66 сут	125	
3 сут	80	обзор, Evan, Larrison, 1992
90 сут	П 119. Ю 129	
5 сут	46	Nyengaard, 1993
10 сут → 25 сут	58 → 83	
25 сут → 60 сут	83 → 110	
60 сут → 625 сут	110 → 135	
2 сут	Ю 59	Lucas et al., 1997
90 сут	Ю 96	
21 сут	56	Sanders et al., 2004
180 сут	109	

Интересно сопоставить онтогенетическую динамику размера клубочков и их общее число в почке с динамикой этих показателей у млекопитающих с разной массой тела и, соответственно, с разной массой почек. Такую зависимость для 12 видов млекопитающих от мыши до слона показал F. Prothero [13]. На рис. 1, а, б, где приведены эти данные, можно видеть, что измеренные нами средний диаметр клубочка и их число в почке взрослых крыс хорошо совпадают с линией, характеризующей за-

висимость этих параметров у взрослых млекопитающих с разной массой тела. При этом число почечных клубочков и (больше) их размер претерпевают своеобразные онтогенетические изменения: диаметр быстро растет, достигая нужной величины, а число вначале увеличивается, а затем снижается.

Публикаций о плотности клубочков в почке немного, и они довольно разноречивы, однако в целом свидетельствуют о возрастном снижении этого показателя (табл. 3).

**Таблица 3**

Плотность клубочков в почке (в 1 мм<sup>3</sup>) в постнатальном онтогенезе (литературная сводка)

Масса тела	Плотность	Автор
<b>Крыса</b> ~55 г → 110 г	100 → 62	Bonvalet et al., 1972
17 г → 50 г	306 → 135	Solomon, 1977
50 г → 130 г	135 → 53	
130 г → 360 г	53 → 23	
6 г	1200	Lucas et al., 1997
318 г	100	
~55 г	522	Sanders et al., 2004
~420 г	260	
2,8 кг	27	
24 кг	8	

**Примечание.** Стрелка показывает диапазон изменения массы тела и плотности клубочков исследованных животных в цитируемой работе. Знак «~» использован, когда масса тела вычислялась по массе почек, описанной в литературе [3] (ее относительная масса принята равной у крысят 1%, у крыс 0,8%).

Наши данные также показывают возрастное снижение плотности клубочков в почке (табл. 1). В процессе онтогенетического роста животного и его почки два

показателя структуры клубочков меняются в противоположных направлениях: диаметр клубочков увеличивается, а плотность их в почке падает.

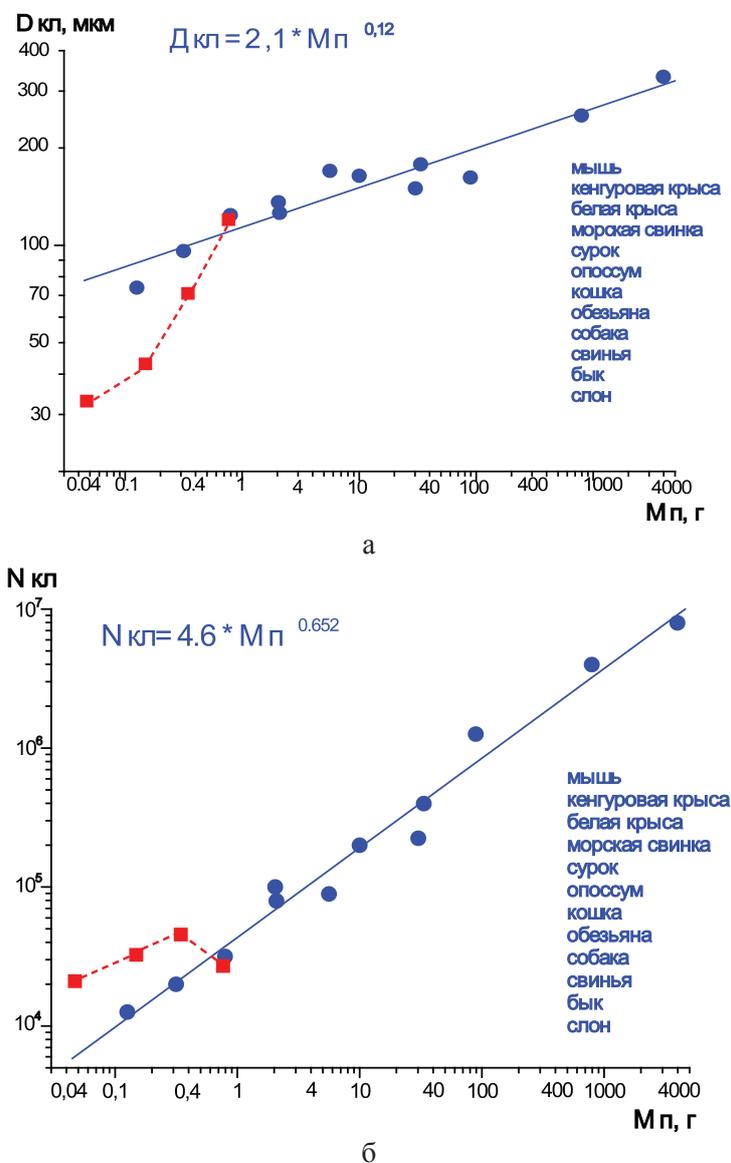


Рис. 2. Диаметр клубочков ( $D_{кп}$ ) и их число ( $N_{кп}$ ) в почке в зависимости от ее массы ( $M_{п}$ ) у 12 видов зрелых млекопитающих, по: [13]. На график нанесены (штриховая линия) наши данные из табл. 1

Возрастное увеличение объема клубочков и повышение в них численности капилляров должно сопровождаться расширением просвета клубочковых артериол. Публикации на эту тему касаются только взрослых животных и показывают, что просвет эфферентной артериолы, как правило, ниже афферентной (табл. 4).

Судя по нашим данным, возрастное увеличение просвета артериол действительно имеет место и существенно различается для

афферентной и эфферентной артериол. За исследуемый период просвет первой увеличился в 3 раза, а просвет второй – в 1,5 раза (табл. 5).

Заметим, что наши данные характеризуют посмертные атоничные сосуды, просвет которых растянут вводимым раствором желатины. Прижизненный сосудистый тонус должен его снижать, причем выраженность этого тонуса может быть разной в афферентных и эфферентных артериолах.

**Таблица 4**

Диаметр афферентных и эфферентных почечных артериол (литературные данные)

Животное	Масса тела Возраст	Диаметр, мкм		Автор
		аффер.	эффер.	
Крыса Wistar	125–150 г	И 12,6	12,6	Chen, Fleming, 1993
		Ю 18,6	22,4	
	н.у.	15,2	11	Reslerova et al., 1995
	н.у.	14	12	Loutzenhiser et al., 2003
	350–600 г	20,4	–	Carmines et al., 1990
W-K	12 нед.	18,5	–	Skov et al., 1992
SHR		15,4	–	
W-K	15 нед.	17,8	9,1	Notoya et al., 1996
SHR		14,1	10,3	
W-K	14 нед. 250–300 г	11,9	8,9	Yamamoto et al., 2001
Wistar	12 нед. – 16	15,7	14	Nakamoto et al., 2008

**Примечание.** П, И и Ю – поверхностные, интеркортикальные и юкстамедулярные клубочки; SD – крысы Sprague-Dawley, SHR – spontaneously hypertensive rats, W-K – Wistar-Kyoto; н.у. – не указано.

**Таблица 5**

Диаметр афферентных и эфферентных артериол почечных клубочков у крыс разного возраста,  $M \pm m$

Возраст, сут	Диаметр артериол, мкм (n)	
	афферентные	эфферентные
4	7,2 ± 0,4 (34)	5,8 ± 0,4 <sup>x</sup> (20)
12	7,5 ± 0,4 (19)	5,9 ± 0,3 <sup>x</sup> (17)
30	10 ± 0,2 <sup>*x</sup> (41)	6,7 ± 0,4 <sup>*x</sup> (41)
65	13,4 ± 0,5 <sup>*x</sup> (90)	7,5 ± 0,4 <sup>*x</sup> (90)

**Примечание.** Число и масса крыс приведены в табл. 1. n – количество измеренных артериол. Приведено достоверное различие по сравнению с предыдущей возрастной группой крыс (\*) и между афферентной и эфферентной артериолами (x) при  $p \leq 0,05$ .

**Выводы**

1. У крыс Вистар (4, 12, 30, 65 сут) в процессе постнатального онтогенеза средний диаметр почечного клубочка увеличивается пропорционально увеличению массы почек (с 33 до 120 мкм), объем клубочков растет в 48 раз, а их плотность в почке снижается; общее количество клубочков в обеих почках повышается в 1,3 раза – с 42000 до 54000.
2. В период от 4 до 65 сут просветы клубочковых артериол расширяются пропорционально увеличению объема клубочка. При этом просвет афферентной артериолы увеличивается в 3,5 раза, а просвет эфферентной – в 1,7 раза.

**Список литературы**

1. Гончаревская О.А. Интракортикальные и юкстамедулярные нефроны в постнатальном онтогенезе крысы // Архив анат. гистол. и эмбриол. – 1977. – Т. 72 (6). – С. 20–26.

2. Зуфаров К.А., Гонтмахер В.М. Структурно-функциональная характеристика почек в постнатальном онтогенезе // Онтогенез почки. – Новосибирск, НГПИ, 1984. – С. 14–24.

3. Amann K., Nichols C., Tornig J., Schwarz U., Zeier M., Mall G., Ritz E. // Effect of ramipril, nifedipine, and moxonidine on glomerular morphology and podocyte structure in experimental renal failure // Nephrol. Dial. Transplant. – 1996. – № 11. – P. 1003–1011.

4. Bonvalet J-P., Champion M., Wanstok F., Berjal G. Compensatory renal hypertrophy in young rats: increase in the number of nephrons // Kidney Int. – 1972. – Vol. 1 (6). – P. 391–396.

5. Carmines P.K., Inscho E.W., Gensure R.C. Arterial pressure effects on preglomerular microvasculature of juxtamedullary nephrons // Am. J. Physiol. – Vol. 258 (27): F94–F102. 1990.

6. Chen J., Fleming J.T. Juxtamedullary afferent and efferent arterioles constrict to renal nerve stimulation // Kidney Int. – 1993. – № 44. – P. 684–691.

7. Evan A.P., Larsson L. Morphologic development of the nephron. In: Pediatric kidney disease. V. 1 The kidney and urinary tract: Development, morphology, and physiology in health and disease. – Boston, 1992. – 19–48.

8. Loutzenhiser R., Chilton L., Trottier G. Membrane potential measurements in renal afferent and efferent arterioles: actions of angiotensin II // *Am. J. Physiol.* – 1997. – Vol. 273. – P. 307–314.
9. Lucas S.R.R., Costa Silva V.L., Miraglia S.M., Gil F.Z. Functional and morphometric evaluation of offspring kidney after intrauterine undernutrition // *Pediatr. Nephrol.* – 1997. – Vol. 11. – P. 719–723.
10. Nakamoto H., Ogasawara Y., Kajya F. Visualisation of the effects of dilazep on rat afferent and efferent arterioles in vivo // *Hypertens. Res.* – 2008. – Vol. 31. – P. 315–324.
11. Notoya M., Nakamura M., Mizojiri K. Effects of lisinopril on the structure of renal arterioles // *Hypertension.* – 1996. – Vol. 27. – P. 364–370.
12. Nyengaard J.R. Number and dimensions of rat glomerular capillaries in normal development and after nephrectomy // *Kidney Int.* – 1993. – Vol. 43 (5). – P. 1049–1057.
13. Prothero F. Heart weight as a function of body weight in mammals // *J. Growth.* – 1979. – Vol. 43. – P. 139–150.
14. Reslerova M., Loutzenhiser R. Divergent mechanisms of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel-induced vasodilatation in renal afferent and efferent arterioles // *Circulation Res.* – 1995. – Vol. 77. – P. 1114–1120.
15. Sanders M.W., Fazz G.E., Janssen G.M.J., de Leeuw P.W., Blanco C.E., de May J.G.R. Reduced uteroplacental blood flow alters renal arterial reactivity and glomerular properties in the rat offspring // *J. Hypertension.* – 2004. – № 43. – P. 1283–1289.
16. Savin V.J. Ultrafiltration in single isolated human glomeruli // *Kidney Int.* – 1983. – Vol. 24. – P. 748–753.
17. Skov K., Mulvany M.J., Korsgaard N. Morphology of renal afferent arterioles in spontaneously hypertensive rats // *J. Hypertension.* – 1992. – № 20. – P. 821–827.
18. Solomon S. Developmental changes in nephron number, proximal tubular length and superficial nephron glomerular filtration rate of rats // *J. Physiol.* – 1977. – Vol. 272. – P. 272–289.
19. Wilkes B.M., Silverman S. Increased angiotensin II receptor binding with age in isolated rat glomeruli // *Kidney Int.* – 1988. – Vol. 34. – P. 241–247.
20. Yamamoto T., Tomura Y., Tanaka H., Kajiya F. In vivo visualization of characteristics of renal microcirculation in hypertensive and diabetic rats // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – Vol. 281 (3). – F571–F577.
6. Chen J., Fleming J.T. Juxtamedullary afferent and efferent arterioles constrict to renal nerve stimulation // *Kidney Int.* 44: 684–691. 1993.
7. Evan A.P., Larsson L. Morphologic development of the nephron. In: *Pediatric kidney disease. V. 1 The kidney and urinary tract: Development, morphology, and physiology in health and disease.* Boston: 19–48. 1992.
8. Loutzenhiser R., Chilton L., Trottier G. Membrane potential measurements in renal afferent and efferent arterioles: actions of angiotensin II // *Am. J. Physiol.* Vol. 273: 307–314. 1997.
9. Lucas S.R.R., Costa Silva V.L., Miraglia S.M., Gil F.Z. Functional and morphometric evaluation of offspring kidney after intrauterine undernutrition // *Pediatr. Nephrol.* Vol. 11: 719–723. 1997.
10. Nakamoto H., Ogasawara Y., Kajya F. Visualisation of the effects of dilazep on rat afferent and efferent arterioles in vivo // *Hypertens. Res.* Vol. 31: 315–324. 2008.
11. Notoya M., Nakamura M., Mizojiri K. Effects of lisinopril on the structure of renal arterioles // *Hypertension.* Vol. 27: 364–370. 1996.
12. Nyengaard J.R. Number and dimensions of rat glomerular capillaries in normal development and after nephrectomy // *Kidney Int.* Vol. 43 (5): 1049–1057. 1993.
13. Prothero F. Heart weight as a function of body weight in mammals // *J. Growth.* Vol. 43: 139–150. 1979.
14. Reslerova M., Loutzenhiser R. Divergent mechanisms of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel-induced vasodilatation in renal afferent and efferent arterioles // *Circulation Res.* Vol. 77: 1114–1120. 1995.
15. Sanders M.W., Fazz G.E., Janssen G.M.J., de Leeuw P.W., Blanco C.E., de May J.G.R. Reduced uteroplacental blood flow alters renal arterial reactivity and glomerular properties in the rat offspring // *J. Hypertension.* 43: 1283–1289. 2004.
16. Savin V.J. Ultrafiltration in single isolated human glomeruli // *Kidney Int.* Vol. 24: 748–753. 1983.
17. Skov K., Mulvany M.J., Korsgaard N. Morphology of renal afferent arterioles in spontaneously hypertensive rats // *J. Hypertension.* 20: 821–827. 1992.
18. Solomon S. Developmental changes in nephron number, proximal tubular length and superficial nephron glomerular filtration rate of rats // *J. Physiol.* Vol. 272: 272–289. 1977.
19. Wilkes B.M., Silverman S. Increased angiotensin II receptor binding with age in isolated rat glomeruli // *Kidney Int.* Vol. 34: 241–247. 1988.
20. Yamamoto T., Tomura Y., Tanaka H., Kajiya F. In vivo visualization of characteristics of renal microcirculation in hypertensive and diabetic rats // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* Vol. 281 (3): F571–F577.

## References

1. Goncharevskaja O.A. Intrakortikal'nye i juktamedul-ljarnye nefrony v postnatal'nom ontogeneze krysy // *Arhiv anat. gistol. i jembriol.* T. 72 (6): 20–26. 1977.
2. Zufarov K.A., Gontmaher V.M. Strukturno-funkcional'naja harakteristika pochek v postnatal'nom ontogeneze // *Ontogenez pochek.* Novosibirsk, NGPI. pp. 14–24. 1984.
3. Amann K., Nichols C., Tornig J., Schwarz U., Zeier M., Mall G., Ritz E // Effect of ramipril, nifedipine, and moxonidine on glomerular morphology and podocyte structure in experimental renal failure // *Nephrol. Dial. Transplant.* 11: 1003–1011. 1996.
4. Bonvalet J-P., Champion M., Wanstok F., Berjal G. Compensatory renal hypertrophy in young rats: increase in the number of nephrons // *Kidney Int.* Vol. 1 (6): 391–396. 1972.
5. Carmines P.K., Inscho E.W., Gensure R.C. Arterial pressure effects on preglomerular microvasculature of juxtamedullary nephrons // *Am. J. Physiol.* Vol. 258 (27): F94–F102. 1990.

## Рецензенты:

Будук-оол Л.К., д.б.н., профессор кафедры анатомии, физиологии и безопасности жизнедеятельности, ФГБОУ ВПО «Тувинский государственный университет», г. Кызыл;

Дубровский Н.Г., д.б.н., профессор кафедры общей биологии, ФГБОУ ВПО «Тувинский государственный университет», г. Кызыл.

Работа поступила в редакцию 19.12.2014.